



HAL
open science

Contribution des pratiques culturelles (irrigation et fertilisation azotée) à la gestion des populations de pucerons en verger fruitier

Aurélie Rousselin

► To cite this version:

Aurélie Rousselin. Contribution des pratiques culturelles (irrigation et fertilisation azotée) à la gestion des populations de pucerons en verger fruitier. Sciences du Vivant [q-bio]. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, 2016. Français. NNT: . tel-02801688

HAL Id: tel-02801688

<https://hal.inrae.fr/tel-02801688v1>

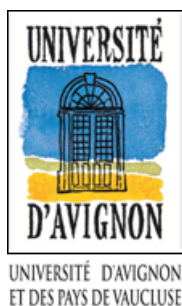
Submitted on 5 Jun 2020

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

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



Distributed under a Creative Commons Attribution - ShareAlike 4.0 International License



Région
PACA



INRA
SCIENCE & IMPACT

Thèse

Pour obtenir le grade de Docteur
Spécialité : Sciences Agronomiques

Préparée au sein de l'ED 536 Ecole Doctorale Agrosciences et Sciences
Et de l'Unité de recherche Plantes et Systèmes de Culture Horticoles UR1115, INRA
Avignon

Présentée par **Aurélie Rousselin**

Directrice de thèse : Françoise Lescourret

Encadrants : Daniele Bevacqua, Marie-Odile Jordan, Marie-Hélène Sauge

Contribution des pratiques culturales (irrigation et fertilisation azotée) à la gestion des populations de pucerons en verger fruitier

Cas des systèmes pêcher-puceron vert du pêcher (*Prunus persica-Myzus persicae*) et pommier-puceron cendré (*Malus domestica-Dysaphis plantaginea*).

Thèse soutenue le 21 décembre 2016 devant le jury composé de :

Pierre-Eric LAURI, UMR System, INRA Montpellier

rapporteur

Yvan RAHBE, UMR BF2i, INRA-Insa Lyon

rapporteur

Huguette SALLANON, Physiol. fruits et lég., Univ. Avignon

examinatrice

Aurélien SALLE, LBLGC, Orléans

examinateur

Isabelle GRECHI, UPR HortSys, CIRAD Montpellier

invitée

Marie-Odile JORDAN, Unité PSH, INRA Avignon

encadrante de thèse

Françoise LESCOURRET, Unité PSH, INRA Avignon

directrice de thèse

RESUME

Les pucerons sont des ravageurs importants des principales espèces fruitières en France, pêcher et pommier notamment. Dans le but de réduire l'usage des produits phytosanitaires, différentes alternatives sont envisagées pour contrôler les pucerons en verger. Nous avons commencé ce travail de thèse par une synthèse des différentes méthodes alternatives de contrôle envisageables et leur positionnement au cours des différentes étapes du cycle biologique du puceron. Puis nous avons étudié les effets de la modulation des caractéristiques de la plante hôte, via les pratiques culturales, sur l'abondance des pucerons. Notre étude se base sur l'hypothèse « Plant Vigor » qui énonce que les insectes phytophages sont plus performants sur les plantes ou les organes de forte vigueur. Par conséquent, sur nos deux dispositifs expérimentaux factoriels nous avons combiné des suivis dynamiques de croissance végétative et d'abondance de pucerons : *Prunus persica* - *Myzus persicae* (2 niveaux d'irrigation × 2 niveaux d'apport azoté) et *Malus domestica* - *Dysaphis plantaginea* (2 niveaux d'irrigation × 2 génotypes d'arbre). Les facteurs ont été choisis pour leur impact potentiel sur la croissance végétative et la qualité nutritionnelle de la plante hôte. Les expérimentations ont été menées sur de jeunes arbres en pot, ne portant pas de fruit. Au niveau du rameau, l'abondance des pucerons est positivement corrélée à la croissance végétative sur les deux systèmes étudiés. Sur pêcher, la relation disponibilité en azote et abondance de pucerons semble être médiée par le fort impact de l'azote sur la croissance végétative. L'effet négatif de la restriction hydrique sur l'abondance de pucerons ne semble pas lié à un impact sur la croissance végétative. Aussi sur le second système étudié : pommier-puceron cendré, nous avons choisi de faire varier les apports en eau et de travailler sur deux génotypes, pour tester la généricité de la réponse observée. A l'échelle du rameau, l'effet de la restriction hydrique sur l'abondance de pucerons est négatif pour un génotype et positif pour l'autre. Par contre à l'échelle de l'arbre, sur les deux génotypes l'abondance de pucerons est corrélée positivement à la croissance végétative et la restriction hydrique impacte négativement l'abondance de pucerons, ce qui suggère que la performance des pucerons est limitée sur les arbres en restriction hydrique par une autre composante que la vigueur de l'arbre. Ce travail de thèse montre que la restriction hydrique et le contrôle de la vigueur via les apports azotés peuvent s'avérer être des leviers pour le contrôle des pucerons en verger fruitier. Cependant les relations mises en évidence sont dépendantes du génotype, ainsi que de l'échelle d'analyse. Il reste à évaluer l'applicabilité de telles mesures sur des arbres en conditions de production, en prenant en compte notamment l'effet des restrictions hydrique et azotée sur la production fruitière.

