



**HAL**  
open science

# Détermination de la résistance par antixénose chez trente accessions de tomate : Comment le volatilome influence le comportement de *Tuta absoluta*

Yasmine Fourati

## ► To cite this version:

Yasmine Fourati. Détermination de la résistance par antixénose chez trente accessions de tomate : Comment le volatilome influence le comportement de *Tuta absoluta*. Biodiversité et Ecologie. 2022. hal-03800978

**HAL Id: hal-03800978**

**<https://hal.inrae.fr/hal-03800978>**

Submitted on 6 Oct 2022

**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.



# Projet de Fin d'Etudes

En vue de l'obtention du

## Diplôme National d'Ingénieur en Sciences Appliquées et Technologie

Spécialité : Biologie Industrielle

---

### **Détermination de la résistance par antixénose chez trente accessions de tomate: Comment le volatilome influence le comportement de *Tuta absoluta*.**

---

Présenté par

**Yasmine FOURATI**

Réalisé au sein du Laboratoire Agronomie et Environnement (LAE)



Soutenu le 22 Septembre 2022 devant le jury composé de :

Dr. Makrem Afif	Président du jury
Pr. Slah Ouerhani	Examineur
Dr. Alan Kergunteuil	Responsable à l'entreprise
Pr. Yosr Zaouali	Responsable à l'INSAT

**Année Universitaire : 2021 / 2022**



## Projet de Fin d'Etudes

En vue de l'obtention du

### Diplôme National d'Ingénieur en Sciences Appliquées et Technologie

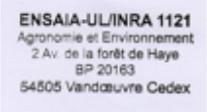
Spécialité : Biologie Industrielle

#### **Détermination de la résistance par antixénose chez trente accessions de tomate: Comment le volatilome influence le comportement de *Tuta absoluta*.**

Présenté par  
**Yasmine FOURATI**

Réalisé au sein du Laboratoire Agronomie et Environnement (LAE)



Responsable à l'entreprise <b>Dr. Alan Kergunteuil</b>	Responsable à l'INSAT <b>Pr. Yosr Zaouali</b>
  Date : 31/08/2022	  Date : 12/09/2022

## Dédicace

*Je dédie ce modeste travail :*

*A mes très chers parents, ma raison de vivre et mon amour éternel. Ceux qui n'ont jamais cessé de croire en moi. Que ce travail soit pour vous une compensation à la mesure de l'amour, la patience et les sacrifices que vous avez toujours consentis à mon égard. Je vous remercie d'être les meilleurs des parents ! Je vous adore !*

*A mes très chers grands parents qui n'ont pas cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études. Que Dieu vous préserve santé et longue vie.*

*A mes petites sœurs, Yosr et Asma, mon petit frère, Youssef. Vous êtes mon trésor, je n'imagine pas ma vie sans vous. J'espère être pour vous un bon exemple à suivre.*

*A mes oncles les plus proches, Hedi et Lassaad. Je vous remercie d'être toujours là pour moi. Vous êtes mes adorables frères.*

*A ma chère famille pour leur soutien et leurs encouragements continus.*

*À tous mes amis pour les moments inoubliables et qui m'ont aidé à devenir ce que je suis aujourd'hui.*

*A toute personne qui a contribué à ma formation dès mon plus jeune âge. Ceci est le fruit de vos efforts Mesdames et Messieurs.*

# Remerciements

L'achèvement de ce travail a été possible grâce à **ALLAH**, puis à l'aide de plusieurs personnes pour lesquelles j'aimerais exprimer ma reconnaissance.

Mes remerciements s'adressent en premier à mes tuteurs professionnels au sein de laboratoire, Monsieur **Alan Kergunteuil**, chercheur INRAE, et Monsieur **Romain Larbat**, Chargé de recherche à l'INRAE. C'est grâce à leurs directions, leurs précieux conseils et leur patience que j'ai pu finaliser mon projet. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma grande gratitude et mon profond respect.

Je tiens à remercier vivement mon encadrante académique, Madame **Yosr Zaouali**, Professeur à l'Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie de Tunis, pour sa disponibilité, sa confiance, sa gentillesse et son assistance. Ses précieux conseils et son soutien moral et académique m'ont permis de mener à bien ce travail.

Je remercie également **Komla Amegan**, doctorant au LAE, pour ses conseils et son aide précieuse qu'il m'a accordé durant la période de mon stage. Un vif remerciement à tous les membres du laboratoire, surtout Marwa, Omar, Alex et Florent, pour leur bienveillance et leur sympathie qui m'ont beaucoup facilité l'intégration au sein de l'équipe.

Je tiens également à exprimer mes sincères remerciements à Monsieur **Makrem Afif**, Maître-assistant à l'INSAT, d'avoir accepté de présider le jury et Monsieur **Slah Ouerhani**, Professeur à l'INSAT, pour avoir bien voulu examiner mon travail.

Enfin, je veux adresser mes vifs remerciements à toute personne qui m'a aidé de près ou de loin à la réalisation de mon travail.

# Table des matières

Introduction générale

Présentation de la structure d'accueil

Chapitre I : Étude Bibliographique

1. Généralités sur la tomate.....	4
1.1. Systématique.....	4
1.2. Histoire et importance économique.....	4
1.3. Physiologie de la tomate.....	5
2. Tomate : plante modèle.....	6
3. Les problèmes associés à la culture de tomate.....	6
4. La mineuse de la tomate: <i>Tuta absoluta</i> .....	6
4.1. Systématique.....	7
4.2. Répartition géographique .....	7
4.3. Morphologie .....	7
4.4. Biologie .....	9
4.5. Plantes hôte.....	10
4.6. Symptômes et dégâts .....	11
4.7. Moyens de lutte .....	12
4.7.1. La lutte culturale (mesures prophylactiques) .....	13
4.7.2. La lutte physique .....	13
4.7.3. La lutte biotechnique .....	13
4.7.4. La lutte chimique.....	14
4.7.5. La lutte biologique .....	15
4.8. Le comportement de <i>Tuta absoluta</i> .....	15
5. Généralités sur les composés organiques volatils émis par les plantes .....	15
6. Les méthodes d'extraction .....	18
6.1. Extraction de l'espace de tête (HS – Head Space) .....	18
6.1.1. Mode statique : La micro-extraction sur phase solide ( <i>Solid Phase Micro-Extraction</i> (SPME)) .....	18
6.1.2. Mode dynamique : Le système push-pull .....	18
6.2. Extraction par solvant.....	19

6.3. Hydrodistillation .....	19
Chapitre II : Matériel et méthodes	
1. Matériel biologique .....	21
1.1. Matériel végétal .....	21
1.2. Élevage de <i>Tuta absoluta</i> .....	23
2. Méthodologie .....	24
2.1. Extraction des composés organiques volatils .....	24
2.2. Analyse des COVs: La chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse .....	26
2.3. Identification et quantification des composés volatils.....	27
2.4. Test de comportement .....	28
3. Analyses statistiques .....	31
Chapitre III: Résultats et discussion	
1. Analyse des profils de COVs .....	33
1.1. Identification des COVs .....	33
1.2. Quantification des COVs .....	36
2. Comportement de <i>Tuta absoluta</i> .....	42
3. Relation entre l'analyse des COVs et le comportement de <i>Tuta absoluta</i> .....	46
Conclusion générale	
Références bibliographiques	
Annexes	

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Organigramme du LAE .....	2
<b>Figure 2.</b> Une plante de tomate .....	4
<b>Figure 3.</b> Mineuse de la tomate (Stade adulte).....	7
<b>Figure 4.</b> Stades de développement de <i>Tuta absoluta</i> .....	9
<b>Figure 5.</b> Le cycle de développement de <i>Tuta absoluta</i> à une température moyenne sur 24h de 19-20°C .....	10
<b>Figure 6.</b> Mine de <i>Tuta absoluta</i> sur une foliole.....	11
<b>Figure 7.</b> Les dégâts de <i>Tuta absoluta</i> sur le fruit.....	12
<b>Figure 8.</b> Des feuilles totalement endommagées par <i>Tuta absoluta</i> .....	12
<b>Figure 9.</b> Exemples des pièges à phéromones.....	14
<b>Figure 10.</b> Exemples de structure de quelques COVs.....	17
<b>Figure 11.</b> Echantillonnage des COVs : Système push-pull .....	19
<b>Figure 12.</b> Hydrodistillation .....	20
<b>Figure 13.</b> Dispositif de germination.....	21
<b>Figure 14.</b> Des plantules en phytotron après le repiquage.....	23
<b>Figure 15.</b> Des insectariums pour l'élevage de <i>Tuta absoluta</i> .....	24
<b>Figure 16.</b> Schéma du principe du système push-pull.....	25
<b>Figure 17.</b> Dispositif d'échantillonnage des COVs émis.....	26
<b>Figure 18.</b> Dispositif d'analyse des COVs.....	27
<b>Figure 19.</b> Schéma du système d'olfactomètre en Y.....	29
<b>Figure 20.</b> Dispositif de l'olfactométrie.....	29
<b>Figure 21.</b> Arbre de décision pour le test de comportement.....	31
<b>Figure 22.</b> Analyse de redondance (RDA) des COVs émis par les 30 accessions. ....	36
<b>Figure 23.</b> Réponse des femelles de <i>T. absoluta</i> (n=30) aux composés volatils émis par les 10 accessions de tomates en olfactomètre en Y.....	43

<b>Figure 24.</b> Indices de répulsion des 10 accessions.....	44
<b>Figure 25.</b> Réponse des femelles de <i>T. absoluta</i> (n=30) aux composés volatils émis par les 2 accessions de tomates (LA0421 et RdB) en olfactomètre en Y.....	45
<b>Figure 26.</b> Diagramme en volcan montrant les COVs potentiellement impliqués ( $p < 0.025$ ) dans le mécanisme de résistance (en rouge) et dans le mécanisme d'attraction (en vert) pour les 2 catégories de tomate.....	46

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Les caractéristiques agronomiques des accessions.....	22
<b>Tableau 2.</b> Les accessions utilisées pour le test de comportement .....	30
<b>Tableau 3.</b> La liste des composés organiques volatils détectés.....	34
<b>Tableau 4.</b> Les moyennes des quantités de COVs en ng/g/h émises par les 10 accessions étudiées.....	38
<b>Tableau 5.</b> Résultats du premier test de comportement de <i>Tuta absoluta</i> .....	42

## Liste des abréviations et des symboles

**CG-SM** : Chromatographie gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse

**COV** : Composé organique volatil

**h** : heure

**HS** : Head Space

**Ik** : Indice de Kovats

**LAE** : Laboratoire Agronomie et Environnement

**Mb** : Mégabase

**min** : minute

**mm** : millimètre

**ng** : nanogramme

**QTL** : Quantitative Trait Loci

**µl** : microlitre

# **Introduction générale**

Depuis leur découverte en milieu du XX<sup>ème</sup> siècle, les pesticides ont été excessivement utilisés pour lutter contre les insectes nuisibles, les maladies fongiques ou les mauvaises herbes, et ceci dans le but d'augmenter la productivité des exploitations agricoles et améliorer le rendement. Ces dernières années, la société a pris conscience des effets néfastes de certains produits phytosanitaires sur la santé de l'être humain et sur son environnement (*Ministère de la Santé et de la Prévention-France*, 2019). Actuellement, plusieurs essais et travaux de recherche sont mis en œuvre pour réduire voire bannir l'utilisation des pesticides tout en maintenant un rendement de production économiquement viable (*L'utilisation des pesticides en France*, 2012). Dans ce contexte, un programme prioritaire de recherche (PPR) a été lancé en France pour permettre l'émergence, à l'horizon 2030-2040, d'une agriculture sans pesticides.

Parmi les dossiers sélectionnés se trouve le projet CAP ZERO PHYTO. Il s'agit d'un projet de recherche national dont l'objectif est de proposer de nouvelles stratégies de protection des cultures basées sur l'utilisation combinée de leviers immunitaires destinés à moduler les mécanismes de défense des cultures. Cinq leviers immunitaires seront explorés seuls et en combinaison : résistance génétique, plantes de service, solutions de biocontrôle avec une action SDP (stimulation de défense des plantes), flashes d'UV-C et apport d'azote. Pommier et tomate seront utilisés comme cultures modèles, avec leurs principaux bioagresseurs. Ces connaissances seront ensuite transférées et testées sur d'autres modèles : de *Rosaceae* (pêche et fraise) et de *Solanaceae* (poivron).

Dans le cadre du levier de la résistance génétique, une thèse est actuellement en cours pour rechercher des marqueurs moléculaires et métaboliques de résistance à un ravageur lépidoptère, *Tuta absoluta*, chez la tomate. Cette thèse vise à mieux comprendre les mécanismes écologiques impliqués dans deux modes de résistance contre *Tuta absoluta*. Premièrement, la résistance par antixénose est caractérisée par l'émission des composés organiques volatils qui perturbent le comportement des insectes en amont et pendant le choix de la plante hôte (ponte des œufs, recherche de la nourriture et de l'abri, ou la colonisation de la plante) (Clavel & Welcker, 1996). Deuxièmement, la résistance par antibiose est caractérisée par la production de toxines qui impactent directement le développement et la survie larvaire de l'insecte après infestation (Clavel & Welcker, 1996).

Mon projet de fin d'études, qui fait partie de cette thèse, s'intéresse à la détermination de la résistance par antixénose chez trente accessions de tomate appartenant à 6 espèces différentes de Solanacées. Il consiste à étudier la diversité inter et intra-spécifique des composés organiques volatils (COVs) émis par les plantes et tester l'influence de cette diversité sur le choix de la plante hôte par *T. absoluta* à travers des études comportementales.

# Présentation de la structure d'accueil

Fondé par Armand Guckert, le Laboratoire Agronomie et Environnement (LAE) est une unité mixte de recherche (UMR 1121) de l'Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement (INRAE) et de l'Université de Lorraine (UL).

Ce laboratoire est localisé à Nancy-Brabois sur le site de l'ENSAIA en Lorraine et à Colmar sur le site INRAE en Alsace. Le LAE est rattaché au Pôle Agronomie-Agroalimentaire-Forêts de l'UL et au Département Environnement et Agronomie d'INRAE.

Ses activités sont développées par 2 équipes de recherche (Figure 1).

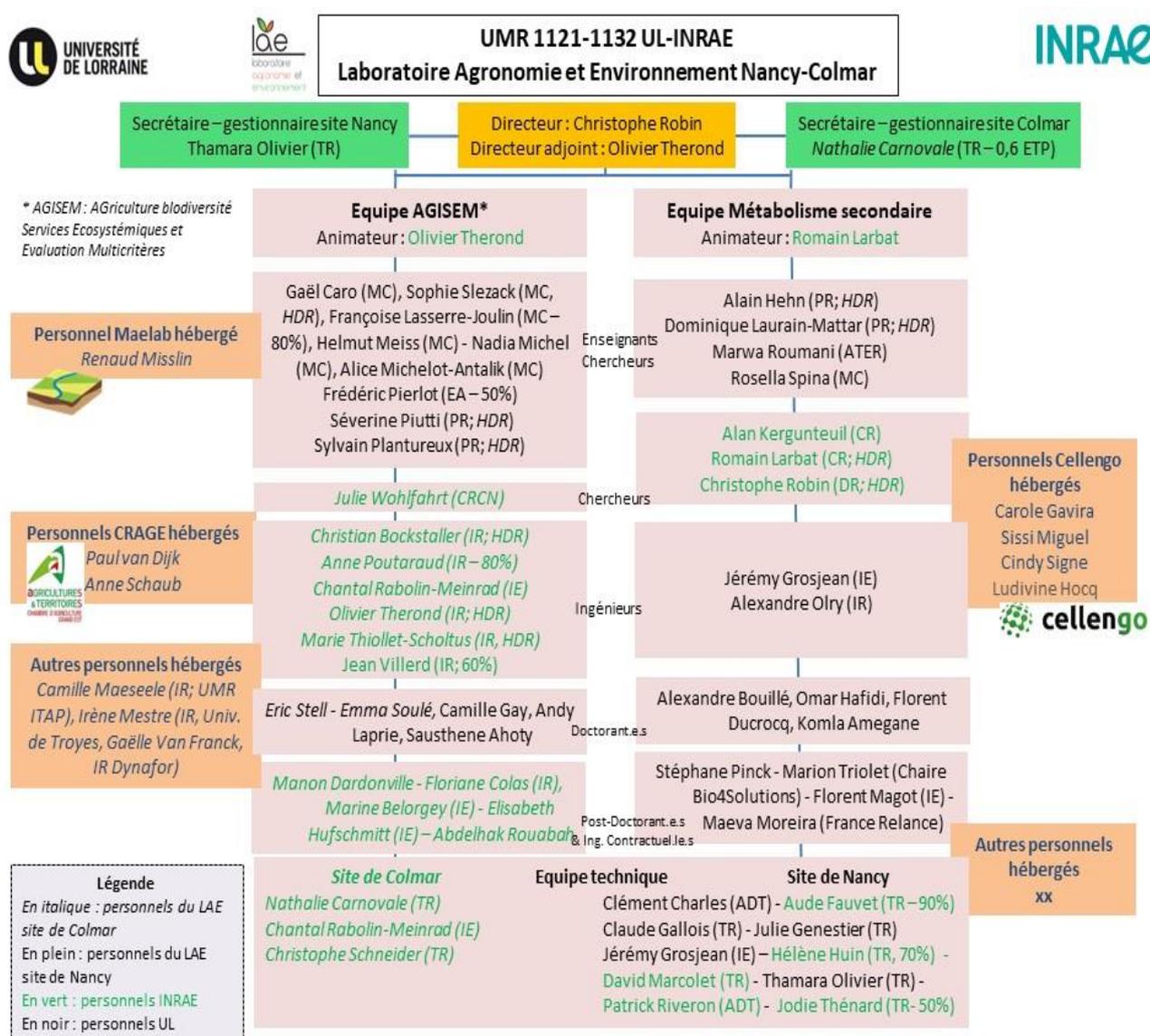


Figure 1. Organigramme du LAE (Accueil / LAE).

- ✚ L'équipe AGISEM étudie les effets des pratiques agricoles sur la biodiversité et les services écosystémiques et développe des méthodes et outils d'évaluation multicritère, de l'échelle de la parcelle à celle du territoire, pour accompagner la transition agro-écologique.
- ✚ L'équipe Métabolisme secondaire (M2) travaille à mieux comprendre les voies de biosynthèse et identifie des biomolécules impliquées dans la défense des végétaux. Les études vont de l'échelle moléculaire du métabolisme des plantes jusqu'au territoire.

Mon stage a été effectué au sein du LAE et plus particulièrement dans l'équipe Métabolisme secondaire (M2) où j'ai été encadrée par Alan Kergunteuil, Romain Larbat et Komla Amegane.

# **Chapitre I : Étude Bibliographique**

## 1. Généralités sur la tomate

La tomate (*Solanum lycopersicum*) est une plante annuelle de la famille des Solanacées. Elle est originaire du Nord-Ouest de l'Amérique du Sud. Son exploitation est intéressante puisqu'elle est considérée comme une source alimentaire importante pour l'être humain (Friedman, 2002) et elle est l'un des fruits le plus produit et consommé dans le monde (Naika et al., 2005).

### 1.1. Systématique

En 1753, Linné a donné à la tomate (Figure 2) le nom scientifique, *Solanum lycopersicum*, et a proposé la classification classique suivante :

- Règne : *Plantae*
- Sous-règne : *Trachiobionta*
- Division : *Magnoliophyta*
- Classe : *Magnoliopsida*
- Sous-classe : *Asteridae*
- Ordre : Solanales
- Famille : *Solanaceae*
- Genre : *Solanum*
- Espèce : *lycopersicum*



**Figure 2.** Une plante de tomate (Pages Jaunes, 2015).

Miller Gardner a affiné la classification de Linné, et a donné à la tomate le nom latin, *Lycopersicon esculentum*. C'est une reconnaissance et aussi consécration comme plante alimentaire, puisque *esculentum* désigne le caractère comestible.

En plus de la tomate cultivée (*S. lycopersicum*), il existe seize espèces sauvages reconnues : *S. cheesmaniae*, *S. galapagense*, *S. chilense*, *S. chmielewskii*, *S. habrochaites*, *S. neorickii*, *S. pennellii*, *S. arcanum*, *S. corneliomulleri*, *S. huaylasense*, *S. peruvianum*, *S. pimpinellifolium*, *S. juglandifolium*, *S. lycopersicoides*, *S. ochranthum*, *S. sitiens* (Peralta et al., 2008).

### 1.2. Histoire et importance économique

La tomate est originaire de la région Andine, au nord-ouest de l'Amérique du Sud (Colombie, Équateur, Pérou, nord du Chili). C'est dans ces régions que des plantes sauvages de plusieurs

espèces de l'ancien genre *Lycopersicon*, notamment *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* (la tomate cerise), ont été retrouvées.

L'Europe ne l'a connue que vers le 16<sup>ème</sup> siècle puisqu'elle a été ramenée du Mexique ou du Pérou par les conquistadors. Elle est arrivée d'abord en Espagne, puis en Italie et elle a gagné le reste de l'Europe (Polese, 2007). La tomate est connue en France depuis 1560 comme plante décorative. Cependant, elle n'est considérée comme fruit qu'à partir de 1778. Sa culture n'a pris d'ailleurs réellement de l'extension qu'à partir de 1800 (Laumonier, 1979).

Comme c'est une culture à cycle assez court qui donne un rendement élevé, elle a de bonnes perspectives économiques et la superficie cultivée s'agrandit au fur des années (Naika, 2005).

De nos jours, la tomate est devenue l'un des végétaux les plus consommés à l'échelle mondiale (Eck et al., 2006). Elle est au deuxième rang mondial après la culture de pomme de terre, avec environ 186,8 millions de tonnes produites chaque année (FAOSTAT, 2020).

Cette plante est cultivée dans de nombreux pays du monde (170 selon la FAO) et sous différents climats (y compris dans des régions relativement froides) grâce au développement des cultures sous abri (Planetoscope - Statistiques : Production mondiale de tomates).

La production majoritaire est localisée en Asie (62.7%), alors que l'Amérique, l'Europe et l'Afrique représentent respectivement 13.2%, 12.2% et 11.9% de la production mondiale. Le pays qui consomme le plus de tomates au monde est la Chine, suivie par l'Inde, l'Afrique du Nord, le Moyen-Orient, les États-Unis et le Brésil (FAOSTAT, 2020).

En plus des fruits frais, ce produit est consommée après transformation dans des soupes, des jus et des sauces (Krauss et al., 2006). Les fruits séchés et les fruits mis en conserve sont des produits transformés qui ont également une importance économique (Naika, 2005).

### **1.3. Physiologie de la tomate**

Les tomates cultivées ont des caractéristiques de floraison insensibles à la photopériode, ce qui les rend adaptables à différentes latitudes.

Par ses fleurs hermaphrodites, la tomate qui est à l'origine une plante allogame est devenue auto-fertile et principalement autogame dans ses aires de domestication (Perron, 1999). Cette autogamie est due à la morphologie de la fleur. En effet, le style est inséré dans le tube formé par les étamines, les stigmates n'apparaissent généralement pas à l'extérieur ce qui limite fortement la pollinisation croisée, sans l'interdire complètement. Cependant, la pollinisation

nécessite l'intervention de facteurs extérieurs, comme le vent et certains insectes (comme les bourdons) capables de faire vibrer les anthères et libérer le pollen (Jones, 1999).

Chez cette plante, la photosynthèse est de type "C3", c'est-à-dire qu'elle produit dans un premier temps des glucides à trois atomes de carbone (Jones, 1999).

## **2. Tomate : plante modèle**

Grâce à ses caractéristiques, la tomate est considérée comme une plante modèle de première importance en agronomie, en physiologie végétale et en génétique. En effet, cette plante est caractérisée par l'autopollinisation, un croisement facile, un génome de taille moyenne (environ 900 Mb) comprenant 12 paires de chromosomes ( $2n=24$ ), une transformation génétique facile et efficace et un cycle de vie court pour certaines variétés (Li et al., 2018; Van Eck, 2018). De plus, le génome de la tomate est totalement séquencé (Lin et al., 2014; Zhu et al., 2018) et un volume de données transcriptomiques et métaboliques important est disponible (Tohge & Fernie, 2015; Rothan et al., 2019).

## **3. Les problèmes associés à la culture de tomate**

La culture des tomates est très sensible aux attaques de ravageurs tels que les pucerons, les aleurodes, les acariens, les thrips, les noctuelles et les mineuses comme *Tuta absoluta*. Elle est sensible aussi aux maladies telles que la maladie des taches noires, la fusariose, l'oïdium, la pourriture grise et certaines viroses, dont le TYLC (Tomato Yellow Leaf Curk virus) transmis par des aleurodes.

Quelle que soit la nature de l'agression, les tomates subissent des pertes de productivités liées à des dégâts causés sur les fruits ou sur les feuilles réduisant ainsi la photosynthèse ce qui limite le développement de la plante et de ses fruits.

Le nombre élevé de ravageurs et de maladies associés à la tomate et le risque constant de voir apparaître de nouveaux ravageurs, ont suscité un certain intérêt des producteurs pour le développement des moyens de lutte chimiques et biologiques. (Trottin-Caudal et al. 1995).

## **4. La mineuse de la tomate: *Tuta absoluta***

La mineuse de la tomate (*Tuta absoluta*) (Figure 3) est un micro lépidoptère de la famille des *Gelechiidae* et qui est considérée à l'heure actuelle comme étant le ravageur le plus dangereux des tomates et l'une des menaces majeures pour cette plante dans le monde (Biondi et al., 2018).

#### 4.1. Systématique

En 2011, Bloem et Spaltenstein ont proposé la position systématique suivante de la mineuse de la tomate :

- **Phylum :** *Arthropoda*
- **Classe :** *Insecta*
- **Ordre :** *Lepidoptera*
- **Sub-ordre :** *Glossata*
- **Superfamille :** *Gelechiidae*
- **Famille :** *Gelechiidae*
- **Sub-famille :** *Gelechiinae*
- **Genre :** *Tuta*
- **Espèce :** *absoluta* (Meyrick, 1917)



**Figure 3.** Mineuse de la tomate (Stade adulte).

Au début, *Tuta absoluta* a été décrite comme *Phthorimaea absoluta* (Meyrick, 1917). Puis, le genre a été remplacé par *Gnorimoschema* en 1962 et par *Scrobipalpula* en 1964. De nos jours, le nom utilisé de l'espèce est *Tuta absoluta* (Povolny, 1994).

#### 4.2. Répartition géographique

La mineuse de la tomate est originaire de l'Amérique du sud et elle a commencé à se diffuser dans le monde dans les années 2000. Sa présence en Europe a été signalée la première fois en Espagne en 2006 alors qu'en Afrique du Nord, ce ravageur a été détecté, en 2008, en Algérie (Guenoui, 2008), au Maroc (OEPP, 2008) et en Tunisie (OEPP, 2009).

Par la suite, il a élargi sa propagation en 2009 pour se trouver aux Pays Bas, au Royaume-Uni, au Portugal, en Albanie, en Suisse, à Malte, en Bulgarie, à Chypre et en Allemagne. Puis en 2010, la Hongrie a été signalée comme un nouveau foyer. Depuis 2012, son aire s'est étendue à l'Afrique et l'Asie (Biondi et al., 2018). Actuellement, *Tuta absoluta* est considérée comme l'un des ravageurs principaux de la tomate au niveau mondial.

#### 4.3. Morphologie

- **Œuf**

L'œuf (Figure 4.a) est le plus souvent de forme ovoïde, de couleur blanc crème puis jaune et jaune-orange au cours du développement (Estay, 2000). Il mesure 0.4 mm de long et 0.2mm de

large. Il est pondu en général de manière isolée, principalement sur les faces supérieures et inférieures des feuilles mais aussi sur les fruits, les pétioles et les tiges. Il est déposé généralement dans la partie supérieure des plantes (Rey et al., 2014).

- **Larve**

La larve (Figure 4.b) est une chenille dont la longueur varie entre 0,6 et 8 mm selon le stade larvaire. Il existe 4 stades larvaires. La chenille présente 5 paires de 'fausses pattes' (Rey et al., 2014). La chenille est rapidement retrouvée car elle préfère les fleurs, les bourgeons apicaux ou les fruits, sur lesquels, des excréments noirs sont visibles (Kaouthar et al., 2010). A la fin du dernier stade, la larve se transforme en chrysalide (Figure 4.c) de couleur brune et mesure de 4 à 5 mm de long (Rey et al., 2014).

- **Adulte**

Les adultes (Figure 4.d) sont des papillons ayant une longueur d'environ 5 à 7 mm et une envergure d'environ 10 mm. Le dimorphisme sexuel est peu marqué, bien que l'abdomen des mâles est plus étroit et pointu, alors que celui des femelles est plus large et volumineux (Vargas, 1970; Desneux et al., 2010). Les écailles abdominales chez les femelles sont de couleur crème, tandis qu'elles sont de couleur grise chez le mâle (Vargas, 1970). Les adultes sont de couleur grise avec des taches noirâtres sur les ailes et des antennes longues et filiformes (Vargas, 1970; Sannino & Espinosa, 2010) .



**Figure 4.** Stades de développement de *Tuta absoluta* (a: oeuf, b: larve, c: chrysalide,(Gouvernement du Canada, 2012) d: adulte).

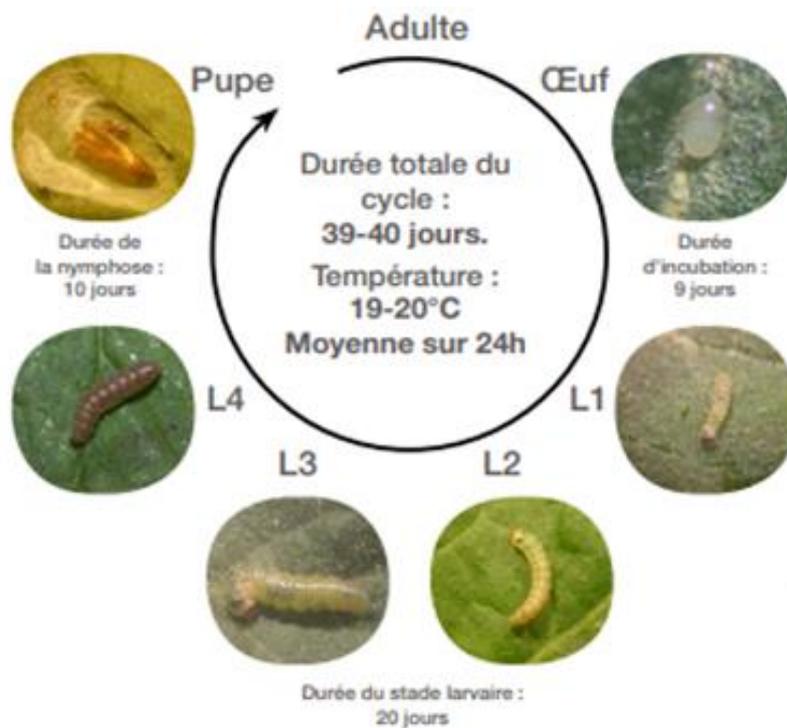
#### 4.4. Biologie

La mineuse de la tomate est une espèce multivoltine qui fait plusieurs générations par an. La durée de son cycle de vie (Figure 5) de même que ses caractéristiques biologiques dépendent des conditions environnementales, en particulier de la température (Tropea Garzia et al., 2012). Plusieurs travaux ont étudié le cycle de vie de *Tuta absoluta* à différentes températures. Ce cycle est d'environ 1 mois à 25 °C alors qu'à 30°C, il est d'environ 3 semaines. Lorsque la température est plus basse, la durée de développement est beaucoup plus longue. En effet, à 15 °C, le cycle dure plus de 2 mois (Rey et al., 2014). A 5°C, un taux de mortalité des adultes de l'ordre de 90%, durant un mois, a été observé (Van Damme et al., 2014).

Le potentiel de reproduction est relativement élevé. Chaque femelle peut pondre de 40 à 229 œufs au cours de sa vie (Gomide et al., 2001). La longévité des adultes dépend du sexe et de la température. En effet, la longévité des mâles est d'environ une semaine alors que la longévité

des femelles est d'environ deux semaines. De plus, la longévité des adultes diminue avec la température (Rey et al., 2014).

L'accouplement des adultes, qui se fait généralement pendant la matinée, intervient un à deux jours après leur émergence. Pendant cette période, la femelle émet des phéromones sexuelles pour attirer le mâle (CSAN Niger, 2016).



**Figure 5.** Le cycle de développement de *Tuta absoluta* à une température moyenne sur 24h de 19-20°C (Rey et al., 2014).

#### 4.5. Plantes hôte

La principale plante hôte de *Tuta absoluta* est la tomate (*Solanum lycopersicum*), mais d'autres plantes cultivées de la famille des Solanacées comme la pomme de terre, l'aubergine, le poivron peuvent également être attaquées (Desneux et al., 2010; Tropea Garzia et al., 2012; Msisi et al., 2021). Parmi les hôtes alternatifs de ce ravageur, il y a les mauvaises herbes parmi lesquelles se trouve : la morelle noire (*Solanum nigrum*), la stramoine commune (*Datura stramonium*), le tabac arborescent (*Nicotiana glauca*) et la stramoine épineuse (*Datura ferox*) (Estay, 2000).

#### 4.6. Symptômes et dégâts

*Tuta absoluta* est « une mineuse » qui peut affecter toutes les parties de la plante à différents stades de développement (Tropea Garzia et al., 2012). La larve est le stade nuisible puisqu'elle est capable de creuser des mines dans les feuilles, les tiges et même les fruits.

- **Sur les feuilles**

Des galeries formées sur les feuilles suite aux attaques de la mineuse, renferment des chenilles et leurs déjections (Figure 6). La mobilité des larves est élevée. Une larve est capable de créer un nombre important de mines sur plusieurs feuilles puis sur la plante entière (Rey et al., 2014).



**Figure 6.** Mine de *Tuta absoluta* sur une foliole.

- **Sur les tiges**

Des dégâts sur les jeunes tiges et pédoncules peuvent être observés. Elles présentent des points noirs et des nécroses.

- **Sur les fruits**

La mineuse peut causer des nécroses sur le calice ou des trous à la surface des tomates (Figure 7). En effet, les fruits verts et mûrs peuvent être attaqués dès leur formation jusqu'à leur maturité.



**Figure 7.** Les dégâts de *Tuta absoluta* sur le fruit  
(*Tuta Absoluta* | Biobest.).

Les dommages causés par ce ravageur sont liés à la diminution de la capacité photosynthétique et du taux de production, que ce soit pour les cultures de tomates en serre ou en plein champ (Tropea Garzia et al., 2012).

Les dégâts occasionnés par la mineuse à la culture de tomate peuvent atteindre les 80-100% (Desneux et al., 2021).



**Figure 8.** Des feuilles totalement endommagées  
par *Tuta absoluta*.

#### 4.7. Moyens de lutte

Plusieurs techniques de lutte ont été utilisées contre ce ravageur afin de protéger la tomate et éviter la perte de récolte.

#### 4.7.1. La lutte culturale (mesures prophylactiques)

Les mesures prophylactiques constituent la base des stratégies de protection contre *Tuta absoluta* et elles doivent être prises au préalable. Ces mesures concernent les aspects suivants :

- Les rotations avec des cultures non hôtes de ce ravageur (Oztemiz, 2014).
- Une période de vide (entre 4 et 6 semaines) est recommandée entre 2 cultures hôtes de *Tuta absoluta* (Terrentroy, 2012).
- La désinfection et la préparation du sol pour réduire le nombre de chrysalides restées dans le sol.
- Un désherbage doit être appliqué pour éliminer un grand nombre de plantes hôtes dans la serre et aux alentours (exemple : morelle noire) (Germain et al., 2009).
- Le contrôle et l'entretien des pièges de détection à phéromones
- L'évacuation régulière et l'incinération des déchets des plantes et des fruits infestés.

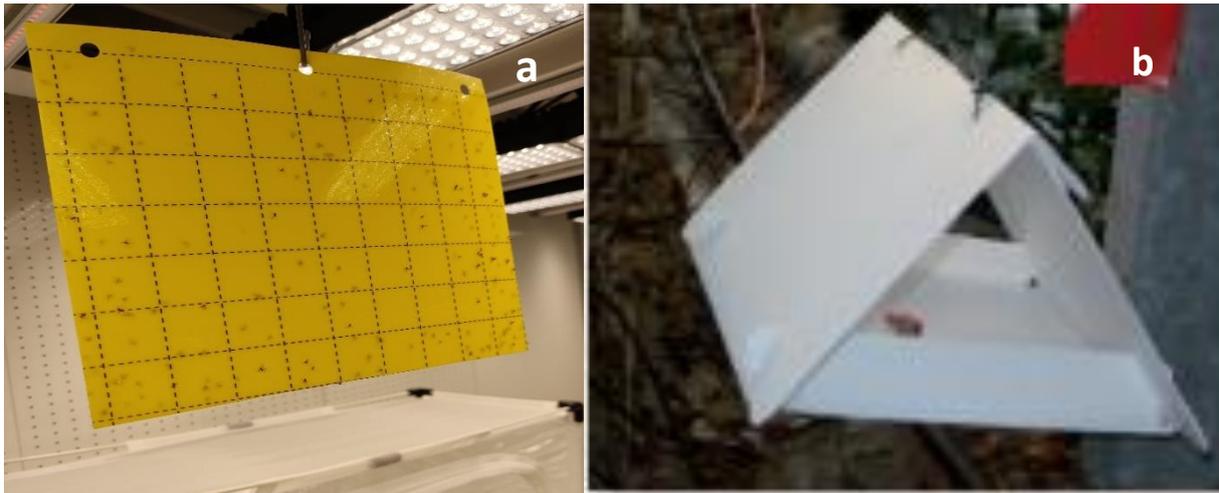
#### 4.7.2. La lutte physique

Pour lutter contre *Tuta absoluta*, il est nécessaire d'isoler les serres pour empêcher l'entrée des ravageurs. Pour cette raison, il faut appliquer quelques mesures :

- Installation des filets insecte-proof au niveau des ouvertures des serres (Germain et al., 2009).
- Installation d'un système de double-portes pour une meilleure isolation (Gabarra & Arnó, 2010).
- Vérification périodique de l'étanchéité des serres et la réparation des trous (Terrentroy, 2012).

#### 4.7.3. La lutte biotechnique

La lutte biotechnique est basée sur la mise en place des pièges pour détecter la présence des adultes et suivre l'évolution de la population de *Tuta absoluta*. Le piégeage se fait à l'aide des pièges à phéromones sexuelles, à eau, à glue ou des pièges lumineux (Figure 9) (Biondi et al., 2018).



**Figure 9.** Exemples des pièges à phéromones  
( a: Plaque jaune ; b: Piège Delta (Terrentroy, 2012))

#### 4.7.4. La lutte chimique

L'utilisation d'insecticides est le principal outil de lutte contre les ravageurs nuisibles. Dès l'apparition de la mineuse de la tomate, l'Homme a commencé à utiliser ces produits chimiques. Au début, il a utilisé des organophosphorés qui ont été remplacés par des pyréthrinoides en 1970 puis par l'abamectine et le cartap, puis par l'oxadiazine indoxacarbe, et plus tard par les inhibiteurs de la synthèse de la chitine (Siqueira et al., 2000; Guedes & Picanço, 2012). Dans les années 2000, des insecticides de synthèse, comme les diamides chlorantraniliprole, le chlorfénapyr pyrrole et flubendiamide (Silva et al., 2011; Guedes & Picanço, 2012; Gontijo et al., 2013), ont été utilisés.

Après un certain temps, les chercheurs ont remarqué que l'utilisation excessive de ces produits chimiques a provoqué non seulement des effets néfastes sur la santé de l'être humain et son environnement (Weisenburger, 1993; Desneux et al., 2007; Biondi et al., 2012); mais aussi le développement du phénomène de résistance par le ravageur vis-à-vis des substances actives (Campos et al., 2010; Haddi et al., 2012; Reyes et al., 2012; Roditakis et al., 2018).

C'est pour cette raison que les chercheurs ont recouru à l'utilisation des biopesticides comme le spinosad qui est un produit biologique obtenu par une fermentation naturelle par *Saccharopolyspora spinosa* (Benchaabane et al., 2016) ou le bactospeine qui contient une bactérie (*Bacillus thuringiensis*).

#### 4.7.5. La lutte biologique

Plusieurs organismes vivants sont considérés comme des ennemis naturels de *Tuta absoluta*. Ces agents de lutte peuvent être soit des prédateurs (insectes, nématodes et acariens), soit des pathogènes (virus, bactérie et champignons), soit des parasitoïdes ou des compétiteurs.

Parmi les prédateurs les plus utilisés dans les stratégies de lutte contre *Tuta absoluta* se trouve *Macrolophus pygmaeus* qui s'attaque aux oeufs et aux larves (Urbaneja et al., 2009). Une étude a montré que l'introduction de *Macrolophus pygmaeus* en plein champ a provoqué une diminution des dégâts sur les feuilles de l'ordre de 76% et d'environ 56% sur les fruits (2009). L'utilisation de ces prédateurs peut être complétée par l'utilisation des parasitoïdes tels que *Trichogramma achaeae* qui pond dans les œufs de *Tuta absoluta*. Tout le développement du parasitoïde (œuf, larve, prépupe et pupa) se déroule dans l'œuf du ravageur (Rey et al., 2014).

#### 4.8. Le comportement de *Tuta absoluta*

L'attraction et la ponte des femelles de *Tuta absoluta* sont déterminées par « une signature volatile » de leur plante hôte. Des études ont montré que les composés volatils dégagés par les feuilles de tomate ont un rôle essentiel dans le comportement de recherche de plantes hôtes de ce ravageur puisque ces composés orientent les femelles accouplées pour choisir leur habitat afin de pondre ses œufs (Bengtsson et al., 2001; Proffit et al., 2011).

En effet, grâce à son système sensoriel bien développé, *Tuta absoluta* utilise ces stimuli olfactifs pour distinguer entre les plantes appropriées et les plantes inappropriées puisque certains volatils foliaires attirent l'insecte alors que d'autres qui sont émises par les espèces résistantes de tomate repoussent le ravageur (Proffit et al., 2011; Bawin et al., 2014; Stam et al., 2014).

Plusieurs études ont identifié le profil de COVs de quelques accessions de tomate et montré le rôle de ces métabolites secondaires tels que les monoterpènes et les sesquiterpènes dans le mécanisme de résistance des espèces sauvages de tomates telle que *S. habrochaites* (Therezan et al., 2021) ou le mécanisme d'attraction de l'espèce cultivée *S. lycopersicum* (Proffit et al., 2011).