Mots-clés : *Myzus persicae*, *Dysaphis plantaginea*, *Prunus persica*, *Malus domestica*, pratique culturale, fertilisation azotée, restriction hydrique, génotype, croissance végétative, Plant Vigor Hypothesis.

ABSTRACT

Aphids are major pests of important fruit trees in France, especially peach and apple trees. In order to reduce chemical use, various alternatives can be implemented for the management of aphids in orchards. This thesis starts by a review of the different alternative management methods and their positioning at different aphid life cycle stages. Then our work focuses on the study of the effects of modulation of host plant characteristics, through cultural practices, on aphid abundance. Our study is based on the Plant Vigor Hypothesis which states that phytophagous insects are more performant on vigorous plant or organ. Thus, in the experimental part we combined dynamic assessment of vegetative growth and aphid abundance during two factorial experiments: *Prunus persica* – *Myzus persicae* (2 levels of water supply × 2 levels of nitrogen supply) and *Malus domestica* – *Dysaphis plantaginea* (2 levels of water supply × 2 tree genotypes). We chose those factors for their possible impact on vegetative growth and nutritional quality of the host plant. We conducted the experiments on young non-bearing potted trees. At shoot scale, aphid abundance is positively correlated to vegetative growth for both studied systems. On peach tree, the positive impact of nitrogen availability on aphid abundance seems to be mediated by the strong positive impact of nitrogen on vegetative growth. The negative effect of water restriction on aphid abundance seems to be unrelated to an impact of water availability on vegetative growth. Thus on the second studied system: apple tree – rosy apple aphid, we chose to vary water supply and to work on two genotypes to test the genericity of the observed pattern. At shoot scale, water restriction has a positive effect on aphid abundance on one tree genotype and a negative effect on the other one, whereas at tree scale for both tree genotypes aphid abundance is positively correlated to vegetative growth and water restriction negatively impacts aphid abundance. These results suggest that aphid performance on water restricted trees is limited by another host plant characteristics than vegetative growth. This thesis shows that water restriction and vigour management through nitrogen fertilization can be implemented to manage aphids in fruit orchards. However, the patterns evidenced are dependent on tree genotype and on the scale of analysis. The applicability of these alternative methods remains to be assessed in producing orchards, taking into account the effects of water and nitrogen restrictions on fruit production.

Key-words: *Myzus persicae*, *Dysaphis plantaginea*, *Prunus persica*, *Malus domestica*, cultural practice, nitrogen fertilization, water restriction, genotype, vegetative growth, Plant Vigor Hypothesis.

REMERCIEMENTS

Je souhaite tout d'abord remercier mes encadrants de thèse de m'avoir guidée pour la réalisation de ce projet : Daniele Bevacqua, Marie-Odile Jordan, Françoise Lescourret, Gilles Vercambre, avec une pensée toute particulière pour Marie-Hélène Sauge.

Je tiens tout particulièrement à remercier les stagiaires et CDD qui m'ont aidée dans la réalisation des expérimentations : Harme Ahmed, Clément Pinoit et Clémentine Reboul, et plus particulièrement mon équipe de choc de 2015 pour leur bonne humeur et leur énergie à toute épreuve : Ahlem Sghaier, Noémie Carles et Solène Masson.