### 5. Généralités sur les composés organiques volatils émis par les plantes

Les composés organiques volatils (COV) sont des molécules carbonées (organiques), hydrophobes, de petite taille et caractérisées par une pression très élevée et un faible poids moléculaire (< 300Da) (Dudareva et al., 2006).

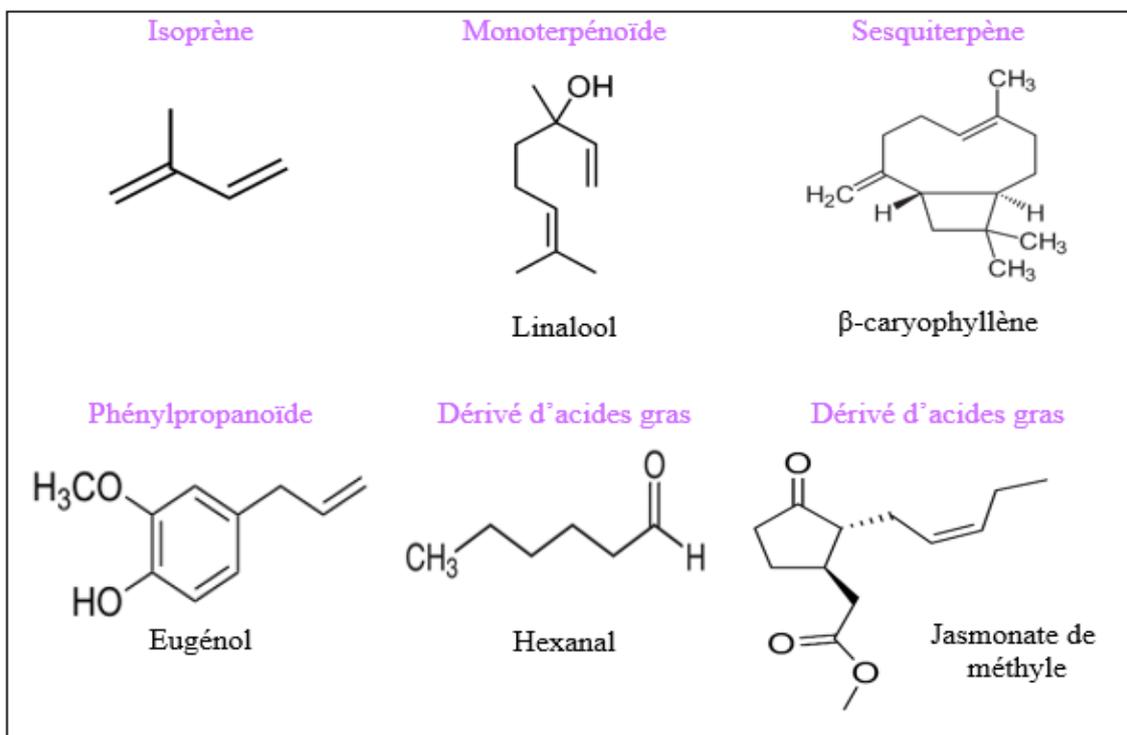
Ils sont généralement d'origine biogénique ou anthropique. Ces derniers sont issus des activités humaines (combustion, industries, trafic,...) alors que les COV d'origine biogénique proviennent des surfaces terrestres, des surfaces marines, des animaux et surtout de la végétation (80% à 98% des émissions naturelles totales de COV) (Kettle & Andreae, 2000). En effet, les plantes produisent plusieurs composés dits métabolites secondaires qui jouent un rôle important dans l'adaptation à leur environnement et dans leurs défenses contre les bio-agresseurs (Jansen et al., 2009; Niinemets et al., 2012). Parmi ces métabolites, plus de 1700 sont des composés volatils (Dicke & Loreto, 2010). Ils sont libérés par les différents organes de la plante (racines, tiges, feuilles, fleurs, fruits et d'autres structures spécialisées comme les trichomes) (Maffei, 2010).

Selon la nature chimique des COV et leur processus de biosynthèse, ils peuvent être classés en quatre grandes familles :

- 1) Les terpénoïdes: regroupent le nombre le plus élevé des COV biogéniques qui sont dérivés de deux précurseurs à 5 carbones : l'isopentényl diphosphate (IPP) et son isomère allylique, le diméthylallyl diphosphate (DMAPP) (McGarvey & Croteau, 1995). Ils sont synthétisés par deux voies distinctes, la voie de l'acide mévalonique (mévalonate) (MVA) dans le cytoplasme et la voie du phosphate de méthylérythritol (MEP) dans les chloroplastes (Degenhardt et al., 2009; Lombard & Moreira, 2011). Les monoterpènes comme l' $\alpha$ - et  $\beta$ -pinène,  $\alpha$ - et  $\gamma$ -terpinène,  $\delta$ -3-carène,  $\beta$ -phellandène, linalool sont constitués de 10 atomes de carbones (2 unités C5). Les sesquiterpènes comme le  $\beta$ -caryophyllène, le  $\beta$ -coapène, et l' $\alpha$ -humulène sont quant à eux constitués de 15 atomes de carbone (3 unités C5). Au-delà des terpènes au sens strict (composés uniquement de carbone et d'hydrogène), ces métabolites peuvent subir différents réarrangement (oxydation, acétylation, estérification, hydroxylation). Ils sont alors classifiés comme terpénoïdes (Figure 10).
- 2) Les phénylpropanoïdes/benzénoïdes : représentent la deuxième plus large gamme de composés organiques volatils végétaux et ils sont obtenus par la voie de l'acide shikimique (Rambla et al., 2014). Ce sont des dérivés de la phénylalanine qui est un acide aminé aromatique. Les composés les plus connus sont les composés phénoliques comme le salicylate de méthyle et l'eugénol (Figure 10).
- 3) Les dérivés d'acides gras: Ce sont des substances émises d'une façon importante dans des conditions de stress. Cette classe de COV comprend les volatils des feuilles vertes

(GLV) (C6) et de manière plus large les oxylipines qui sont obtenus à partir des acides gras insaturés tel que l'acide linoléique ou l'acide linoléique. Ils sont formés en présence d'oxygène et des enzymes tels que les lipoxygénases qui catalysent l'oxygénation de l'acide  $\alpha$ -linoléique (Matsui et al., 2009). Les molécules les plus connus sont : le 1-hexanal, le *cis*-3-hexénol, le nonanal et le jasmonate de méthyle... (Figure 10).

- 4) Les dérivés d'acides aminés à chaîne ramifiée: Plusieurs composés volatils sont dérivés d'acides aminés tels que la valine, l'alanine, la leucine, l'isoleucine et la méthionine, ou des intermédiaires de leur biosynthèse, et contiennent de l'azote et du soufre (Knudsen et al., 2006). La biosynthèse de ces composés dans la plante se déroule d'une manière similaire aux bactéries et aux levures (Dickinson et al., 2000; Tavarina et al., 2002). En effet, les acides aminés subissent une première désamination ou transamination catalysée par des aminotransférases, conduisant à la formation de l' $\alpha$ -cétoacide (Gonda et al., 2010). Ces molécules obtenues peuvent être par la suite soumises à une décarboxylation, suivie de réductions, d'oxydations et/ou d'estérifications pour former des aldéhydes, des alcools, des acides et des esters (Reumann et al., 2007).



**Figure 10.** Exemples de structure de quelques COVs.

## 6. Les méthodes d'extraction

En raison des multiples rôles joués par les COVs dans les mécanismes de défense des plantes, plusieurs techniques d'extraction ont été développées.

### 6.1. Extraction de l'espace de tête (HS – Head Space)

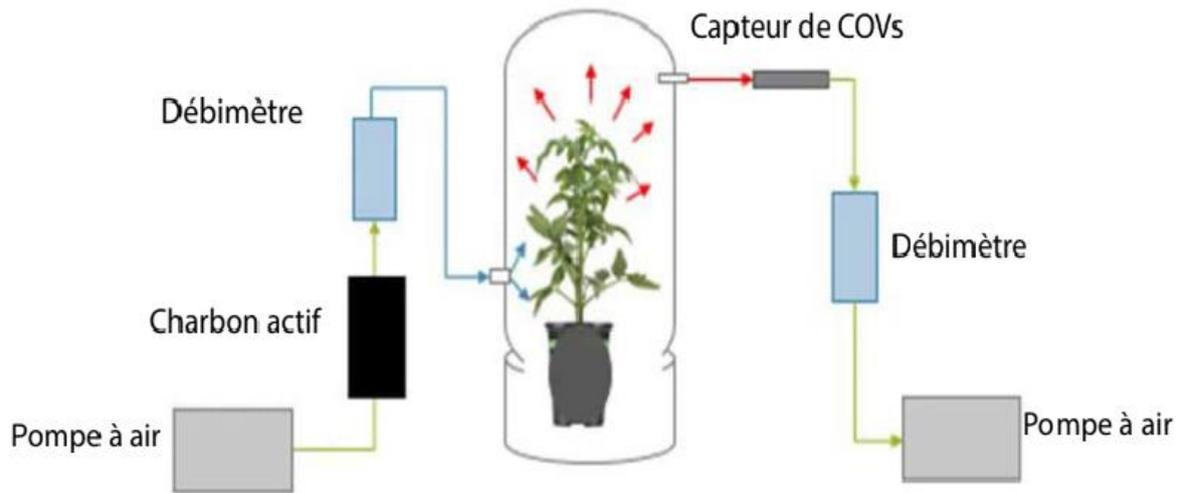
L'extraction de l'espace de tête est une technique de séparation des composés volatils d'une matrice complexe (échantillon liquide ou solide). L'espace de tête correspond à la phase gazeuse qui se trouve dans la partie supérieure du flacon et qui est comprise entre l'échantillon et le bouchon. Cette technique est basée sur la volatilité des COVs. Elle est réalisée soit en mode statique où le prélèvement se fait directement dans l'espace de tête c'est-à-dire qu'un chauffage est effectué afin d'atteindre un équilibre thermodynamique entre la phase liquide ou solide de l'échantillon et la phase gazeuse, soit dynamique, après piégeage des substances sur un support qui est ensuite désorbé par un choc thermique (Papet et al., 2010).

#### 6.1.1. Mode statique : La micro-extraction sur phase solide (*Solid Phase Micro-Extraction (SPME)*)

La Micro-Extraction sur Phase Solide ou SPME est une technique d'extraction sans solvant, utilisée dans différents domaines (environnement, pharmacologie, toxicologie, la chimie légale, agroalimentaire...) et applicable à des molécules organiques volatiles à l'état de traces dans des matrices complexes. Les substances sont extraites par absorption ou adsorption sur le revêtement d'une fibre en fonction de leurs propriétés physico-chimiques. La désorption des molécules piégées est réalisée dans l'injecteur d'une chromatographie en phase gazeuse (Dudareva et al., 2006).

#### 6.1.2. Mode dynamique : Le système push-pull

Le système Push-pull (Figure 11) est une technique d'échantillonnage des COVs qui consiste à propulser l'air purifié dans une chambre contenant la plante avec un débit régulé et contrôlé par un débitmètre. Une autre pompe, liée à un deuxième débitmètre, est utilisée pour aspirer une quantité bien définie de cet air. Il est ainsi possible de quantifier précisément les COVs émis par les plantes et adsorbés sur un support ('Capteur de COVs' dans la figure 11). Plusieurs supports peuvent être utilisés. Parmi ceux-ci, les supports Tenax TM sont certainement les plus utilisés. Les composés organiques volatils piégés sont par la suite analysés par une CG-SM.



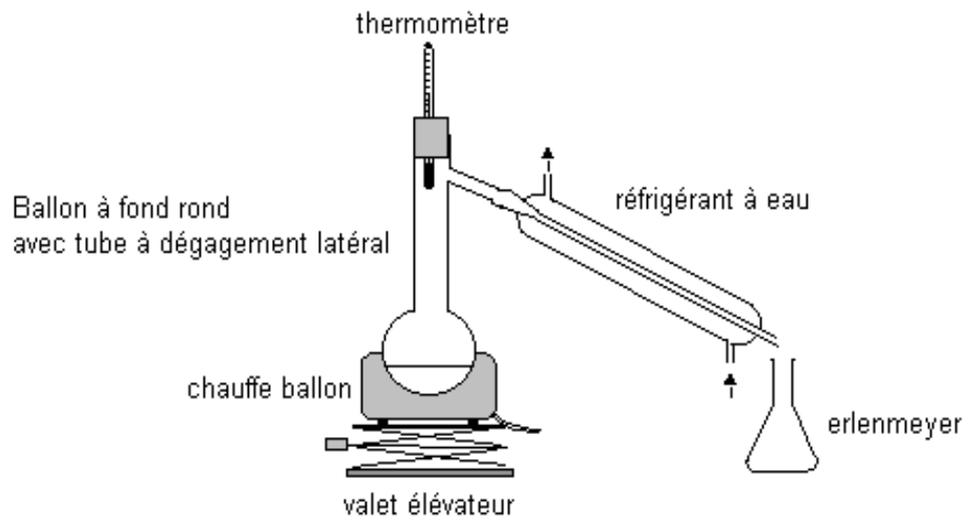
**Figure 11.** Echantillonnage des COVs : Système push-pull.

## 6.2. Extraction par solvant

L'extraction par solvants vise à dissoudre les composés volatils de la plante dans un solvant, qui sera évaporé par la suite. Cette technique consiste à dissoudre le composé recherché dans un solvant non miscible avec l'eau et à séparer la phase organique contenant le composé à extraire de la phase aqueuse.

## 6.3. Hydrodistillation

L'hydrodistillation (Figure 12) est une technique très ancienne. Elle consiste à immerger la matière première végétale dans un réacteur rempli d'eau et l'ensemble est porté à ébullition. La chaleur provoque l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes. Le mélange formé d'eau et des molécules aromatiques est par la suite refroidi et condensé dans un essencier ou vase florentin. Une fois condensé, les constituants se séparent en une phase organique et une phase aqueuse grâce à leurs différences de densité.



**Figure 12.** Hydrodistillation (*Les Techniques d'Extraction / Superprof, s. d.*).

## **Chapitre II : Matériel et méthodes**

## 1. Matériel biologique

### 1.1. Matériel végétal

Un total de 30 accessions de tomate appartenant à 5 espèces différentes (*S. lycopersicum*, *S. habrochaites*, *S. cheesmaniae*, *S. pennellii* et *S. galapagense*) a été utilisé et étudié dans la totalité de nos travaux. Les graines ont été fournies par le laboratoire GAFL (Génétique et Amélioration des Fruits et Légumes). Les 30 accessions de tomate se subdivisent en 22 accessions sauvages (*S. habrochaites* (7), *S. pennellii* (3), *S. cheesmaniae* (10), *S. galapagense* (1) et une dont l'espèce n'est pas certaine: *S. cheesmaniae* ou *S. peruvianum*) et 8 accessions cultivées (*S. lycopersicum* (2) et *S. lycopersicum* var *cerasiforme* (6)).

Le semis des graines se fait une fois par semaine. Pour certaines accessions, un traitement préalable des graines doit être réalisé pour favoriser la germination. Selon l'accession, les graines subissent un traitement en utilisant une solution d'eau de Javel ( $\frac{1}{4}$  de Javel +  $\frac{3}{4}$  d'eau) et qui est suivi de plusieurs rinçages, ou bien les graines sont trempées dans l'eau jusqu'à quelles soient translucides. Ces traitements accélèrent la dégradation des téguments externes de la graine et favorise la germination. La durée du traitement diffère d'une accession à une autre (Tableau1). Une fois le traitement est réalisé, chaque graine est déposée dans un petit pot contenant le terreau (Figure 13).



**Figure 13.** Dispositif de germination.

Un test de germination a été effectué pour déterminer le pourcentage de germination qui varie entre 30 et 100% (Tableau1).

**Tableau 1.** Les caractéristiques agronomiques des accessions.

Lot de graines	Nom de l'accession	Espèce	Traitement	Temps du trempage	Pourcentage de germination (sur 10 graines)	Phénologie (Semaines)
BE-18P	Maroc	<i>S. lycopersicum</i>	Aucun	Aucun	100%	4
BE-17P	RdB				90%	4
BE-16P	LA2078				90%	4
BE-16P	Mex-10				70%	4
BE-18P	Mex-121-A	<i>S. lycopersicum</i> var <i>cerasiforme</i>	Aucun	Aucun	70%	4
BE-15P	LA2254				60%	4
BE-18P	PI438				80%	4
BE-16P	MWC				100%	4
BE-16P	LA1033				90%	5
BE-16P	LA3863				100%	6
BE-16P	LA3864				90%	6
BE-16P	LA1777	<i>S. habrochaites</i>	Aucun	Aucun	60%	6
BE-16P	PI24				90%	6
BE-16P	PI308				90%	6
Multiplication Hélène 2020	G1560				90%	5
GAFLOT0E00794 Hélène	LA0751	<i>S. pennellii</i>	Aucun	Aucun	50%	6
BE-18P	LA1297				60%	6
BE-18P	LA1376				60%	6
(x) INRA 2005	LA0421				100%	6
CHS2, mél 6pl autof, 11.06.05	LA0429				90%	6
(x) INRA 2005	LA0531			15 min	100%	5
CHS4, mél 7pl autof, 11.06.05	LA0746				90%	6
CHS5, mél 9pl fl, 25.07.05	LA0749				60%	6
CHS6, mél 8pl autof, 11.06.05	LA1036	<i>S. cheesmaniae</i>	Javel	30 min	90%	6
CHS7, mél 6 pl autof, 11.06.05	LA1406				100%	5
CHS8, mél 9pl fl, 11.06.05	LA1412			15 min	100%	5
CHS9, mél 6pl autof, 11.06.05	LA1447			30 min	70%	6
CHS10, mél 7pl autof, 26.05.05	LA1450			15 min	90%	6
AUT 27, mél 8pl autof, 16.12.13	LA1401	<i>S. galapagense</i>	Eau	45 min	30%	6
(x) Syngenta 2004	CGN 15820	<i>S. cheesmaniae</i> ? <i>S. peruvianum</i> ?	Aucun	Aucun	70%	5

La germination est réalisée en phytotron. Les petits pots sont recouverts par du papier aluminium pendant 48h. Les conditions de germination sont les suivantes : 70% d'humidité relative, 16h de photopériode à 23°C et 8h de nuit à 18°C.

Après 2 semaines, un repiquage des plantules est réalisé (Figure 14). La culture des plantes est réalisée en phytotron et dans les mêmes conditions que la germination. La durée de croissance des tomates avant les tests diffère d'une espèce à une autre : 4 semaines pour les espèces cultivées et 5 ou 6 semaines pour les espèces sauvages (Tableau 1). Ce décalage phénologique permet de tester des plantes avec des biomasses comparables tout en s'assurant que toutes les plantes restent à un stade végétatif.



**Figure 14 .** Des plantules en phytotron après le repiquage.

## 1.2. Élevage de *Tuta absoluta*

Des larves de *T. absoluta* ont été fournies par l'Institut Sophia Agrobiotech (ISA) afin de les cultiver dans le Laboratoire Agronomie et Environnement (LAE) et tester le comportement de ce ravageur. Ces larves sont introduites dans des insectariums (des cages d'élevage ayant les dimensions suivantes : 60 cm de largeur × 60 cm de longueur × 60 cm de hauteur) qui contiennent des plantes de tomate cultivées pour permettre leur développement (ponte, alimentation des larves, formation des pupes).

Les cages sont placées dans le phytotron sous les conditions suivantes: 70% d'humidité relative, 16h de photopériode à 23°C et 8h de nuit à 18°C. Des plantes de tomate fraîches sont ajoutées régulièrement pour assurer le cycle de développement des insectes (pontes d'œufs par les femelles, développement larvaire, pupaison, émergence des adultes). Ce cycle s'échelonne entre 3 et 4 semaines. Une fois que l'émergence des adultes est observée, une solution sucrée (50% d'eau + 50% de miel) est mise dans les cages afin de nourrir les *T. absoluta* (Figure 15).

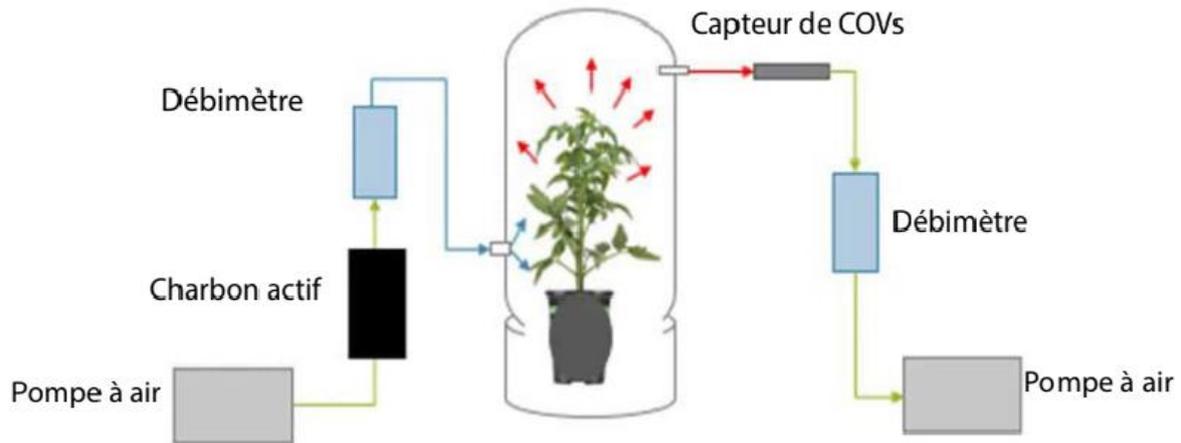


**Figure 15.** Des insectariums pour l'élevage de *T. absoluta*.

## 2. Méthodologie

### 2.1. Extraction des composés organiques volatils

Un système de type push-pull a été choisi pour échantillonner les composés organiques volatils émis dans l'environnement de la plante (Figure 16). Cette technique consiste à propulser de l'air purifié par du charbon actif dans une chambre en verre contenant la plante, appelée « cloche », avec un débit réglé et contrôlé par un débitmètre. Une autre pompe, liée à un deuxième débitmètre, est utilisée pour aspirer une quantité bien définie de cet air. Une cartouche remplie d'une phase adsorbante est placée dans le système pour piéger les COVs.



**Figure 16.** Schéma du principe du système push-pull.

Dans le laboratoire, six cloches sont mises en disposition pour échantillonner six plantes simultanément (Figure 17). Ces plantes sont mises dans la cloche la veille du test sous un débit d'air de 2000 ml/min pour éliminer les composés volatils de stress émis après manipulation des plantes. La couverture des pots par du papier aluminium est nécessaire pour éviter les COVs émis par le sol.

Plusieurs essais ont été effectués pour choisir le temps d'échantillonnage approprié et la phase adsorbante adéquate. Le temps de capture a été fixé à 30 min (pour un débit de 400ml/min) de manière à obtenir les meilleurs ratios entre composés majoritaires et traces. La meilleure phase adsorbante qui a été choisie est le Tenax<sup>TM</sup> TA de « mesh » 35/60. Cette phase permet de capturer une grande diversité chimique de COVs. Nous avons donc préparé des cartouches de captures de COVs avec 200 mg de cette phase adsorbante.

Des cloches vides ou contenant des pots couverts par du papier aluminium ont été testées une fois par semaine.

Après chaque test, un lavage des cloches par du désinfectant et de l'éthanol doit être réalisé. Les cloches sont ensuite séchées avant d'être ré-utilisées.



**Figure 17.** Dispositif d'échantillonnage des COVs émis

## **2.2. Analyse des COVs: La chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse**

Les échantillons de composés volatils ont été analysés à l'aide d'un appareil de thermodésorption (TD 100-xr, Markes) couplé à une chromatographie gazeuse (GC, Trace 1310, Thermo Scientific) équipé d'un spectromètre de masse triple quadrupole (TSQ 9000, Thermo Scientific) (Figure 18). Les COVs capturés sur Tenax ont été désorbés pendant 5 min à 200°C avec un flux d'hélium à 10ml/min et concentrés sur un piège à froid (Tenax TA) maintenu à 10°C. Ce piège à froid subit ensuite une augmentation rapide de température (250°C) pendant 5 min pour transférer les COVs dans la colonne analytique de la GC sans aucun partage de flux (DB-5MS, 30 m de long, 0.25 mm de diamètre, 0.25  $\mu$ m d'épaisseur). La ligne de transfert est maintenue à 250°C pendant la thermodésorption du piège à froid. La température du four suit le programme suivant : 3 min à 50°C, 120°C à 4°C/min, puis 250 °C à 7°C/min, et enfin, la température est maintenue à 250°C pendant 5min. Le flux d'hélium dans la colonne est maintenu à 1.2 ml/min. La ligne de transfert entre le four de la GC et le spectromètre de masse est fixée à 250°C. La source d'ionisation du spectromètre est paramétrée à 250°C. Avant chaque injection en GC-MS, les cartouches de Tenax ont été chargés avec une masse connue de standard interne (48.65 ng de tétraline) afin de prendre en compte la variabilité

du détecteur de masse sur l'ensemble des analyses. Au cours de l'analyse, les composés présents dans l'air ambiant, dans le système analytique ou émis par les pots et le terreau ont été soustraits des échantillons.



**Figure 18.** Dispositif d'analyse des COVs.

### 2.3. Identification et quantification des composés volatils

Pour pouvoir identifier les COVs émis par les plantes, 3 méthodes ont été utilisées. La première méthode consiste à comparer les spectres de masse de chaque composant avec une banque de données spectrale. Dans le laboratoire, la base de données utilisée est NIST 08 (The National Institute of Standards and Technology). Cette version contient 220 460 spectres de 192 108 composés chimiques différents (*National Institute of Standards and Technology*). La deuxième méthode consiste à calculer, pour chaque COV, un indice de Kovats afin de le comparer à une base de données (PubChem, NIST, ChemSpider). Pour effectuer ce calcul, une solution d'alcane (C7-C40) doit être injectée (un volume=1µl) dans les mêmes conditions d'injection de nos échantillons. L'indice de Kovats (IK) est déterminé selon la formule suivante:

$$I_{kx} = 100n + 100 \frac{(t_x - t_n)}{(t_{n+1} - t_n)}$$

Sachant que  $t_n$  et  $t_{n+1}$  sont les temps de rétention des hydrocarbures n-alcanes de référence élués immédiatement avant et après le composé chimique X.

Pour confirmer l'identification, une dernière méthode a été utilisée. Elle consiste à injecter des standards externes (Annexe 1) dans les mêmes conditions que nos échantillons afin de comparer les temps de rétention et les spectres de masse. La concentration finale des solutions est de 100ng/  $\mu$ l et le volume à injecter est égal à 1  $\mu$ l.

Une fois que les COVs sont identifiés, nous avons passé à la quantification relative et ceci en intégrant les aires des ions majoritaires des composés. Chaque aire est divisée par l'aire de l'ion majoritaire du standard interne (tétraline, 104m/z) afin de prendre en compte la variabilité du détecteur de masse. Pour estimer les nanogrammes de COV émis par gramme de plante sèche par heure, il faut diviser l'aire corrigée par le poids sec des plantes puis le multiplier par 2.

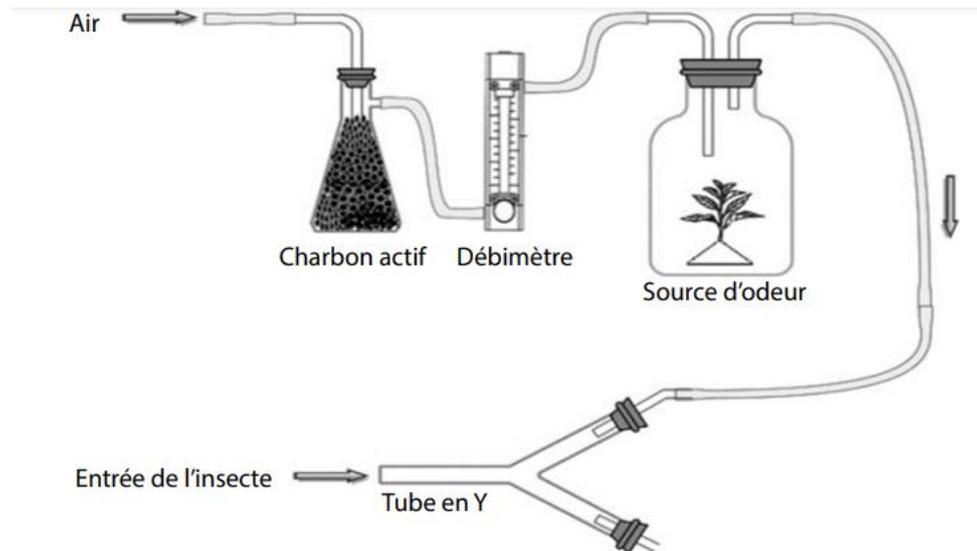
$$Q_{cov} = \frac{2 * A_{cov}}{A_{tr} * MS}$$

Avec:  $A_{cov}$ = aire du pic majoritaire du composé,  $A_{tr}$  = aire du pic majoritaire de la tétraline,  $MS$ =Masse sèche de la plante.

#### 2.4. Test de comportement

Pour étudier le comportement de *T. absoluta* et l'impact des composés volatils émis par la tomate, un système d'olfactomètre en Y a été utilisé. Ce système à double bras permet d'évaluer l'attraction et la répulsion de la mineuse par la plante (Biasazin et al., 2014; Msisi et al., 2021).

Pour effectuer le test de comportement, nous avons besoin d'une pompe à air, du charbon actif, de l'eau, 2 cloches et un tube en Y (Figure 19).



**Figure 19.** Schéma du système d'olfactomètre en Y (Saad et al., 2015).

Le montage a été placé dans une chambre sombre à 19°C. Le tube en Y est déposé sur un trépied pour le maintenir en position inclinée (Angle de 15° par rapport au plan horizontal). Ce tube a été mis au milieu d'une boîte noire (42 cm de largeur × 100 cm de longueur × 65 cm de hauteur) sous une lumière rouge.

Les deux bras du tube sont reliés à deux cloches en verre, auxquelles est fixé un débitmètre. Le flux d'air provenant de la pompe est d'abord purifié en passant par un bocal rempli de charbon actif, puis humidifié en passant à travers un erlenmeyer rempli d'eau fraîche (Figure 20).



**Figure 20.** Dispositif de l'olfactométrie.

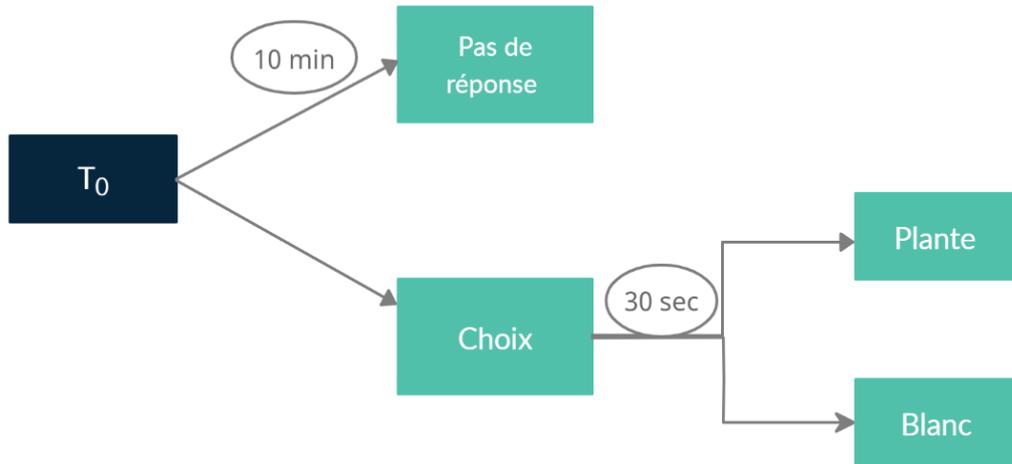
Parmi les 30 accessions de tomate étudiées, 10 accessions (Tableau 2) ont été retenues pour étudier le comportement de *T. absoluta*. Le choix a été basé sur les premiers chromatogrammes obtenus des différentes plantes de telle sorte que nous aurons 3 plantes d'une même espèce ayant une diversité des COVs importante. Les espèces *S. galapagense* et l'espèce inconnue ne sont pas retenues parce qu'il y avait un problème de germination au début. Pour l'espèce cultivée *S. lycopersicum*, seulement l'accession RdB est testée.

Le test de comportement est réalisé dans les conditions suivantes : un débit d'air de 500 ml/min et des femelles accouplées puis isolées pendant 3-5h. Pour chaque accession, 30 femelles ont été testées d'une façon à avoir 10 insectes par plante (ce qui revient à l'utilisation de 3 plantes par accessions). Chaque accession a été testée contre une odeur neutre (une cloche vide).

**Tableau 2.** Les accessions utilisées pour le test de comportement.

Espèces	Accessions
<i>S. cheesmaniae</i>	LA0421
	LA0429
	LA1412
<i>S. pennellii</i>	LA0751
	LA1297
	LA1376
<i>S. habrochaites</i>	LA1777
	PI24
	PI308
<i>S. lycopersicum</i>	RdB

Une fois que la femelle est introduite dans le tube en Y, nous déclenchons le chronomètre et observons le comportement de *T. absoluta* pendant 10 min (Msisi et al., 2021). Lorsqu'elle franchit l'intersection et choisi un bras (2 cm après l'intersection), il faut attendre 30 secondes pour confirmer le choix et noter le temps. L'absence de choix durant les 10 minutes est notée comme un « non-choix » (Figure 21).



**Figure 21.** Arbre de décision pour le test de comportement.

Pour comparer d'une manière quantitative la capacité de répulsion des accessions, nous avons calculé l'indice de répulsion qui donne une idée sur la proportion des individus qui ont choisi le blanc (la cloche vide) par rapport à ceux qui ont choisi la plante. Cet indice varie entre -1 (100% des individus choisissent la plante) et 1 (100% des individus choisissent le blanc).

L'indice de répulsion (IR) est déterminé selon la formule suivante:

$$IR = \frac{N1 - N2}{N1 + N2}$$

Avec N1 : Le nombre des individus qui ont choisi le blanc.

N2 : Le nombre des individus qui ont choisi la plante.

### 3. Analyses statistiques

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées sous la version 4.2.1 de R (*R Core Team, 2022*). Pour analyser les données comportementales en olfactométrie, nous avons réalisé un test du  $\chi^2$  de Pearson afin de comparer les proportions d'individus ayant choisi la cloche vide et la cloche contenant la plante (fonction 'prop.test' avec un test unilatéral sans correction de Yates). Les corrélations entre l'indice de répulsion de chaque accession de tomate avec la proportion d'individu non-répondant ainsi que le temps de réponse ont été testées à l'aide d'un test de corrélation avec un coefficient de Kendall.

Pour analyser les données analytiques, nous avons d'abord utilisé le package xcms (Smith et al., 2006) pour détecter les pics au sein des chromatogrammes à l'aide de la méthode

‘CentWaveParam’ (largeur de pics entre 3 et 20 secondes, une résolution en masse à 200ppm, un bruit de fond fixé à  $1.10^6$  et un ratio signal/bruit à 10). Les pics ont ensuite été alignés grâce à la méthode ‘ObiwarpParam’ puis groupés à l’aide de la méthode ‘PeakDensityParam’ (avec une fraction minimum de 1/3). Suite à cette procédure, nous avons obtenu une matrice avec les aires de 1257 ions détectés. L’utilisation du package CAMERA (Kuhl et al., 2012) a permis de regrouper ces ions en 307 molécules avec la fonction ‘groupFWHM’. Nous avons isolé les ions majoritaires de ces 307 molécules avant de standardiser leurs aires par celui du standard interne (tétraline,  $m/z=104$ ) puis par le poids sec de chaque plante. Après avoir soustrait les molécules présentes dans le système de capture (air ambiant, cloche, connectiques) et le système analytique (décrochage de colonne), nous avons retiré les artefacts à l’aide du logiciel ‘Xcalibur’. Nous avons alors retenus 77 COVs. Par la suite, nous avons réalisé une analyse de redondance avec le package ‘vegan’ pour tester l’importance de la diversité des COVs dans la discrimination entre accessions et espèces de tomate.

Enfin, pour identifier les COVs impliqués dans l’attraction et la répulsion de *T. absoluta*, nous avons réalisé un graphique en volcan. Sur l’axe des abscisses, nous avons calculé le ‘fold change’ logarithmique (base 2) entre l’émission moyenne chez les accessions répulsives et les accessions attractives. Sur l’axe des ordonnées, nous avons représenté la probabilité critique d’un test de Wilcoxon (opposé du logarithme en base 10).

# **Chapitre III: Résultats et** **discussion**

Une étude de la diversité des composés organiques volatils (COVs) émis par 30 accessions de tomate appartenant à 6 espèces ainsi que le comportement de la mineuse de la tomate, *Tuta absoluta*, sera développée dans cette partie afin de trouver une relation entre la diversité des COVs et le choix de la plante hôte par ce ravageur.

## 1. Analyse des profils de COVs

### 1.1. Identification des COVs

L'analyse par GC-MS des 266 échantillons des 30 accessions de tomate a permis d'identifier 76 constituants représentant 98,7% du total des COVs détectés (Tableau 3). Nos travaux corroborent ceux trouvés par Silva et al., (2017) sur *S. lycopersicum* cultivar Moneymaker.

La classification chimique de ces composés a révélé une dominance quantitative des oxylipines (Alcanes, alcools, aldéhydes, cétones) (37 composés), des monoterpénoïdes (15 composés), des benzénoïdes (11 composés) et des sesquiterpénoïdes (9 composés).

Une Analyse de Redondance (RDA, sur la base des 76 COVs, a été réalisée pour obtenir une représentation simultanée de regroupement des espèces en fonction des COVs.

Cette analyse montre que nos 6 espèces de tomate émettent des profils de COVs significativement différents ( $p < 0.001$ ). Les 77 COVs détectés expliquent 47% de la variabilité entre accessions ( $R^2 = 0.47$ ) (Figure 22).

Une différenciation hautement significative entre les espèces a été observée. En effet, l'espèce cultivée *S. lycopersicum* se distingue par une richesse des monoterpénoïdes, à l'exception d'un composé benzénoïde. Les profils émis par les espèces sauvages sont beaucoup plus diversifiés avec une dominance de sesquiterpénoïdes et de COVs oxydés (alcools, aldéhydes, cétones). Les accessions de *S. pennellii* sont caractérisées par des profils de COVs les plus complexes qui regroupent les différentes classes des composés à l'exception des monoterpénoïdes.

La dominance des monoterpénoïdes dans la composition chimique de *S. lycopersicum* par rapport à la variabilité de celle des espèces sauvage, plaide en faveur de l'hypothèse que la sélection et la domestication des plantes conduisent à la perte de la diversité de COVs. Cette modification est susceptible de résulter un affaiblissement des défenses naturelles comme cela a été montré pour d'autres métabolites secondaires (Chen et al., 2015).

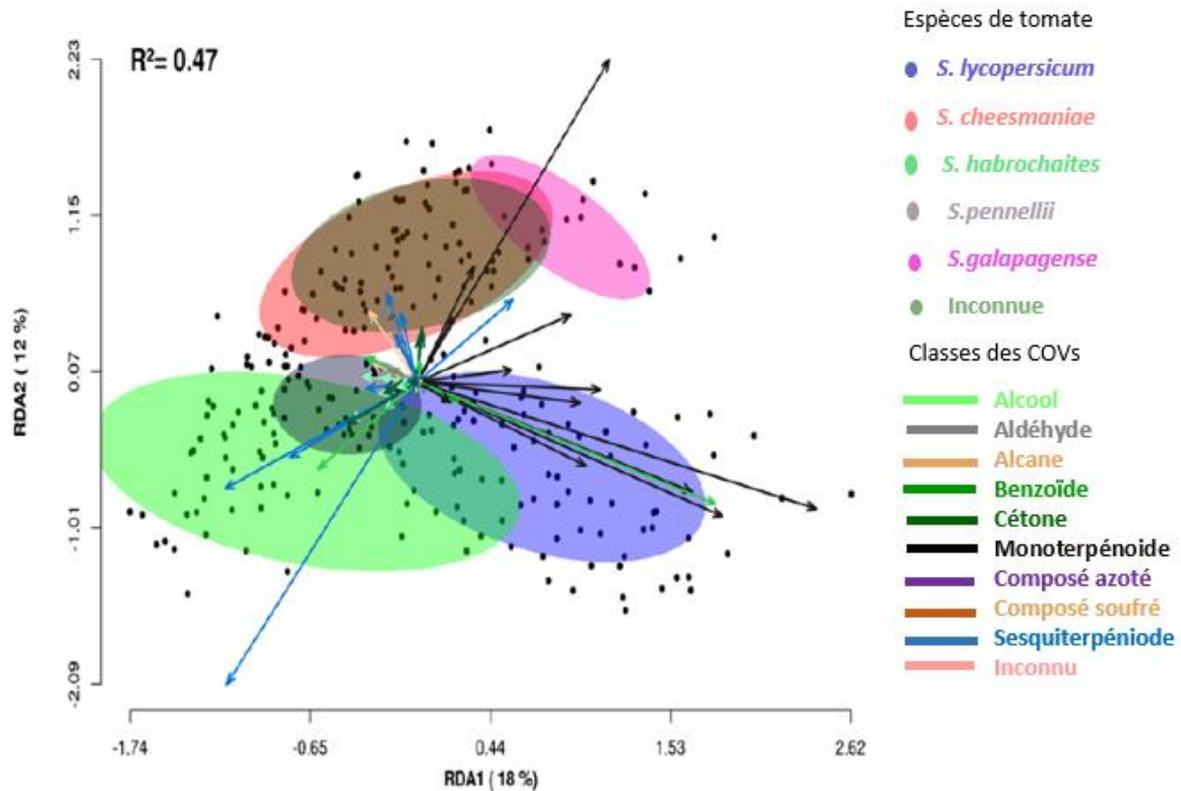
D'autre part, le profil de COVs émit par l'accession CGN15820, dont l'identification reste imprécise, ressemble nettement à celui de *S. chessmaniae*. Cette chénotaxonomie semble préciser son appartenance à *S. chessmaniae*. Ainsi, 5 espèces seront considérées dans la suite de ce travail.