Je tiens à remercier les techniciens qui m'ont aidée dans la mise en place des expérimentations. Merci à Jean-Philippe Lacroze de m'avoir initiée à l'art délicat de l'élevage des pucerons. Merci à Pierre Rouet, José Fabre, François Debruyne, Guillaume Garcia pour leur aide, notamment pour le changement de la porte du tunnel. Merci à Frédéric Bouvery pour la mise en place du système d'irrigation et à Valérie Serra pour son aide et ses conseils pour dompter nos capricieux appareils de mesure. Merci à Michel Pradier de m'avoir accompagnée dans la réalisation de mes premiers traitements phytosanitaires.

Je remercie chaleureusement les membres de mon comité de pilotage d'avoir accepté d'évaluer l'avancement de mon travail : Hendrik Davi, Pascale Maillard et tout particulièrement Karsten Mody qui a accepté de participer à l'écriture de mon article de synthèse.

Je remercie les membres de mon jury d'avoir accepté d'évaluer ce travail : Aurélien Sallé, Isabelle Grechi, Huguette Sallanon et plus particulièrement Yvan Rahbé et Pierre-Eric Lauri.

Merci à Sophie Coulaud de m'avoir accueillie dans sa classe de CM2 pour la mise en place d'un atelier d'initiation à la démarche scientifique, ça a été une bien belle expérience.

Je remercie mes collègues doctorants d'avoir partagé avec moi leurs expériences : Refka Ben Issa, Constance Demestihis, Jeff Alignan. Et parce que la liste serait trop longue un immense merci à mes amis de l'INH, de l'impro, de rando et du ciné-club et à ma famille d'être à mes côtés et de me soutenir.

TABLE DES MATIÈRES

Résumé	iii
Abstract	iv
Remerciements	v
Table des matières	vi
Liste des figures	viii
Liste des Tables	xiii
Introduction générale.....	1
Chapitre 1 : Contexte et objectifs généraux	2
Chapitre 2 : Techniques alternatives de gestion des pucerons en vergers de pommiers et pêchers, focus sur la régulation par la plante	9
2.1. Alternatives to insecticides for aphid management in apple and peach orchards considering aphid life cycle characteristics.....	9
2.2. Précisions sur les hypothèses écologiques décrivant les processus de régulations des phytophages par les plantes.....	25
Chapitre 3 : Démarche générale	30
3.1. Limites des études portant sur les effets de l'irrigation et de la fertilisation azotée sur la performance des pucerons	30
3.2. Implications pour la démarche générale.....	36
3.3. Connaissances sur les processus bottom-up de nos deux systèmes d'étude .	37
Démarche et résultats expérimentaux	41
Chapitre 4 : Démarche expérimentale	42
4.1. Dispositif de caractérisation simultanée de l'abondance de pucerons et de la croissance végétative d'arbres fruitiers	42
4.2. Informations complémentaires sur les deux expérimentations	49

Chapitre 5 : Nitrogen and water supplies affect peach tree–green peach aphid interactions: the key role played by vegetative growth.....	52
5.1. Abstract	53
Keywords	53
5.2. Introduction	54
5.3. Materials and methods	56
5.4. Results	59
5.5. Discussion.....	62
5.6. Acknowledgements	67
5.7. Supporting information.....	68
Chapitre 6 : Rosy apple aphid abundance is shaped by apple tree vegetative growth and water supply.....	69
6.1. Abstract	70
6.2. Introduction	70
6.3. Material and methods	72
6.4. Results	75
6.5. Discussion	84
6.6. Acknowledgements:	87
6.7. Declaration of authorship:.....	87
6.8. Conflict of interest:.....	87
Discussion	88
Chapitre 7 : Discussion générale	89
7.1. Principaux acquis du travail de thèse	89
7.2. Limites de l’approche expérimentale	94
7.3. Perspectives et questions ouvertes par le travail de thèse	97
Références bibliographiques	102
ANNEXES	119