**Tableau 3.** La liste des composés organiques volatils détectés.

	Composés organiques volatils	Classe chimique	Ion quantifié (m/z)	TR (min)	IK <sub>C</sub>	IK <sub>L</sub>	Base de données
1	3-Hexenal	Aldéhyde	39	4,76	802	802	pubchem
2	4-Méthyl-3-penten-2-one	Cétone	55	4,78	803	804	pubchem
3	2,4-Diméthyl-1-heptène	Alcane	70	5,79	834	836	pubchem
4	(E)-2-Hexenal	Aldéhyde	41	5,91	838	838	pubchem
5	1,3,5-Triméthylcyclohexane	Alcane	69	6,29	849	849	pubchem
6	Aldéhyde	Aldéhyde	55	6,33	851	NI	NI
7	(E)-3-Hexenol	Alcool	67	6,34	851	851	pubchem
8	Alcane	Alcane	57	6,5	856	NI	NI
9	1-Hexanol	Alcool	56	6,72	863	863	pubchem
10	4-Cyclopentène-1,3-dione	Cétone	96	7,24	879	880	pubchem
11	2-heptanone	Cétone	58	7,49	886	886	pubchem
12	1-Méthoxy-2-propyl-acétate	Cétone	45	7,86	898	914	pubchem
13	2-Furyl-méthyl-ketone	Cétone	110	8,24	908	908	pubchem
14	2,5-Hexanedione	Cétone	99	8,91	924	925	pubchem
15	$\alpha$ -pinène	Monoterpénoïdes	93	9,14	930	930	pubchem
16	4-Méthyl-2-heptanone	Cétone	58	9,32	934	936	pubchem
17	5-Méthyl-2-furaldéhyde	Aldéhyde	110	10,4	960	960	pubchem
18	Diméthyl-trisulfide	Composés soufrés	126	10,71	968	968	pubchem
19	Monoterpénoïde	Monoterpénoïdes	119	11,27	981	NI	NI
20	isolimonène	Monoterpénoïdes	79	11,39	984	983	NIST
21	$\beta$ -myrcène	Monoterpénoïdes	41	11,65	990	990	NIST
22	Méthyl-2-hydroxy-3-méthylpentanoate	Alcool	90	11,75	993	978	pubchem
23	$\alpha$ -phellandrène	Monoterpénoïdes	93	12	999	999	pubchem
24	$\alpha$ -terpinène	Monoterpénoïdes	136	12,92	1007	1007	pubchem
25	Benzène	Benzénoïdes	117	13,44	1013	NI	NI
26	D-Limonène	Monoterpénoïdes	68	13,57	1018	1018	pubchem
27	Monoterpénoïde	Monoterpénoïdes	77	13,7	1028	NI	NI
28	$\gamma$ -terpinène	Monoterpénoïdes	93	13,89	1031	1031	pubchem
29	2-phenylacétaldéhyde	Benzénoïdes	91	13,94	1033	1033	pubchem
30	Alcool	Alcool	45	14,21	1038	NI	NI
31	Benzène	Benzénoïdes	105	14,41	1044	NI	NI
32	Alcool	Alcool	87	14,67	1048	1066	pubchem
33	Aldéhyde	Aldéhyde	95	15,4	1064	NI	NI
34	1-Ethoxy-2-heptanone	Cétone	99	15,46	1068	1068	pubchem
35	2,5-Diméthyl-2,5-hexanediol	Alcool	59	15,5	1069	1059	NIST
36	Benzyl-formate	Benzénoïdes	90	15,74	1070	1076	pubchem
37	Benzène	Benzénoïdes	119	16,01	1074	NI	NI
38	Terpinolène	Monoterpénoïdes	93	16,09	1081	1081	pubchem
39	2-méthoxy-phenol	Benzénoïdes	109	16,12	1081	1082	pubchem

40	Alcool	Alcool	110	17,22	1080	NI	NI
41	2-phenylethanol	Benzénoïdes	91	17,52	1100	1100	pubchem
42	(4E,6E)-Alloocimène	Monoterpénoïdes	121	18,12	1115	1115	pubchem
43	(E)-limonene-oxide	Monoterpénoïdes	108	18,14	1118	1118	pubchem
44	Alcane	Alcane	57	19,76	1125	NI	NI
45	Benzyl_cyanide	Composés azotés	90	20,29	1161	1161	pubchem
46	3,9-Epoxy-p_menth-1-ene	Monoterpénoïdes	137	20,88	1171	1178	NIST
47	Salicylate de méthyle	Benzénoïdes	120	21,17	1172	1172	pubchem
48	7-Methyl-3-methylene-6-octen-1-ol	Alcool	111	22,28	1215	1222	pubchem
49	2-Ethyl-3-methylmaleimide	Composés azotés	139	23,07	1232	1235	pubchem
50	Carvone	Monoterpénoïdes	54	23,55	1242	1242	pubchem
51	Salicylate d'éthyle	Benzénoïdes	120	24,67	1265	1265	pubchem
52	2-Undecanol	Alcool	45	25,68	1286	1285	pubchem
53	2-Undecanone	Cétone	170	25,82	1289	1289	pubchem
54	Isocarveol	Monoterpénoïdes	93	26,03	1293	1293	pubchem
55	Alcane	Alcane	69	26,42	1302	NI	NI
56	$\delta$ -elemène	Sesquiterpénoïdes	93	27,61	1333	1337	pherobase
57	p-Eugenol	Benzénoïdes	164	28,4	1354	1354	pubchem
58	$\alpha$ -copaène	Sesquiterpénoïdes	161	29,27	1377	1377	NIST
59	1,1,3-Trimethyl-1H-indene	Benzénoïdes	143	29,31	1378	NI	NI
60	2-Dodecanone	Cétone	184	29,97	1396	1396	pubchem
61	5-ethyl-2-thiophenecarboxylic-acide	Composés soufrés	156	30,2	1402	NI	NI
62	2-Dodecanol	Alcool	45	30,25	1404	1417	pubchem
63	Dodecanal	Aldéhyde	55	30,45	1411	1411	pubchem
64	$\beta$ -caryophyllène	Sesquiterpénoïdes	91	30,76	1423	1423	pubchem
65	Inconnu	Inconnu	130	30,86	1426	NI	NI
66	$\gamma$ -élémente	Sesquiterpénoïdes	93	31,04	1433	1433	pubchem
67	Dihydropseudoionone	Sesquiterpénoïdes	43	31,54	1451	1451	pubchem
68	Humulene	Sesquiterpénoïdes	80	31,77	1459	1459	pubchem
69	Cétone	Cétone	161	32,14	1472	NI	NI
70	1-dodecanol	Alcool	56	32,28	1477	1478	NIST
71	$\alpha$ -curcumène	Sesquiterpénoïdes	132	32,42	1482	1482	NIST
72	$\alpha$ -zingiberène	Sesquiterpénoïdes	119	32,73	1493	1493	NIST
73	2-Tridecanone	Cétone	71	32,76	1494	1494	pubchem
74	Cétone	Cétone	202	33,28	1518	NI	NI
75	2-Tridecanol	Alcool	45	33,66	1537	1510	NI
76	TMTT	Sesquiterpénoïdes	81	34,47	1577	1573	pubchem
77	2-Tetradecanone	Cétone	58	34,93	1600	1600	pubchem

**TR** : Temps de rétention. , **IK<sub>C</sub>** : Indice de Kovats calculé, **IK<sub>L</sub>** : Indice de Kovats à partir de la littérature, **NI** : Non identifié.



**Figure 22.** Analyse de redondance (RDA) des COVs émis par les 30 accessions.

Les flèches représentent les 76 COVs détectés, les points représentent les 266 plantes testées et les cercles représentent les différentes espèces. Plus un point est proche d'une flèche, plus cette plante se caractérise par l'émission de ce COV.

## 1.2. Quantification des COVs

Une quantification par le standard interne (la tétraline) des 77 COVs détectés a été réalisée. Une variabilité intra et inter spécifique a été observée. 19 composés sont émis avec des quantités significativement différentes ( $p < 0.05$ ) d'une accession à une autre. En se focalisant sur les 10 accessions choisies pour le test de comportement (Tableau 4), une richesse quantitative en monoterpénoïdes (328,01 ng/g/h) a été révélée pour l'accession cultivée RdB. Les monoterpénoïdes majoritaires pour cette accession est le  $\gamma$ -terpinène (104,26 ng/g/h), le  $\alpha$ -phellandrène (64,25 ng/g/h), le COV 27 (20,11 ng/g/h), l'isolimonène (20,11 ng/g/h) et l' $\alpha$ -terpinène (13,14 ng/g/h).

Par contre, les accessions sauvages sont caractérisées par une dominance quantitative de sesquiterpénoïdes par rapport aux monoterpénoïdes émis par l'espèce cultivée. En effet, le (3E,7E)-4,8,12-triméthyltridéca-1,3,7,11-tétraène (TMTT) est présent chez les espèces sauvages avec des quantités élevées qui varient de 6,77 ng/g/h (LA1412) à 230,12 ng/g/h

(P124). D'autres composés semblent distinguer significativement les espèces sauvages par rapport à celle cultivée : le salicylate de méthyle,  $\alpha$ -curcumène et  $\alpha$ -zingibérène.

**Tableau 4.** Les moyennes des quantités de COVs en ng/g/h émises par les 10 accessions étudiées.

Composés	<i>S. lycopersicum</i>	<i>S.habrochaites</i>			<i>S. pennellii</i>			<i>S. cheesmaniae</i>		
	RdB	LA1777	PI24	PI308	LA0751	LA1297	LA1376	LA0421	LA0429	LA1412
COV1	0,74 ± 0,74	1,89 ± 1,89	2,25 ± 1,15	2,58 ± 2,58	1,83 ± 1,83	1,57 ± 1,57	0,44 ± 0,44	0,26 ± 0,26	0,06 ± 0,06	0,94 ± 0,76
COV2	3,25 ± 3,16	2,36 ± 1,63	2,08 ± 1,91	16,45 ± 10,05	0,54 ± 0,37	7,51 ± 7,32	1,32 ± 1,17	0,21 ± 0,21	0,7 ± 0,47	2,19 ± 1,38
COV3	0,11 ± 0,04	0,99 ± 0,37	1,57 ± 0,67	1,25 ± 0,44	0,41 ± 0,16	1,15 ± 0,57	0,33 ± 0,11	0,27 ± 0,05	1,35 ± 1,17	0,78 ± 0,55
COV4	tr <sup>a</sup>	4,22 ± 1,88 <sup>ab</sup>	6,3 ± 3,3 <sup>ab</sup>	1,75 ± 1,66 <sup>ab</sup>	0,2 ± 0,15 <sup>ab</sup>	2,66 ± 2,55 <sup>ab</sup>	0,57 ± 0,31 <sup>ab</sup>	1,05 ± 0,48 <sup>ab</sup>	4,5 ± 4,25 <sup>ab</sup>	2,63 ± 2,2 <sup>ab</sup>
COV5	0,04 ± 0,03 <sup>a</sup>	5,91 ± 4,85 <sup>ab</sup>	9,3 ± 3,78 <sup>ab</sup>	1,5 ± 0,48 <sup>ab</sup>	0,1 ± 0,06 <sup>a</sup>	0,45 ± 0,19 <sup>ab</sup>	0,24 ± 0,17 <sup>ab</sup>	0,63 ± 0,52 <sup>ab</sup>	6,41 ± 5,63 <sup>ab</sup>	1,93 ± 1,73 <sup>ab</sup>
COV6	0,19 ± 0,18	6,94 ± 6,14	6,99 ± 3,47	1,1 ± 0,53	0,13 ± 0,07	0,35 ± 0,24	0,13 ± 0,13	0,73 ± 0,52	2,79 ± 2,05	1,74 ± 1,54
COV7	tr	2,66 ± 1,72	2,3 ± 0,64	1,3 ± 0,6	0,13 ± 0,1	0,08 ± 0,04	0,07 ± 0,06	0,02 ± 0,02	1,77 ± 1,66	0,22 ± 0,19
COV8	0,04 ± 0,04	1,52 ± 0,79	2,25 ± 0,56	tr	0,3 ± 0,28	0,36 ± 0,34	0,79 ± 0,45	0,23 ± 0,14	0,22 ± 0,11	0,14 ± 0,08
COV9	0,05 ± 0,03	2,74 ± 1,89	4,69 ± 1,62	2,56 ± 1,03	0,17 ± 0,06	0,68 ± 0,27	0,41 ± 0,18	0,36 ± 0,19	2,92 ± 2,53	0,43 ± 0,25
COV10	0,01 ± 0,01	tr	0,13 ± 0,07	0,32 ± 0,28	0,06 ± 0,04	0,03 ± 0,02	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,05 ± 0,04
COV11	0,01 ± 0,01	0,05 ± 0,05	0,11 ± 0,09	0,13 ± 0,09	0,94 ± 0,81	0,06 ± 0,04	0,06 ± 0,03	0,6 ± 0,19	0,58 ± 0,27	0,39 ± 0,12
COV12	0,03 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,09 ± 0,06 <sup>ab</sup>	0,87 ± 0,45 <sup>ab</sup>	0,81 ± 0,49 <sup>ab</sup>	4,09 ± 3,96 <sup>ab</sup>	0,12 ± 0,06 <sup>ab</sup>	0,03 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,15 ± 0,05 <sup>ab</sup>	1,08 ± 0,6 <sup>ab</sup>	0,25 ± 0,21 <sup>ab</sup>
COV13	tr	tr	0,8 ± 0,7	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
COV14	0,02 ± 0,02	0,08 ± 0,05	0,1 ± 0,06	0,03 ± 0,03	tr	0,02 ± 0,02	0,08 ± 0,05	0,03 ± 0,02	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,01
COV15	10,08 ± 3,35 <sup>abc</sup>	0,29 ± 0,16 <sup>ad</sup>	0,53 ± 0,1 <sup>ad</sup>	3,43 ± 2,43 <sup>abcde</sup>	3,63 ± 1,19 <sup>abde</sup>	1,07 ± 0,34 <sup>abcde</sup>	9,02 ± 4,14 <sup>abcde</sup>	40,14 ± 12,62 <sup>abcde</sup>	0,85 ± 0,16 <sup>abde</sup>	50,3 ± 11,55 <sup>abcde</sup>
COV16	0,01 ± 0,01	tr	tr	tr	0,03 ± 0,03	tr	0,01 ± 0,01	tr	tr	0,03 ± 0,02
COV17	tr	tr	0,43 ± 0,32	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,02	tr	tr	tr	tr	0,04 ± 0,04
COV18	tr	0,4 ± 0,13	0,27 ± 0,15	0,36 ± 0,17	0,02 ± 0,01	0,04 ± 0,03	tr	tr	0,06 ± 0,06	tr
COV19	43,77 ± 34,79	1,51 ± 1,4	0,42 ± 0,37	0,04 ± 0,03	0,52 ± 0,37	0,04 ± 0,02	0,12 ± 0,04	0,41 ± 0,12	0,14 ± 0,14	0,34 ± 0,12
COV20	20,11 ± 14,58	0,32 ± 0,19	0,38 ± 0,35	0,33 ± 0,25	1,15 ± 0,27	0,53 ± 0,19	1,04 ± 0,41	3,18 ± 1,19	0,14 ± 0,11	3,62 ± 1,13
COV21	2,8 ± 1,31	1,14 ± 0,43	1,37 ± 0,41	2,28 ± 1,11	2,6 ± 0,56	2,85 ± 1,23	3,81 ± 1,2	2,85 ± 1,14	0,7 ± 0,55	3,79 ± 0,93
COV22	tr	0,01 ± 0,01	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
COV23	64,25 ± 35,06 <sup>a</sup>	0,43 ± 0,2 <sup>bc</sup>	0,25 ± 0,13 <sup>b</sup>	32,37 ± 30,49 <sup>abc</sup>	11,8 ± 3,16 <sup>ac</sup>	4,23 ± 1,77 <sup>abc</sup>	10,37 ± 3,2 <sup>abc</sup>	1,66 ± 0,44 <sup>abc</sup>	0,14 ± 0,04 <sup>abc</sup>	1,45 ± 0,33 <sup>abc</sup>
COV24	13,14 ± 9,6 <sup>a</sup>	8,05 ± 7,65 <sup>ab</sup>	0,26 ± 0,15 <sup>ab</sup>	32,9 ± 10,6 <sup>ab</sup>	1,32 ± 0,39 <sup>ab</sup>	0,4 ± 0,11 <sup>ab</sup>	2,41 ± 0,56 <sup>ab</sup>	0,35 ± 0,1 <sup>ab</sup>	0,04 ± 0,04 <sup>b</sup>	0,43 ± 0,08 <sup>ab</sup>

<b>COV25</b>	1,05 ± 0,48	2,17 ± 1,76	1,85 ± 1,26	2,09 ± 0,65	1,74 ± 0,79	0,29 ± 0,08	1,46 ± 0,42	0,16 ± 0,07	0,66 ± 0,64	0,21 ± 0,1
<b>COV26</b>	5,81 ± 1,26	24,06 ± 20,95	1,98 ± 0,71	115,2 ± 36,4	55,6 ± 53,29	0,91 ± 0,2	5,82 ± 1,33	3,92 ± 1,65	0,43 ± 0,18	4,03 ± 1
<b>COV27</b>	56,13 ± 18,17 <sup>a</sup>	0,55 ± 0,29 <sup>b</sup>	2,98 ± 1,47 <sup>ab</sup>	8,52 ± 6,05 <sup>ab</sup>	6,08 ± 4,66 <sup>ab</sup>	0,87 ± 0,26 <sup>ab</sup>	1,63 ± 0,64 <sup>ab</sup>	3,12 ± 0,98 <sup>ab</sup>	0,29 ± 0,12 <sup>ab</sup>	3,62 ± 1,13 <sup>ab</sup>
<b>COV28</b>	104,26 ± 31,7	46,37 ± 43,63	2 ± 0,68	26,85 ± 6,37	63,2 ± 59,56	0,9 ± 0,34	7,74 ± 2,52	10,25 ± 3,94	0,28 ± 0,09	9,98 ± 3,37
<b>COV29</b>	77,81 ± 23,23 <sup>a</sup>	27,75 ± 20,46 <sup>ab</sup>	5,7 ± 2,51 <sup>ab</sup>	14,16 ± 8,2 <sup>ab</sup>	22,9 ± 20,6 <sup>ab</sup>	1,13 ± 0,71 <sup>ab</sup>	2,68 ± 0,88 <sup>b</sup>	2,6 ± 1,06 <sup>ab</sup>	0,62 ± 0,25 <sup>ab</sup>	3,07 ± 1,4 <sup>ab</sup>
<b>COV30</b>	0,01 ± 0,01	0,05 ± 0,03	0,3 ± 0,19	0,09 ± 0,06	0,04 ± 0,03	0,1 ± 0,05	0,03 ± 0,02	0,05 ± 0,02	0,02 ± 0,02	0,03 ± 0,02
<b>COV31</b>	0,96 ± 0,46	1,97 ± 1,27	1,73 ± 0,74	6,49 ± 3,23	1,71 ± 0,83	3,22 ± 2,69	1,79 ± 0,61	0,24 ± 0,08	0,87 ± 0,33	0,14 ± 0,05
<b>COV32</b>	0,06 ± 0,04 <sup>ab</sup>	2,31 ± 0,8 <sup>ac</sup>	2,61 ± 1,22 <sup>c</sup>	0,86 ± 0,27 <sup>abc</sup>	tr <sup>b</sup>	0,01 ± 0,01 <sup>abc</sup>	0,02 ± 0,02 <sup>ab</sup>	tr <sup>ab</sup>	0,04 ± 0,04 <sup>abc</sup>	tr <sup>ab</sup>
<b>COV33</b>	tr	0,04 ± 0,04	0,15 ± 0,13	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,01 ± 0,01
<b>COV34</b>	tr	0,01 ± 0,01	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,02 ± 0,02	tr
<b>COV35</b>	tr	0,12 ± 0,12	0,06 ± 0,05	tr	tr	0,04 ± 0,03	0,02 ± 0,01	tr	0,05 ± 0,05	0,01 ± 0,01
<b>COV36</b>	tr	0,01 ± 0,01	0,14 ± 0,09	tr	tr	tr	tr	tr	0,06 ± 0,06	tr
<b>COV37</b>	0,32 ± 0,26	1,04 ± 0,96	0,34 ± 0,34	tr	0,94 ± 0,89	0,11 ± 0,08	0,12 ± 0,04	0,02 ± 0,01	0,32 ± 0,31	0,03 ± 0,01
<b>COV38</b>	4,42 ± 3,72 <sup>ab</sup>	0,36 ± 0,33 <sup>ab</sup>	0,42 ± 0,23 <sup>ab</sup>	0,87 ± 0,37 <sup>ab</sup>	0,39 ± 0,17 <sup>ab</sup>	0,11 ± 0,05 <sup>ab</sup>	0,53 ± 0,21 <sup>ab</sup>	0,49 ± 0,2 <sup>ab</sup>	tr <sup>a</sup>	0,5 ± 0,1 <sup>ab</sup>
<b>COV39</b>	0,03 ± 0,03	0,03 ± 0,03	0,49 ± 0,15	tr	tr	tr	tr	0,03 ± 0,03	0,13 ± 0,13	tr
<b>COV40</b>	tr	0,03 ± 0,02	0,16 ± 0,09	tr	0,01 ± 0,01	tr	0,08 ± 0,05	tr	0,02 ± 0,02	tr
<b>COV41</b>	0,7 ± 0,58	3,14 ± 2,61	8,3 ± 3,08	1,42 ± 0,34	0,96 ± 0,53	1,3 ± 0,92	0,28 ± 0,14	0,21 ± 0,05	0,95 ± 0,92	0,3 ± 0,15
<b>COV42</b>	1,57 ± 1,14	0,11 ± 0,11	0,13 ± 0,07	0,47 ± 0,47	0,62 ± 0,4	0,09 ± 0,03	1,4 ± 0,74	1,46 ± 1,01	0,16 ± 0,13	1,75 ± 0,56
<b>COV43</b>	0,07 ± 0,07	0,01 ± 0,01	tr	0,03 ± 0,03	0,14 ± 0,14	tr	tr	tr	tr	tr
<b>COV44</b>	0,01 ± 0,01	0,04 ± 0,04	0,08 ± 0,08	0,06 ± 0,06	0,04 ± 0,03	tr	0,01 ± 0,01	0,05 ± 0,03	0,01 ± 0,01	tr
<b>COV45</b>	tr	0,01 ± 0,01	0,18 ± 0,09	tr	tr	tr	tr	tr	0,01 ± 0,01	tr
<b>COV46</b>	1,55 ± 0,66 <sup>a</sup>	1,69 ± 0,52 <sup>ab</sup>	0,06 ± 0,04 <sup>bcd</sup>	0,17 ± 0,14 <sup>abcd</sup>	tr <sup>d</sup>	tr <sup>abcd</sup>	tr <sup>d</sup>	tr <sup>cd</sup>	tr <sup>cd</sup>	tr <sup>cd</sup>
<b>COV47</b>	0,13 ± 0,07 <sup>a</sup>	5,14 ± 3,78 <sup>ab</sup>	17,2 ± 4,95 <sup>b</sup>	4,75 ± 1,26 <sup>ab</sup>	1,42 ± 0,72 <sup>ab</sup>	0,24 ± 0,07 <sup>ab</sup>	1,64 ± 0,87 <sup>ab</sup>	1,24 ± 0,67 <sup>ab</sup>	2,48 ± 1,71 <sup>ab</sup>	0,2 ± 0,04 <sup>ab</sup>
<b>COV48</b>	tr	0,01 ± 0,01	tr	tr	tr	tr	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,02	0,02 ± 0,01	0,04 ± 0,02
<b>COV49</b>	tr	0,02 ± 0,02	0,61 ± 0,36	0,03 ± 0,03	0,05 ± 0,05	tr	tr	tr	0,03 ± 0,03	tr
<b>COV50</b>	tr	0,07 ± 0,07	tr	tr	0,18 ± 0,18	tr	tr	tr	0,02 ± 0,02	tr
<b>COV51</b>	tr	tr	tr	0,02 ± 0,02	tr	tr	0,01 ± 0,01	tr	tr	0,01 ± 0,01
<b>COV52</b>	0,02 ± 0,01 <sup>ab</sup>	0,03 ± 0,03 <sup>ab</sup>	1,02 ± 0,34 <sup>ac</sup>	0,09 ± 0,06 <sup>abc</sup>	0,01 ± 0,01 <sup>ab</sup>	0,01 ± 0,01 <sup>abc</sup>	0,03 ± 0,03 <sup>abc</sup>	0,01 ± 0,01 <sup>abc</sup>	0,03 ± 0,02 <sup>abc</sup>	0,01 ± 0,01 <sup>abc</sup>

<b>COV53</b>	tr <sup>a</sup>	tr <sup>a</sup>	0,52 ± 0,17 <sup>a</sup>	tr <sup>a</sup>	tr <sup>a</sup>	tr <sup>a</sup>	tr <sup>a</sup>	tr <sup>a</sup>	tr <sup>a</sup>	tr <sup>a</sup>
<b>COV54</b>	0,05 ± 0,05	0,13 ± 0,05	0,02 ± 0,02	0,22 ± 0,15	0,03 ± 0,01	tr	0,01 ± 0,01	tr	tr	tr
<b>COV55</b>	0,19 ± 0,06	0,73 ± 0,43	0,78 ± 0,35	0,1 ± 0,07	0,66 ± 0,33	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0,07	0,32 ± 0,14	0,34 ± 0,21	0,18 ± 0,05
<b>COV56</b>	2,6 ± 1,3 <sup>abc</sup>	4,62 ± 2 <sup>ac</sup>	0,08 ± 0,08 <sup>bd</sup>	2,06 ± 0,96 <sup>abcd</sup>	0,25 ± 0,19 <sup>abd</sup>	0,11 ± 0,06 <sup>abcd</sup>	0,11 ± 0,04 <sup>abd</sup>	4,72 ± 3,31 <sup>abcd</sup>	2,38 ± 0,83 <sup>abcd</sup>	4,01 ± 1,2 <sup>abc</sup>
<b>COV57</b>	tr	tr	0,31 ± 0,17	tr	tr	tr	tr	tr	0,16 ± 0,16	tr
<b>COV58</b>	0,37 ± 0,18	11,98 ± 5,05	1,05 ± 0,3	2,82 ± 1,92	0,05 ± 0,04	0,02 ± 0,01	0,12 ± 0,04	0,09 ± 0,06	0,26 ± 0,11	0,15 ± 0,07
<b>COV59</b>	tr	0,07 ± 0,03	0,01 ± 0,01	tr	tr	tr	0,01 ± 0,01	tr	tr	tr
<b>COV60</b>	tr <sup>a</sup>	tr <sup>a</sup>	tr <sup>a</sup>	tr <sup>a</sup>	tr <sup>a</sup>	tr <sup>a</sup>	tr <sup>a</sup>	tr <sup>a</sup>	tr <sup>a</sup>	tr <sup>a</sup>
<b>COV61</b>	tr	0,08 ± 0,07	0,15 ± 0,09	tr	0,03 ± 0,02	tr	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,03 ± 0,02	0,05 ± 0,04
<b>COV62</b>	tr <sup>a</sup>	tr <sup>ab</sup>	tr <sup>ab</sup>	tr <sup>ab</sup>	0,02 ± 0,02 <sup>ab</sup>	tr <sup>ab</sup>	tr <sup>ab</sup>	tr <sup>ab</sup>	tr <sup>ab</sup>	tr <sup>ab</sup>
<b>COV63</b>	0,38 ± 0,11	1,68 ± 0,47	1,57 ± 0,64	5,24 ± 1,91	0,74 ± 0,18	0,8 ± 0,36	0,62 ± 0,17	0,49 ± 0,11	1 ± 0,3	0,82 ± 0,25
<b>COV64</b>	2,48 ± 0,76	6,15 ± 2	2,81 ± 1	10,89 ± 4,35	2,6 ± 0,6	1,82 ± 0,5	2,59 ± 0,74	4,45 ± 2,59	5,31 ± 1,22	4,96 ± 1,26
<b>COV65</b>	tr	0,09 ± 0,04	tr	tr	tr	tr	tr	0,02 ± 0,02	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,01
<b>COV66</b>	1,8 ± 0,59	15,91 ± 6,66	3,73 ± 1,9	9,05 ± 2,47	2,23 ± 0,34	2,28 ± 0,83	1,85 ± 0,74	1,87 ± 0,67	4,09 ± 1,24	3,63 ± 1,12
<b>COV67</b>	0,18 ± 0,06	0,61 ± 0,12	0,68 ± 0,25	1,05 ± 0,46	0,13 ± 0,04	0,12 ± 0,04	0,23 ± 0,08	0,12 ± 0,08	0,95 ± 0,71	0,14 ± 0,06
<b>COV68</b>	0,46 ± 0,16	0,74 ± 0,27	0,43 ± 0,09	1,56 ± 0,56	0,55 ± 0,16	0,37 ± 0,11	0,56 ± 0,16	1,01 ± 0,62	1,27 ± 0,33	1,06 ± 0,25
<b>COV69</b>	0,24 ± 0,08	1,31 ± 0,55	1,29 ± 0,58	4,12 ± 2,86	0,33 ± 0,12	0,18 ± 0,05	0,24 ± 0,08	0,52 ± 0,27	0,31 ± 0,1	0,24 ± 0,08
<b>COV70</b>	0,09 ± 0,06	0,21 ± 0,12	0,6 ± 0,12	0,57 ± 0,2	0,18 ± 0,05	0,34 ± 0,18	0,17 ± 0,06	0,15 ± 0,06	0,11 ± 0,06	0,08 ± 0,03
<b>COV71</b>	0,01 ± 0,01	0,16 ± 0,06	0,34 ± 0,07	0,95 ± 0,64	0,19 ± 0,07	0,15 ± 0,13	0,08 ± 0,02	0,07 ± 0,03	0,19 ± 0,17	0,08 ± 0,04
<b>COV72</b>	0,17 ± 0,05	0,66 ± 0,16	2,05 ± 0,52	5,19 ± 4,09	1,04 ± 0,46	0,33 ± 0,22	0,18 ± 0,06	0,47 ± 0,19	1,63 ± 1,37	0,27 ± 0,08
<b>COV73</b>	tr	0,18 ± 0,16	tr	0,28 ± 0,28	0,6 ± 0,6	tr	0,03 ± 0,03	tr	0,02 ± 0,02	0,14 ± 0,14
<b>COV74</b>	0,02 ± 0,01 <sup>ab</sup>	0,03 ± 0,02 <sup>ab</sup>	0,01 ± 0,01 <sup>ab</sup>	0,02 ± 0,02 <sup>ab</sup>	tr <sup>b</sup>	0,03 ± 0,03 <sup>ab</sup>	tr <sup>b</sup>	0,03 ± 0,01 <sup>ab</sup>	0,06 ± 0,03 <sup>ab</sup>	0,06 ± 0,02 <sup>ab</sup>
<b>COV75</b>	0,03 ± 0,02	0,06 ± 0,02	0,26 ± 0,13	0,27 ± 0,13	0,2 ± 0,06	0,19 ± 0,1	0,1 ± 0,04	0,07 ± 0,03	0,05 ± 0,02	0,06 ± 0,03
<b>COV76</b>	7,56 ± 3,47 <sup>ab</sup>	89,85 ± 36,12 <sup>ac</sup>	230,1 ± 46,7 <sup>c</sup>	22,04 ± 4,19 <sup>abc</sup>	67,86 ± 20,04 <sup>ac</sup>	19,11 ± 6,78 <sup>abc</sup>	28,54 ± 7,1 <sup>abc</sup>	15,98 ± 6,59 <sup>abc</sup>	23,11 ± 9,8 <sup>abc</sup>	6,77 ± 2,26 <sup>abc</sup>
<b>COV77</b>	0,03 ± 0,03	0,05 ± 0,02	0,12 ± 0,06	0,37 ± 0,25	0,06 ± 0,03	0,09 ± 0,07	0,07 ± 0,02	0,05 ± 0,03	0,03 ± 0,02	0,04 ± 0,02
<b>Monoterpénoïdes</b>	328,01	85,09	10,8	223,67	147,21	12	43,9	67,83	3,19	79,81
<b>Sesquiterpénoïdes</b>	15,63	130,68	241,29	55,61	74,9	24,31	34,26	28,78	39,19	21,07
<b>Benzénoïdes</b>	81,00	41,32	36,07	28,93	29,69	6,29	7,99	4,50	6,25	3,96
<b>Oxylipines</b>	5,6	36,38	49,71	41,88	11,84	17,06	6,03	6,34	23,59	13,56

Les valeurs suivies des lettres différentes dans la même ligne sont significativement différentes (p<0.05) ; tr : trace,

COV 1 : 3-Hexenal; COV 2 : 4-Methyl-3-penten-2-one; COV 3 : 2,4-Dimethyl-1-heptene; COV 4 : (E)-2-Hexenal; COV 5 : 1,3,5-Trimethylcyclohexane; COV 6 : Aldéhyde; COV 7 : (E)-3-Hexanol; COV 8 : Alcane; COV 9 : 1-Hexanol; COV 10 : 4-Cyclopentene-1,3-dione; COV 11 : 2-heptanone; COV 12 : 1-Methoxy-2-propyl-acetate; COV 13 : 2-Furyl-methyl-ketone; COV 14 : 2,5-Hexanedione; COV 15 :  $\alpha$ -pinene; COV 16 : 4-Methyl-2-heptanone; COV 17 : 5-Methyl-2-furaldehyde; COV 18 : Dimethyl-trisulfide; COV 19 : Monoterpénoïde; COV 20 : isolimonène; COV 21 :  $\beta$ -myrcène; COV 22 : Methyl-2-hydroxy-3-methylpentanoate; COV 23 :  $\alpha$ -phellandrène; COV 24 :  $\alpha$ -terpinène; COV 25 : Benzène; COV 26 : D-Limonène; COV 27 : Monoterpénoïde; COV 28 :  $\gamma$ -terpinène; COV 29 : 2-phenylacetaldehyde; COV 30 : Alcool; COV 31 : Benzène; COV 32 : Alcool; COV 33 : Aldéhyde; COV 34 : 1-Ethoxy-2-heptanone; COV 35 : 2,5-Dimethyl-2,5-hexanediol; COV 36 : Benzyl-formate; COV 37 : Benzène; COV 38 : Terpinolène; COV 39 : 2-methoxy-phenol; COV 40 : Alcool; COV 41 : 2-phenylethanol; COV 42 : (4E,6E)-Alloocimène; COV 43 : (E)-limonene-oxide; COV 44 : Alcane; COV 45 : Benzyl\_cyanide; COV 46 : 3,9-Epoxy-p\_menth-1-ene; COV 47 : Salicylate de méthyle; COV 48 : 7-Methyl-3-methylene-6-octen-1-ol; COV 49 : 2-Ethyl-3-methylmaleimide; COV 50 : Carvone; COV 51 : Salicylate d'éthyle; COV 52 : 2-Undecanol; COV 53 : 2-Undecanone; COV 54 : Isocarveol; COV 55 : Alcane; COV 56 :  $\delta$ -elemène; COV 57 : p-Eugenol; COV 58 :  $\alpha$ -copaène; COV 59 : 1,1,3-Trimethyl-1H-indene; COV 60 : 2-Dodecanone; COV 61 : 5-ethyl-2-thiophenecarboxylic-acide; COV 62 : 2-Dodecanol; COV 63 : Dodecanal; COV 64 :  $\beta$ -caryophyllène; COV 65 : Inconnu; COV 66 :  $\gamma$ -élémente; COV 67 : Dihydropseudoionone; COV 68 : Humulene; COV 69 : Cétone; COV 70 : 1-dodecanol; COV 71 :  $\alpha$ -curcumène; COV 72 :  $\alpha$ -zingiberène; COV 73 : 2-Tridecanone; COV 74 : Cétone; COV 75 : 2-Tridecanol; COV 76 : TMTT; COV 77: 2-Tetradecanone.

## 2. Comportement de *Tuta absoluta*

Pour tester l'effet de la présence des intumescences (désordre physiologique lié à un stress abiotique) ainsi que la variation du poids de la plante sur le choix de l'insecte, nous avons réalisé des modèles linéaires généralisés suivant une loi binomiale avec 2 choix : plante ou cloche vide. Nous avons comparé par la suite ces 2 modèles à des modèles nuls en utilisant la fonction « anova ». Les résultats montrent que ni la présence des intumescences ni le poids des plantes ont un effet significatif sur le choix des insectes ( $p=0.4521$ ,  $p= 0.2847$  respectivement). L'absence d'effets du poids de la plante renforce l'hypothèse que le choix de l'insecte repose majoritairement sur un aspect qualitatif, et non quantitatif, au sein des profils de COVs.

Le comportement des femelles de *T. absoluta* accouplées dans l'olfactomètre est différent d'une accession à une autre (Tableau 5). Le nombre des individus qui n'ont pas répondu (non choix), est de 85 par rapport à un total de 300, représentant ainsi 28% du nombre total des individus testés.

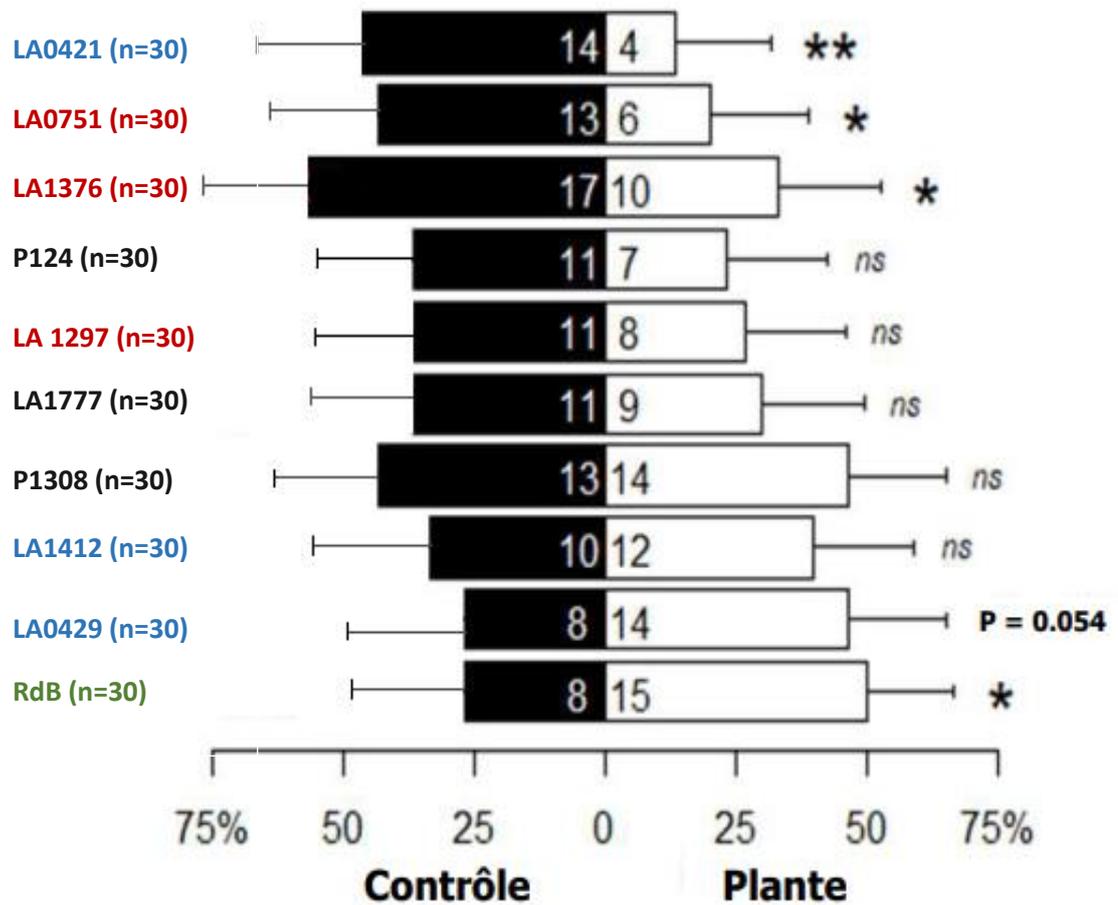
**Tableau 5.** Résultats du premier test de comportement de *Tuta absoluta*.

Espèce	Accession	Cloche vide	Non-choix	Plante	Total
<i>S. cheesmaniae</i>	LA0421	14	12	4	30
	LA0429	8	8	14	30
	LA1412	10	8	12	30
<i>S. pennellii</i>	LA0751	13	11	6	30
	LA1297	11	11	8	30
	LA1376	17	3	10	30
<i>S. habrochaites</i>	LA1777	11	10	9	30
	PI24	11	12	7	30
	PI308	13	3	14	30
<i>S. lycopersicum</i>	RdB	8	7	15	30
<b>Total</b>		116	85	99	300

Sur la base des résultats du premier test de comportement des femelles de *T. absoluta* vis-à-vis aux 4 espèces de tomate, le test khi carré ( $\chi^2$ ) de Pearson a révélé des différences hautement significatives (\*\*), significatives (\*) et non significatives (ns). Parmi les 10 accessions testées, nous déduisons que Rose de Berne (RdB) est attractive, ce qui confirme le résultat trouvé par Msisi et al., (2021). Toutefois, une tendance attractive ( $p=0.054$ ) a été considérée pour l'accession sauvage LA0429.

Par contre, les accessions LA0421, LA0751 et LA1376 sont significativement répulsives puisque le nombre d'individus qui ont choisi la cloche vide est significativement ( $p < 0,05$ ) supérieur au nombre d'individus qui ont choisi la plante.

Toutefois, les 5 accessions sauvages (P124, LA1297, LA1777, P1308, LA1412) ont montré un effet non significatif ( $p > 0,05$ ). Par conséquent, elles ne sont pas considérées comme attractives ou répulsives.