LISTE DES FIGURES

Figure 1-1: Photographies d'un verger de pommier dans le Sud-Est de la France.....	2
Figure 1-2: Photographies d'un verger de pêcher dans le Sud-Est de la France	3
Figure 1-3. Poids des différentes espèces fruitières en volumes de production en 2014 en France, source : (France Agrimer 2016).....	4
Figure 1-4 Schéma du système arbre-pucerons présentant les différentes interactions prises en compte au cours des chapitres de la thèse. Les populations de pucerons peuvent être régulées par les niveaux trophiques supérieurs : prédateurs et parasitoïdes, on parle alors de régulation top-down. La plante hôte en tant que ressource pour les populations de pucerons peut également contraindre leur performance, on parle alors de régulation bottom-up.	8
Figure 2-1: Left photograph: Aphid colony on apple tree. Right photograph: ladybeetle larva and pupa on apple tree.....	11
Figure 2-2: Three variants of aphid life cycle with a woody host. In spring, aphids of all variants undergo asexual reproduction (parthenogenesis) on their woody host. In summer, monoecious species stay on the woody host while dioecious species fly to their secondary host, generally an herbaceous plant. In autumn, dioecious species fly back to their woody host. Holocyclic species undergo sexual reproduction and oviparae lay overwintering eggs whereas anholocyclic species overwinter as wingless females.....	14
Figure 2-3: Possible methods to control aphid populations in apple and peach orchards by mobilizing bottom-up and top-down processes	16
Figure 2-4 Positionnement du maximum de performance des insectes phytophages sur une échelle d'intensité de stress abiotique subi par la plante hôte selon les différentes théories écologiques.....	26
Figure 3-1: Variables du fonctionnement de la plante impactant la performance des pucerons, et modulation possible de ces variables par les pratiques culturales	31
Figure 3-2: Photographies de <i>Myzus persicae</i> sur <i>Prunus persica</i> (A) Femelle parthénogénétique et larves (B) Enroulement de feuille avec colonie de pucerons (C) Pucerons ailés (D) Apex avec colonie de pucerons et nombre important d'exuvies.....	38
Figure 3-3: Photographies de <i>Dysaphis plantaginea</i> sur <i>Malus domestica</i> (A) Pucerons sur un apex de pommier (B) Colonie de pucerons dans une feuille enroulée, mêlant individus aptères et ailés, présence de miellat (C) Pucerons aptères et ailés (D) Enroulement de feuille caractéristique.....	39
Figure 4-1 Dispositif de pommiers en pots sous tunnel insect-proof.....	42

Figure 4-2: Araignée consommant un puceron <i>Myzus persicae</i>	43
Figure 4-3: Corrélation entre les températures maximales journalières extérieures et sous le tunnel insect proof sur la période du 04/05/15 au 07/07/15	43
Figure 4-4: Schéma explicatif de la méthodologie de description de l'architecture des arbres	45
Figure 4-5: Différents types de structures. a) ébauche ; b) rosette ; c) axe	45
Figure 4-6: Utilisation de bagues de couleur, positionnées toutes les cinq feuilles pour faciliter les notations de croissance végétative	46
Figure 4-7: Dynamiques d'abondance puceron et de croissance végétative (moyenne \pm erreur standard) des axes suivis en fonction des différentes modalités hydrominérales: N ⁺ /N ⁻ niveau d'apport azoté, H ⁺ /H ⁻ niveau d'apport hydrique.....	48
Figure 4-8: Dynamique de croissance végétative (moyenne \pm erreur standard) en nombre de feuilles de l'axe principal et nombre de ramifications secondaires selon la classe d'abondance de pucerons au moment du pic d'infestation (faiblement infesté < 125 pucerons, fortement > 125 pucerons).	48
Figure 4-9 Répartition en pourcentage des différents types de structures axillaires sur les proleptiques classés selon le niveau d'infestation au moment du pic d'abondance	49
Figure 4-10: Expérimentation 2013 pêcher- <i>Myzus persicae</i> . Les deux facteurs testés sont les apports hydriques et azotés. Les rameaux entourés en orange sur le schéma correspondent aux deux rameaux infestés et suivis par arbre.	50
Figure 4-11: Expérimentation 2015 pommier- <i>Dysaphis plantaginea</i> . Le rameau entouré en orange représente le rameau apical infesté. Dans cette étude on teste l'effet de l'irrigation et du génotype de l'arbre sur les interactions arbres-pucerons. Les deux génotypes testés sont V26 (DAG) et V96 (GCG).....	51
Figure 5-1 Leaf nitrogen concentration (mean \pm SD) for different nitrogen (N) and water (H) supplies at three sampling dates. Results of a Kruskal–Wallis test on the four treatment combinations. (A) Five days after infestation (DAI): $H_{kw} = 23.43$, d.f. = 3, $P < 0.001$. (B) 34 DAI: $H_{kw} = 34.26$, d.f. = 3, $P < 0.001$. (C) 68 DAI: $H_{kw} = 33.69$, d.f. = 3, $P < 0.001$. The different lowercase letters indicate significant differences (nonparametric Turkey multiple comparisons) between treatments for each sampling date.....	59
Figure 5-2 Midday leaf water potential in absolute value (mean \pm SD) for different nitrogen (N) and water (H) supplies at seven sampling dates (expressed in days after infestation: DAI). Details of the results of the analysis of variance: (A) N: $F_{1,14} = 0.14$, $P = 0.71$; H: $F_{1,14} = 2.03$, $P = 0.18$; N \times H: $F_{1,14} = 0.00$, $P = 0.97$; (B) N: $F_{1,13} = 0.02$, $P = 0.90$; H: $F_{1,13} = 17.34$, $P = 0.001$; N \times H: $F_{1,13} = 1.04$, $P = 0.33$; (C) N: $F_{1,13} = 1.09$, $P = 0.32$; H: $F_{1,13} = 9.82$, $P = 0.008$; N \times H: $F_{1,13} = 1.48$, $P = 0.25$; (D) N: $F_{1,13} = 2.04$, $P = 0.18$; H: $F_{1,13} = 4.97$, $P = 0.04$; N \times H:	