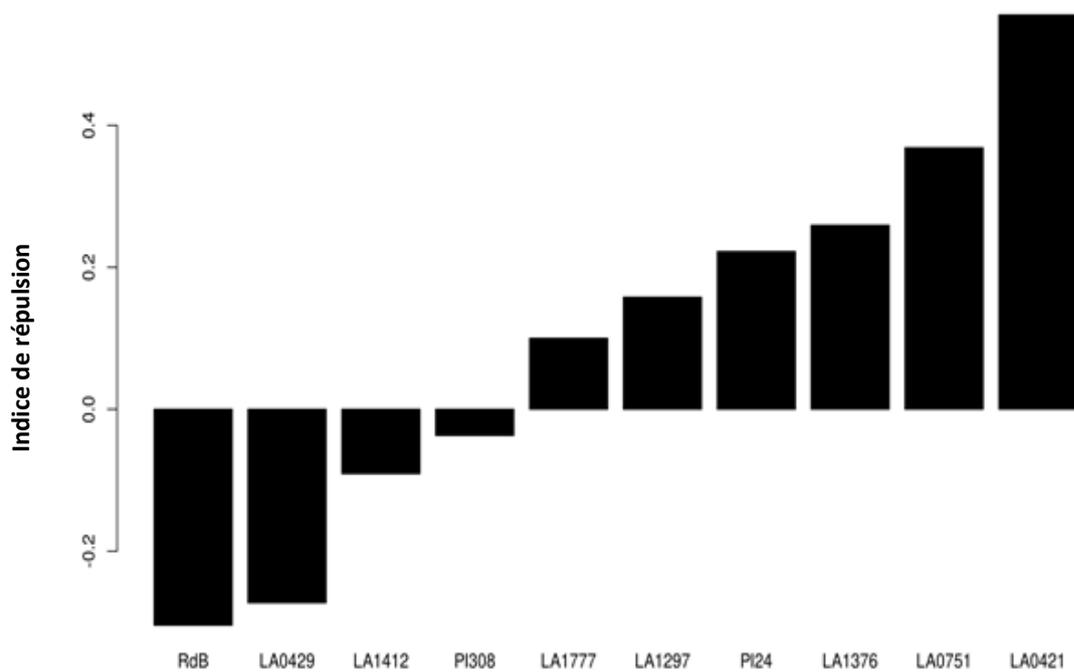
**Figure 23.** Réponse des femelles de *T. absoluta* (n=30) aux composés volatils émis par les 10 accessions de tomates en olfactomètre en Y.

ns non significatif, \* : différence significative ( $p < 0,05$ ); \*\* : différence hautement significative ( $p < 0,001$ ).

Nos travaux corroborent ceux trouvés par Proffit et al., (2011), qui ont signalé que, d'une manière générale, les plantes cultivées sont attractives par rapport aux espèces sauvages caractérisées par leur effet répulsif. Toutefois, une accession sauvage (LA0429) a tendance à être attractive.

Une différence de la réponse des femelles de *T. absoluta* entre les accessions de la même espèce a été observée. En effet, la plupart des recherches comparent la réponse des femelles de *T. absoluta* à plusieurs plantes hôtes (poivron, aubergine, pomme de terre) dont la tomate (Mandour et al., 2020; Msisi et al., 2021). Cependant, la comparaison entre les 10 accessions de tomate nous a permis de mettre en évidence une variabilité au sein d'une même espèce de tomate. En effet, les 2 accessions LA0421 et LA0429 de l'espèce *S. cheesmaniae* représentent un comportement différent.

Pour comparer d'une manière quantitative la capacité de répulsion des accessions, nous avons calculé l'indice de répulsion qui donne une idée sur la proportion des individus qui ont choisi le blanc (la cloche vide) par rapport à ceux qui ont choisi la plante. Cet indice varie entre -1 (100% des individus choisissent la plante) et 1 (100% des individus choisissent le blanc).



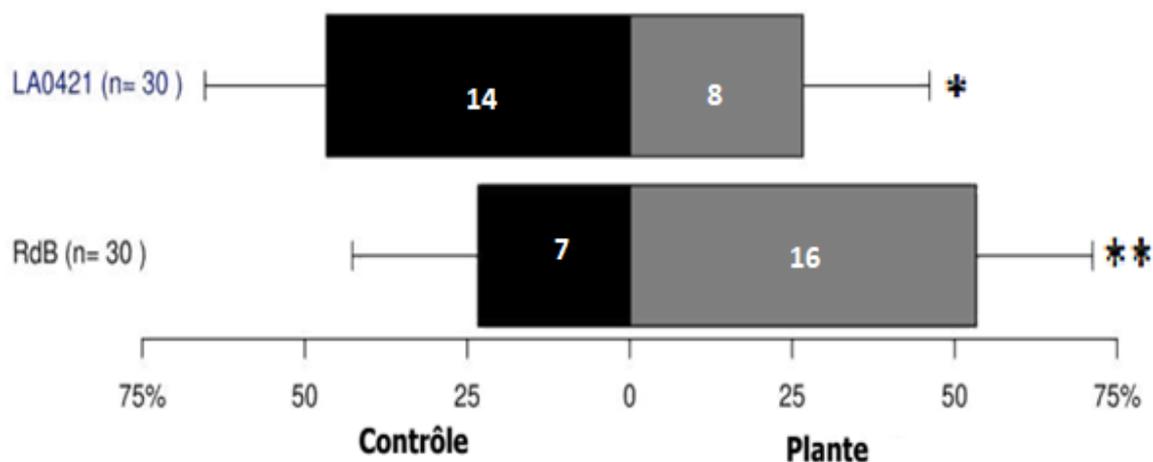
**Figure 24.** Indices de répulsion des 10 accessions.

L'indice de répulsion (Figure 24) est négatif pour les 4 accessions RdB, LA0429, LA1412, PI308 avec une valeur extrême (-0.304) pour RdB. Par contre, il est positif pour les autres accessions (LA1777, LA1297, PI24, LA1376, LA0751, LA0421) avec une valeur extrême

(0.555) pour LA0421. La distribution de cet indice est continue ce qui suggère que la répulsion est un trait continu reposant sur l'expression de QTL et non pas d'un seul gène.

Par la suite, nous avons montré grâce au test de corrélation de Kendall que la proportion d'individus qui n'ont pas répondu (non choix) est positivement corrélée avec l'indice de répulsion ( $\rho=0.488$ ,  $p= 0.028$ ). Nous pouvons conclure que plus l'indice de répulsion est important et que la plante est répulsive, plus le nombre d'individus non-répondant augmente. Ceci peut être expliqué par le fait que les plantes résistantes par antixénose émettent des COVs répulsives ou inhibiteurs.

Le même test de corrélation de Kendall a permis de mettre en évidence une corrélation positive mais non significative ( $r= 0.244$  ;  $p= 0.190$ ) entre le temps nécessaire pour faire un choix et l'indice de répulsion. Autrement dit, le choix de la femelle de *T. absoluta* entre la cloche vide et la plante n'est pas affecté par le temps.

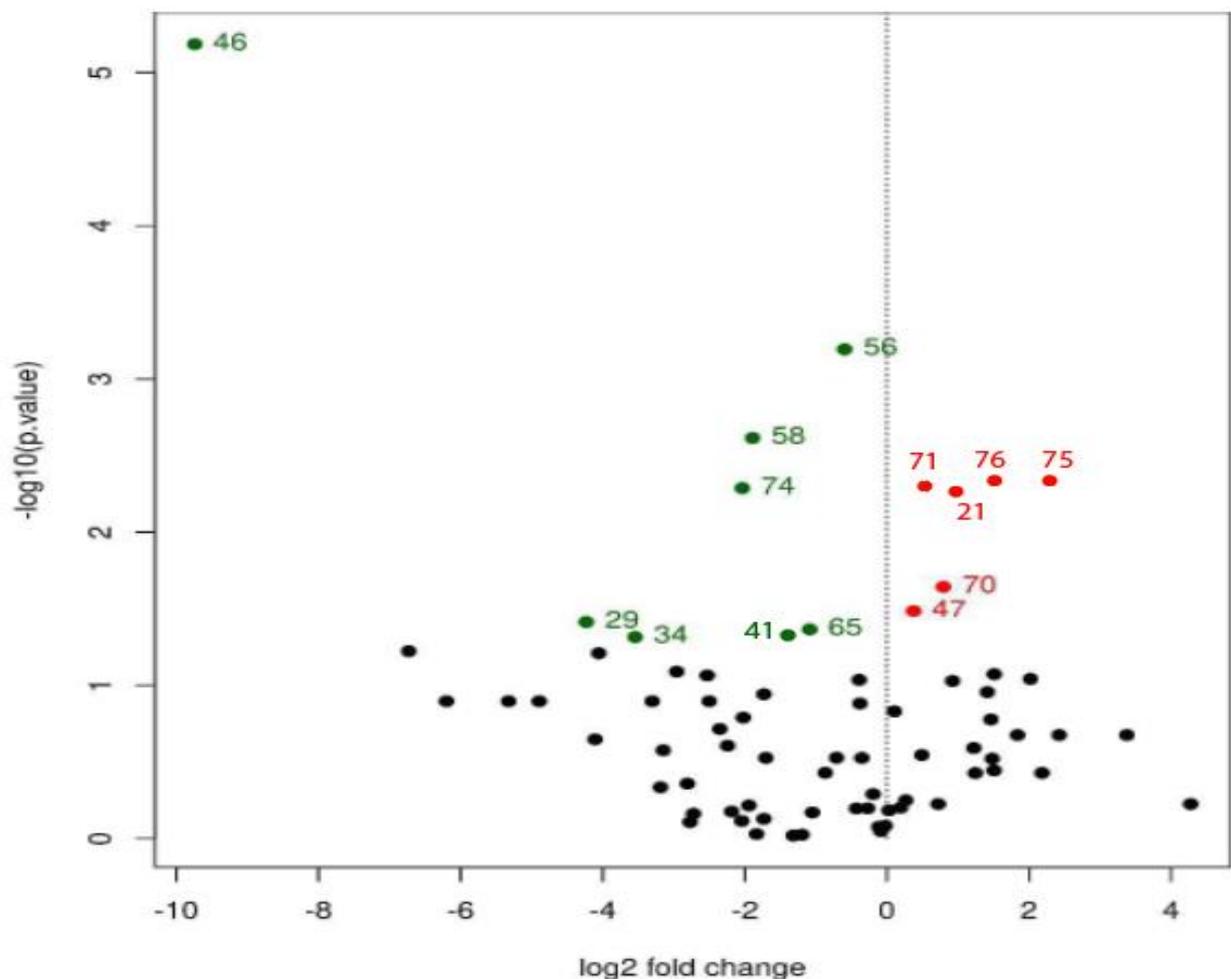


**Figure 25.** Réponse des femelles de *T. absoluta* (n=30) aux composés volatils émis par les 2 accessions de tomates (LA0421 et RdB) en olfactomètre en Y.

Afin de confirmer la réponse des femelles de *T. absoluta*, nous avons effectué un deuxième test de comportement sur les deux accessions ayant les indices de répulsion extrêmes (RdB et LA0421) en modifiant deux paramètres d'expérimentation. Nous avons utilisé 30 femelles accouplées, isolées et nourries pendant 24h et un débit d'air de 2000ml/min pour chaque accession. L'analyse statistique des résultats confirme que LA0421 est répulsive tandis que RdB est attractive (Figure 25).

### 3. Relation entre l'analyse des COVs et le comportement de *Tuta absoluta*

L'analyse des 266 échantillons des 30 accessions de tomate par GC-MS a permis de détecter 77 composés organiques volatils émis et de mettre en évidence la diversité des profils de COVs. D'autre part, l'étude comportementale des femelles de *T. absoluta* a permis de révéler 5 accessions classées en 2 catégories : RdB et LA0429 qui sont attractives et LA0421, LA0751 et LA1376 qui sont répulsives. A partir de ces données, nous avons essayé de trouver une relation entre les deux parties et d'identifier les COVs impliqués dans le mécanisme de résistance par antixénose des accessions de tomate. Pour cela, un diagramme en volcan a été réalisé (Figure 26).



**Figure 26.** Diagramme en volcan montrant les COVs potentiellement impliqués ( $p < 0.05$ ) dans le mécanisme de résistance (en rouge) et dans le mécanisme d'attraction (en vert) pour les 2 catégories de tomate.

COV 21 :  $\beta$ -myrcène; COV 29 : 2-phenylacetaldehyde; COV 34 : 1-Ethoxy-2-heptanone; COV 41 : 2-phenylethanol; COV 46 : 3,9-Epoxy-p\_menth-1-ene; COV 47 : Salicylate de méthyle; COV 56 :  $\delta$ -elemène; COV 58 :  $\alpha$ -copaène; COV 65 : Inconnu; COV 70 : 1-dodecanol; COV 71 :  $\alpha$ -curcumène; COV 74 : Cétone; COV 75 : 2-Tridecanol; COV 76 : TMTT;

A partir de la figure 26, nous pouvons constater que 6 COVS parmi les 77 détectés (Tableau 3) sont potentiellement impliqués dans le mécanisme de la résistance ( $p < 0.05$ ). Des recherches antérieures ont montré que le composé (3E,7E)-4,8,12-triméthyltridéca-1,3,7,11-tétraène (TMTT) (COV76), et le salicylate de méthyle (COV47), sont des composés impliqués dans la défense des plantes contre des insectes nuisibles (Oluwafemi et al., 2011), et ces recherches ont été confirmées par nos résultats. Nous avons montré aussi que la tomate émet d'autres composés volatils répulsifs qui sont le  $\beta$ -myrcène (COV 21) (un monoterpène) et le curcumène (le COV 71) (un sesquiterpène). En effet, une étude de Bleeker et al., (2011) a montré que le curcumène est impliqué dans des défenses contre les aleurodes. Pour les 2 alcools émis (le 2-Tridécanol (COV 75) et le 1-dodécanol (COV 70), qui sont potentiellement des oxylipines issus de la dégradation des acides gras membranaires, nos résultats corroborent ceux trouvés par (Santino et al., 2013) sur le rôle de cette classe de COVs dans la défense contre le stress biotique.

Pour les COVs attractifs, nous montrons que 8 COVs sont potentiellement impliqués dans le mécanisme d'attraction. Ces composés sont: le 3,9-Epoxy-p-menth-1-ène (COV 46), le 2-phénylacétaldéhyde (COV 29), le 1-Ethoxy-2-heptanone (COV 34), 2-phényléthanol (COV 41), le  $\delta$ - élémène (COV 56), le  $\alpha$ -copaène (COV 58), une cétone (COV 74) et le composé inconnu (COV 65). Bien que d'autres terpènes soient attractifs pour *T.absoluta* tel que le  $\beta$ -phellandrène, le limonène et le  $\beta$ -caryophyllène (Proffit et al., 2011), notre étude a permis d'identifier de nouveaux composés utilisés par les femelles pour localiser la plante hôte.

Le diagramme en volcan ne permet pas seulement de classer les COVs mais il permet aussi de déterminer la quantité émise par une catégorie de plantes par rapport à une autre. Par exemple, nous remarquons que le COV 75, qui est le 2-Tridécanol, est 4 fois plus exprimé chez les plantes répulsives que chez les plantes attractives. Par contre, le COV 46, qui est le 3,9-Epoxy-p-menth-1-ène (un monoterpène), est presque 724 fois plus exprimé chez les plantes attractives que chez les plantes répulsives.

Pour confirmer ces hypothèses sur le rôle de chacun de ces 14 COVs répulsifs et attractifs, il faudra étudier par olfactométrie la réponse des femelles de *T. absoluta* à ces composés volatils isolés ou en mélange.

## **Conclusion générale**

La mineuse de la tomate (*Tuta absoluta*) est considérée à l'heure actuelle comme étant le ravageur le plus dangereux des tomates et l'une des menaces majeures pour cette plante dans le monde. Le moyen de lutte le plus courant est l'usage des insecticides dont les effets néfastes sur la santé de l'être humain et sur son environnement sont malheureusement très nombreux (L'utilisation des pesticides en France, 2012). Au cours des dernières décennies, de nombreux essais et travaux de recherche ont été menés dans le but de réduire l'utilisation des insecticides tout en maintenant un rendement de production économiquement viable (L'utilisation des pesticides en France, 2012). Dans ce contexte, de nouvelles stratégies de protection des cultures basées sur l'utilisation combinée de leviers immunitaires destinés à moduler les mécanismes de défense des cultures ont été proposées. Le présent travail s'intéresse à une partie du levier de la résistance génétique qui consiste à déterminer la résistance par antixénose chez trente accessions de tomate et expliquer comment le volatilome influence le comportement de *T. absoluta*.

L'analyse des 266 échantillons des 30 accessions par GC-MS a permis d'identifier 76 constituants dont les classes chimiques majoritaires sont les oxylipines (37 composés), les monoterpénoïdes (15 composés), les benzénoïdes (11 composés) et les sesquiterpénoïdes (9 composés).

Des tests statistiques et une analyse de redondance ont montré que les 5 espèces de tomate émettent des profils de COVs significativement différents et que les 77 COVs détectés expliquent 47% de la variabilité entre accessions.

Les résultats du test de comportement ont montré que la réponse des femelles de *T. absoluta* accouplées dans l'olfactomètre est significativement différente pour 4 accessions ( $p < 0.05$ ). Parmi les 10 accessions testées, nous déduisons que Rose de Berne (RdB) est attractive, ce qui confirme le résultat trouvé par (Mlisi et al., 2021). De plus, LA0429 a tendance à être attractive puisque  $p$  est proche de 0.05. Par contre, les accessions LA0421, LA0751 et LA1376 sont répulsives. Ensuite, afin de comparer d'une manière quantitative la capacité de répulsion des accessions, un indice de répulsion a été calculé. A partir de la façon où cet indice est distribué, nous avons pu conclure que la répulsion est un trait continu reposant sur l'expression de QTL et non pas d'un seul gène. Suite à ces résultats, des recherches intéressantes peuvent être réalisées pour identifier l'ensemble des gènes impliqués dans le mécanisme de résistance et étudier les facteurs de régulations de ces QTL.

Pour confirmer la réponse des femelles de *Tuta absoluta*, un deuxième test de comportement a été effectué sur les deux accessions ayant les indices de répulsion extrêmes (RdB et LA0421) en modifiant deux paramètres d'expérimentation. Les résultats obtenus ont confirmé ce que nous avons trouvé pour le premier test.

Dans la dernière partie de ce projet, nous avons essayé de trouver une relation entre les deux parties et d'identifier les COVs impliqués dans le mécanisme de résistance par antixénose. Pour cela nous avons réalisé un diagramme en volcan qui rassemble tous les COVs émis par les 2 catégories de tomate : 1) les plantes attractives (RdB et LA0429) et 2) les plantes répulsives (LA0421, LA0751 et LA1376). Ce travail nous a permis d'identifier 6 COVs potentiellement impliqués dans le mécanisme de la résistance qui sont le (3E,7E)-4,8,12-triméthyltridéca-1,3,7,11-tétraène (TMTT), le salicylate de méthyle, le  $\beta$ -myrcène, le curcumène, le 2-Tridécanol et le 1-dodécanol et 8 COVs qui sont potentiellement impliqués dans le mécanisme d'attraction. Ces composés sont: le 3,9-Epoxy-p-menth-1-ène, le 2-phénylacétaldéhyde, le 1-Ethoxy-2-heptanone, 2-phényléthanol, le  $\delta$ - élémène, le  $\alpha$ -copaène, une cétone et le composé non connu.

En conclusion, suite aux différents travaux effectués, nous pouvons affirmer qu'il existe une diversité de COVs entre les espèces de tomate et même entre les accessions. De plus, cette diversité affecte le comportement des femelles de *T. absoluta* puisqu'il existe des COVs potentiellement impliqués dans le mécanisme de répulsion émis par LA0421, LA0751 et LA1376 et des COVs potentiellement impliqués dans le mécanisme de répulsion émis par LA0429 et RdB. Pour confirmer le rôle de ces COVs identifiés, il faudra étudier par olfactométrie la réponse des femelles de *T. absoluta* à ces composés volatils isolés ou en mélange.

En guise de perspectives, ce travail peut être poursuivi par:

- La détermination de la résistance par antibiose chez les 30 accessions de tomate.
- L'analyse des métabolites secondaires solubles des plantes testées et la recherche des corrélations entre les métabolites volatils et solubles.
- La détermination des régions du génome (QTLs) qui sont associées à la résistance vis-à-vis de *T. absoluta*.

## **Références bibliographiques**

Accueil / LAE. (s. d.). Consulté 31 août 2022, à l'adresse <http://lae.univ-lorraine.fr/fr>

Bawin, T., De Backer, L., Dujeu, D., Legrand, P., Megido, R. C., Francis, F., & Verheggen, F. J. (2014). Infestation level influences oviposition site selection in the tomato leafminer *Tuta absoluta* (Lepidoptera : Gelechiidae). *Insects*, 5(4), 877-884.

Benchaabane, S., Aribi, N., Kilani-Morakchi, S., & Chaabane, M. (2016). Delayed toxic effects of spinosad on G1 progeny of an invasive species, *Tuta absoluta* (Lepidoptera : Gelechiidae). *African Entomology*, 24(2), 412-420.

Bengtsson, M., Bäckman, A.-C., Liblikas, I., Ramirez, M. I., Borg-Karlson, A.-K., Ansebo, L., Anderson, P., Löfqvist, J., & Witzgall, P. (2001). Plant odor analysis of apple : Antennal response of codling moth females to apple volatiles during phenological development. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(8), 3736-3741.

Biasazin, T. D., Karlsson, M. F., Hillbur, Y., Seyoum, E., & Dekker, T. (2014). Identification of host blends that attract the African invasive fruit fly, *Bactrocera invadens*. *Journal of chemical ecology*, 40(9), 966-976.

Biondi, A., Desneux, N., Siscaro, G., & Zappalà, L. (2012). Using organic-certified rather than synthetic pesticides may not be safer for biological control agents : Selectivity and side effects of 14 pesticides on the predator *Orius laevigatus*. *Chemosphere*, 87(7), 803-812.

Biondi, A., Guedes, R. N. C., Wan, F.-H., & Desneux, N. (2018). Ecology, worldwide spread, and management of the invasive South American tomato pinworm, *Tuta absoluta* : Past, present, and future. *Annual review of entomology*, 63, 239-258.

Bleeker, P. M., Diergaarde, P. J., Ament, K., Schütz, S., Johne, B., Dijkink, J., Hiemstra, H., de Gelder, R., de Both, M. T., & Sabelis, M. W. (2011). Tomato-produced 7-epizingiberene and R-curcumene act as repellents to whiteflies. *Phytochemistry*, 72(1), 68-73.

Campos, E. I., Fillingham, J., Li, G., Zheng, H., Voigt, P., Kuo, W.-H. W., Seepany, H., Gao, Z., Day, L. A., & Greenblatt, J. F. (2010). The program for processing newly synthesized histones H3. 1 and H4. *Nature structural & molecular biology*, 17(11), 1343-1351.

Chen, Y. H., Gols, R., & Benrey, B. (2015). Crop domestication and its impact on naturally selected trophic interactions. *Annual Review of Entomology*, 60, 35-58.

Clavel, D., & Welcker, C. (1996). La résistance multiple du maïs aux chenilles foreuses et défoliatrices. *Cahiers Agricultures*, 5(3), 149-156 (1).

CSAN Niger. (2016). Biologie de *Tuta absoluta*. *CSAN Niger*. <https://www.csan-niger.com/biologie-de-tuta-absoluta.php>

Degenhardt, J., Köllner, T. G., & Gershenzon, J. (2009). Monoterpene and sesquiterpene synthases and the origin of terpene skeletal diversity in plants. *Phytochemistry*, 70(15-16), 1621-1637.

Desneux, N., Decourtye, A., & Delpuech, J.-M. (2007). The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annu. Rev. Entomol.*, 52, 81-106.

- Desneux, N., Han, P., Mansour, R., Arnó, J., Brévault, T., Campos, M. R., Chailleux, A., Guedes, R. N., Karimi, J., & Konan, K. A. J. (2021). Integrated pest management of *Tuta absoluta* : Practical implementations across different world regions. *Journal of Pest Science*, 1-23.
- Desneux, N., Wajnberg, E., Wyckhuys, K. A., Burgio, G., Arpaia, S., Narváez-Vasquez, C. A., González-Cabrera, J., Catalán Ruescas, D., Tabone, E., & Frandon, J. (2010). Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta* : Ecology, geographic expansion and prospects for biological control. *Journal of pest science*, 83(3), 197-215.
- Dicke, M., & Loreto, F. (2010). Induced plant volatiles : From genes to climate change. *Trends in plant science*, 15(3), 115-117.
- Dickinson, J. R., Harrison, S. J., Dickinson, J. A., & Hewlins, M. J. (2000). An investigation of the metabolism of isoleucine to active amyl alcohol in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Biological Chemistry*, 275(15), 10937-10942.
- Dudareva, N., Negre, F., Nagegowda, D. A., & Orlova, I. (2006). Plant volatiles : Recent advances and future perspectives. *Critical reviews in plant sciences*, 25(5), 417-440.
- Eck, J. V., Kirk, D. D., & Walmsley, A. M. (2006). Tomato (*Lycopersicum esculentum*). *Agrobacterium Protocols*, 459-474.
- Estay, P. (2000). Polilla del tomate *Tuta absoluta* (Meyrick). *Informativo La Platina*, 9, 1-4.
- FAOSTAT. (2020). <https://www.fao.org/faostat/fr/#data/QCL>
- Friedman, M. (2002). Tomato glycoalkaloids : Role in the plant and in the diet. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(21), 5751-5780.
- Gabarra, R., & Arnó, J. (2010). [Results of tomato leaf miner biological control experiments in greenhouse and open air crops in Catalonia [Spain]]. *Phytoma España (España)*.
- Germain, J.-F., Lacordaire, A.-I., Cocquemot, C., Ramel, J.-M., & Oudard, E. (2009). Un nouveau ravageur de la tomate en France : *Tuta absoluta*. *PHM Revue Horticole*, 512, 37.
- Gomide, E. V. A., Vilela, E. F., & Picanço, M. (2001). Comparação de Procedimentos de Amostragem de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera : Gelechiidae) em Tomateiro Estaqueado. *Neotropical Entomology*.
- Gonda, I., Bar, E., Portnoy, V., Lev, S., Burger, J., Schaffer, A. A., Tadmor, Y., Gepstein, S., Giovannoni, J. J., & Katzir, N. (2010). Branched-chain and aromatic amino acid catabolism into aroma volatiles in *Cucumis melo* L. fruit. *Journal of experimental botany*, 61(4), 1111-1123.
- Gontijo, P. C., Picanço, M. C., Pereira, E. J. G., Martins, J. C., Chediak, M., & Guedes, R. N. C. (2013). Spatial and temporal variation in the control failure likelihood of the tomato leaf miner, *Tuta absoluta*. *Annals of applied biology*, 162(1), 50-59.
- Gouvernement du Canada, A. canadienne d'inspection des aliments. (2012). *Tuta absoluta (Mineuse de la tomate)—Fiche de renseignements* [Fiche de renseignements, matériel de référence].

- Guedes, R. N. C., & Picanço, M. C. (2012). The tomato borer *Tuta absoluta* in South America : Pest status, management and insecticide resistance. *EPPO bulletin*, 42(2), 211-216.
- Guenaoui, Y. (2008). Nouveau ravageur de la tomate en Algérie : Première observation de *Tuta absoluta*, mineuse de la tomate invasive, dans la région de Mostaganem, au printemps 2008. *Phytoma-La défense des végétaux*, 617, 18-19.
- Haddi, K., Berger, M., Bielza, P., Cifuentes, D., Field, L. M., Gorman, K., Rapisarda, C., Williamson, M. S., & Bass, C. (2012). Identification of mutations associated with pyrethroid resistance in the voltage-gated sodium channel of the tomato leaf miner (*Tuta absoluta*). *Insect biochemistry and molecular biology*, 42(7), 506-513.
- Jansen, R. M. C., Miebach, M., Kleist, E., Van Henten, E. J., & Wildt, J. (2009). Release of lipoxygenase products and monoterpenes by tomato plants as an indicator of *Botrytis cinerea*-induced stress. *Plant biology*, 11(6), 859-868.
- Jones, J. B. (1999). *Tomato plant culture : In the field, greenhouse, and home garden*. CRC Press.
- Kaouthar, L. G., Manel, S., Mouna, M., & Ridha, B. (2010). Lutte intégrée contre la mineuse de la tomate, *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera : Gelechiidae) en Tunisie. *Entomologie Faunistique-Faunistic Entomology*.
- Kettle, A. J., & Andreae, M. O. (2000). Flux of dimethylsulfide from the oceans : A comparison of updated data sets and flux models. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 105(D22), 26793-26808.
- Knudsen, J. T., Eriksson, R., Gershenzon, J., & Ståhl, B. (2006). Diversity and distribution of floral scent. *The botanical review*, 72(1), 1-120.
- Krauss, S., Schnitzler, W. H., Grassmann, J., & Voitke, M. (2006). The influence of different electrical conductivity values in a simplified recirculating soilless system on inner and outer fruit quality characteristics of tomato. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(2), 441-448.
- Kuhl, C., Tautenhahn, R., Bottcher, C., Larson, T. R., & Neumann, S. (2012). CAMERA: an integrated strategy for compound spectra extraction and annotation of liquid chromatography/mass spectrometry data sets. *Analytical chemistry*, 84(1), 283-289.
- Laumonier, R. (1979). *Cultures légumières et maraîchères : Tome III*. Baillière et fils.
- Les Techniques d'Extraction | Superprof.* (s. d.). Superprof Ressources. Consulté 17 mai 2022, à l'adresse <https://www.superprof.fr/ressources/scolaire/physique-chimie/seconde/corps-naturels-aromes.html/>
- Li, J., Zhang, K., Meng, Y., Hu, J., Ding, M., Bian, J., Yan, M., Han, J., & Zhou, M. (2018). Jasmonic acid/ethylene signaling coordinates hydroxycinnamic acid amides biosynthesis through ORA 59 transcription factor. *The Plant Journal*, 95(3), 444-457.
- Lin, T., Zhu, G., Zhang, J., Xu, X., Yu, Q., Zheng, Z., Zhang, Z., Lun, Y., Li, S., & Wang, X. (2014). Genomic analyses provide insights into the history of tomato breeding. *Nature genetics*, 46(11), 1220-1226.

- Lombard, J., & Moreira, D. (2011). Origins and early evolution of the mevalonate pathway of isoprenoid biosynthesis in the three domains of life. *Molecular biology and evolution*, 28(1), 87-99.
- L'utilisation des pesticides en France : État des lieux et perspectives de réduction.* (2012). Ministère de l'Agriculture et de la Souveraineté alimentaire. <https://agriculture.gouv.fr/lutilisation-des-pesticides-en-france-etat-des-lieux-et-perspectives-de-reduction>
- Maffei, M. E. (2010). Sites of synthesis, biochemistry and functional role of plant volatiles. *South African Journal of Botany*, 76(4), 612-631.
- Mandour, N. S., Abdelhady, M. A., Sarhan, A. A., & Osman, M. A. M. (2020). Attraction Response of *Tuta absoluta* Females to Solanaceous Host in Y-Tube Olfactometer. *Journal of Applied Plant Protection*, 9(1), 59-66.
- Matsui, K., Sugimoto, K., Kakumyan, P., Khorobrykh, S. A., & Mano, J. (2009). Volatile oxylipins and related compounds formed under stress in plants. In *Lipidomics* (p. 17-28). Springer.
- McGarvey, D. J., & Croteau, R. (1995). Terpenoid metabolism. *The Plant Cell*, 7(7), 1015-1026. <https://doi.org/10.1105/tpc.7.7.1015>
- Ministère de la Santé et de la Prévention-France.* (2019). <https://solidarites-sante.gouv.fr/sante-et-environnement/risques-microbiologiques-physiques-et-chimiques/pesticides/article/pesticides-l-evolution-des-politiques-publiques-pour-protéger-les-populations>
- Msisi, D., Matojo, N. D., & Kimbokota, F. (2021). Attraction of female tomato leaf miner, *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera:Gelechiidae) to shared compounds from hosts. *Phytoparasitica*, 49(2), 153-162.
- Naika, S., & Joep van Lidt de. (2005). *La culture des tomates : Production, transformation et commercialisation* (2005<sup>e</sup> éd., Vol. 17).
- Naika, S., Lidth de Jeude, J. van, Goffau, M. de, Hilmi, M., & Dam, B. van. (2005). La culture de la tomate : Production, transformation et commercialisation. *Agrodok*.
- National Institute of Standards and Technology.* NIST. Consulté 24 juin 2022, à l'adresse <https://www.nist.gov/>
- Niinemets, Ü., García-Plazaola, J. I., & Tosens, T. (2012). Photosynthesis during leaf development and ageing. *Terrestrial photosynthesis in a changing environment. A molecular, physiological and ecological approach.* Cambridge University Press, Cambridge, 353-372.
- Oluwafemi, S., Bruce, T. J., Pickett, J. A., Ton, J., & Birkett, M. A. (2011). Behavioral responses of the leafhopper, *Cicadulina storeyi* China, a major vector of maize streak virus, to volatile cues from intact and leafhopper-damaged maize. *Journal of chemical ecology*, 37(1), 40-48.
- Óscar, Montón, H., Vanaclocha, P., Beitia, F., & Urbaneja, A. (2009). Predation by the mirids *Nesidiocoris tenuis* and *Macrolophus pygmaeus* on the tomato borer *Tuta absoluta*. *Predation by the mirids Nesidiocoris tenuis and Macrolophus pygmaeus on the tomato borer Tuta absoluta.*, 49, 209-214.
- Oztemiz, S. (2014). *Tuta absoluta* Povolny (Lepidoptera : Gelechiidae), the exotic pest in Turkey. *Romanian Journal of Biology*, 59(1), 47-58.

- Papet, Y., Brunet, B., & Mura, P. (2010). Headspace (HS) et micro-extraction en phase solide (SPME). Théorie et applications. *Annales de Toxicologie Analytique*, 22(2), 75-79.
- Peralta, I. E., Spooner, D. M., & Knapp, S. (2008). Taxonomy of wild tomatoes and their relatives (Solanum sect. Lycopersicoides, sect. Juglandifolia, sect. Lycopersicon; Solanaceae). *Systematic botany monographs*, 84.
- Perron. (1999). *Productions légumières* (Synthèse Agricole).
- Planetoscope—Statistiques : Production mondiale de tomates*. (s. d.). Consulté 7 mars 2022, à l'adresse <https://www.planetoscope.com/fruits-legumes/1266-production-mondiale-de-tomates.html>
- Polese, J.-M. (2007). *La culture des tomates*. Editions Artemis.
- Proffit, M., Birgersson, G., Bengtsson, M., Reis, R., Witzgall, P., & Lima, E. (2011). Attraction and oviposition of *Tuta absoluta* females in response to tomato leaf volatiles. *Journal of Chemical Ecology*, 37(6), 565-574.
- R Core Team. (2022). [Methodology Reference]. <https://www.eea.europa.eu/data-and-maps/indicators/oxygen-consuming-substances-in-rivers/r-development-core-team-2006>
- Rambla, J. L., Tikunov, Y. M., Monforte, A. J., Bovy, A. G., & Granell, A. (2014). The expanded tomato fruit volatile landscape. *Journal of Experimental Botany*, 65(16), 4613-4623. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru128>
- Reumann, S., Babujee, L., Ma, C., Wienkoop, S., Siemsen, T., Antonicelli, G. E., Rasche, N., Lüder, F., Weckwerth, W., & Jahn, O. (2007). Proteome analysis of Arabidopsis leaf peroxisomes reveals novel targeting peptides, metabolic pathways, and defense mechanisms. *The Plant Cell*, 19(10), 3170-3193.
- Rey, Carrière J., Ginez A., Giraud M., Goillon C., Goude M., Lambion J., Lefèvre A., Séguret J., Tabone E., Terrentroy A., & Trottin-Caudal Y. (2014). Stratégies de protection des cultures de tomates sous abri contre *Tuta Absoluta*. *Protection Biologique Intégrée, Agriculture Biologique.*, 16.
- Reyes, M., Rocha, K., Alarcón, L., Siegwart, M., & Sauphanor, B. (2012). Metabolic mechanisms involved in the resistance of field populations of *Tuta absoluta* (Meyrick)(Lepidoptera : Gelechiidae) to spinosad. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 102(1), 45-50.
- Roditakis, E., Vasakis, E., Garcia-Vidal, L., del Rosario Martinez-Aguirre, M., Rison, J. L., Haxaire-Lutun, M. O., Nauen, R., Tsagkarakou, A., & Bielza, P. (2018). A four-year survey on insecticide resistance and likelihood of chemical control failure for tomato leaf miner *Tuta absoluta* in the European/Asian region. *Journal of Pest Science*, 91(1), 421-435.
- Rothan, C., Diouf, I., & Causse, M. (2019). Trait discovery and editing in tomato. *The Plant Journal*, 97(1), 73-90.
- Saad, K. A., Roff, M., Hallett, R. H., & Idris, A. B. (2015). Aphid-induced defences in chilli affect preferences of the whitefly, *Bemisia tabaci* (Hemiptera : Aleyrodidae). *Scientific Reports*, 5(1), 1-9.
- Sannino, L., & Espinosa, B. (2010). *Tuta absoluta* Guida alla conoscenza e recenti acquisizioni per una corretta difesa. *L'Informatore Agrario*, 66(46), 1-113.

- Santino, A., Taurino, M., De Domenico, S., Bonsegna, S., Poltronieri, P., Pastor, V., & Flors, V. (2013). Jasmonate signaling in plant development and defense response to multiple (a) biotic stresses. *Plant cell reports*, 32(7), 1085-1098.
- Silva, D. B., Weldegergis, B. T., Van Loon, J. J., & Bueno, V. H. (2017). Qualitative and quantitative differences in herbivore-induced plant volatile blends from tomato plants infested by either *Tuta absoluta* or *Bemisia tabaci*. *Journal of chemical ecology*, 43(1), 53-65.
- Silva, Picanço, M. C., Bacci, L., Crespo, A. L. B., Rosado, J. F., & Guedes, R. N. C. (2011). Control failure likelihood and spatial dependence of insecticide resistance in the tomato pinworm, *Tuta absoluta*. *Pest management science*, 67(8), 913-920.
- Siqueira, H. Á. A., Guedes, R. N. C., & Picanço, M. C. (2000). Insecticide resistance in populations of *Tuta absoluta* (Lepidoptera : Gelechiidae). *Agricultural and Forest Entomology*, 2(2), 147-153.
- Smith, C. A., Want, E. J., O'Maille, G., Abagyan, R., & Siuzdak, G. (2006). XCMS: processing mass spectrometry data for metabolite profiling using nonlinear peak alignment, matching, and identification. *Analytical chemistry*, 78(3), 779-787.
- Stam, J. M., Kroes, A., Li, Y., Gols, R., van Loon, J. J., Poelman, E. H., & Dicke, M. (2014). Plant interactions with multiple insect herbivores : From community to genes. *Annual review of plant biology*, 65, 689-713.
- Tavaria, F. K., Dahl, S., Carballo, F. J., & Malcata, F. X. (2002). Amino acid catabolism and generation of volatiles by lactic acid bacteria. *Journal of dairy science*, 85(10), 2462-2470.
- Terrentroy. (2012). *La protection des tomates contre tuta absoluta*.
- Therezan, R., Kortbeek, R., Vendemiatti, E., Legarrea, S., de Alencar, S. M., Schuurink, R. C., Bleeker, P., & Peres, L. E. (2021). Introgression of the sesquiterpene biosynthesis from *Solanum habrochaites* to cultivated tomato offers insights into trichome morphology and arthropod resistance. *Planta*, 254(1), 1-16.
- Tohge, T., & Fernie, A. R. (2015). Metabolomics-inspired insight into developmental, environmental and genetic aspects of tomato fruit chemical composition and quality. *Plant and Cell Physiology*, 56(9), 1681-1696.
- Tropea Garzia, G., Siscaro, G., Biondi, A., & Zappalà, L. (2012). *Tuta absoluta*, a South American pest of tomato now in the EPPO region : Biology, distribution and damage. *EPPO Bulletin*, 42, 205-210.
- Trottin-Caudal, Y., Grassely, D., & Millot, P. (1995). *Maitrise de la protection sanitaire de tomates sous serre*. CTIFL.
- Tuta Absoluta* / *Biobest*. Consulté 11 avril 2022, à l'adresse <https://www.biobestgroup.com/fr/biobest/ravageurs-et-maladies/tuta-absoluta-4992/>
- Urbaneja, A., Montón, H., & Mollá, O. (2009). Suitability of the tomato borer *Tuta absoluta* as prey for *Macrolophus pygmaeus* and *Nesidiocoris tenuis*. *Journal of Applied Entomology*, 133(4), 292-296.
- Van Damme, V., Moekens, R., Berckmoes, E., Wittemans, L., De Vis, R., Beck, B., Nuyttens, D., Casteels, H., Tirry, L., & De Clercq, P. (2014). Control of the invasive leafminer *Tuta absoluta* by leaf

application of entomopathogenic nematodes. *Meeting of the IOBC-WPRS working group on 'Integrated Control in Protected Crops: Temperate Climate'*, 102, 219-219.

Van Eck, J. (2018). Genome editing and plant transformation of solanaceous food crops. *Current opinion in biotechnology*, 49, 35-41.

Vargas. (1970). Observation on the biology and natural enemies of the tomato moth, *Gnorimoschema absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera, Gelechiidae). *Idesia*.

Weisenburger, D. D. (1993). Human health effects of agrichemical use. *Human pathology*, 24(6), 571-576.

Zhu, G., Wang, S., Huang, Z., Zhang, S., Liao, Q., Zhang, C., Lin, T., Qin, M., Peng, M., & Yang, C. (2018). Rewiring of the fruit metabolome in tomato breeding. *Cell*, 172(1-2), 249-261. e12.

# Annexes

## Annexe 1. La liste des standards externes

<b>Solution 1</b>	(R)-(+)-Limonène	<b>Solution 8</b>	Huile de gingembre
	(+)-Carvone		
	Terpinolène	<b>Solution 9</b>	Cis-3-Hexenol (-)-Trans-3-Hexenol
	(-)-Bornyl-acétate		
	$\alpha$ -Phellandrène		
	Myrcène	<b>Solution 10</b>	Cis-2-Hexenol Trans-2-Hexenol
p-Cymène			
<b>Solution 2</b>	2-Undecanone	<b>Solution 11</b>	$\alpha$ -Pinène $\beta$ -Pinène
	2-Heptanol		
	2-(5H)-Furanone	<b>Solution 12</b>	2-Carène 3-Carène
	Ethyl_Salicylate		
	2-Heptanone		
	Salicylate de méthyle	<b>Solution 13</b>	Trans-Caryophèllene
2-PhenylEthanol (Benzeneethanol)			
<b>Solution 3</b>	Indole	<b>Solution 14</b>	Trans-2-Hexenal 6-Méthyl-5-heptenol 1-Hexanol 2,6-Dimethyl-2,4,6- octatriene cis-3-Hexenyl acétate
<b>Solution 4</b>	Piperitone		
<b>Solution 5</b>	$\beta$ - Elémène		
<b>Solution 6</b>	$\alpha$ -Terpinène		
<b>Solution 7</b>	$\gamma$ -Terpinène	<b>Solution 15</b>	Linalool Eucalyptol Farnesène Cis-Jasmone