$F_{1,13} = 0.18, P = 0.68$; (E) N: $F_{1,13} = 4.33, P = 0.06$; H: $F_{1,13} = 0.61, P = 0.45$; N \times H: $F_{1,13} = 0.00, P = 0.99$; (F) N: $F_{1,13} = 3.67, P = 0.08$; H: $F_{1,13} = 4.40, P = 0.06$; N \times H: $F_{1,13} = 3.85, P = 0.07$; (G) N: $F_{1,13} = 3.00, P = 0.11$; H: $F_{1,13} = 2.56, P = 0.13$; N \times H: $F_{1,13} = 0.22, P = 0.65$... 61

Figure 5-3 Time-course of peach tree *Prunus persica* leaves number and green peach aphid *Myzus persicae* abundance on a growing leafy shoot (2 May 2013 to 2 July 2013), for different nitrogen (N) and water (H) treatments. (A) DVG, daily vegetative growth. (B) CVG, cumulative vegetative growth. (C) IAA, instant aphid abundance. (D) CAA, cumulative aphid abundance. For details, see Materials and methods. Values are averaged over plants subjected to the same treatment; bars represent the SD. The data points are slightly shifted from their *x*-coordinates, corresponding to the numbered labels, with the aim of achieving a better visualization of the data..... 63

Figure 5-4 Relationship between cumulative aphid abundance (CAA) and cumulative vegetative growth (CVG) at the end of the experiment. Each point represents the value of an average growing leafy shoot of a given plant. The regression lines result from the selected best model (based on second-order Akaike information criterion) including CVG, H and (CVG \times H) as explanatory variables and factors..... 65

Figure 6-1: Absolute values of midday leaf water potential of subsampled apple trees (sample size indicated within the figure for each date), belonging to four different treatments, combining two levels of water supply (H⁺ and H⁻) and two tree genotypes (DAG, drought avoidance genotype and GCG, growth cessation genotype). Each panel corresponds to a date expressed in days after infestation (DAI). Different letters indicate significant differences between treatment combinations assessed through Kruskal-Wallis test, followed by non-parametric Tukey multiple comparisons. Analyses were performed day by day. 76

Figure 6-2: Characterization of leaf functioning of 17 subsampled apple trees on 30 DAI (days after infestation) according to the different treatments, combining two tree genotypes: GCG growth cessation genotype and DAG drought avoidance genotype and two levels of water supply: H⁺ and H⁻. (a) Leaf stomatal conductance, (b) Leaf transpiration rate, (c) Leaf photosynthetic rate, (d) Leaf temperature. Different letters indicate significant differences between treatment combinations assessed through Kruskal-Wallis test, followed by non-parametric Tukey multiple comparisons. 77

Figure 6-3: Vegetative growth dynamics at both shoot (a) and tree (b) scales as an increase of leaves number from 2 to 64 days after infestation (DAI). Each point represents the mean value for a treatment combination: water supply (H⁺ and H⁻) and tree genotype (DAG, drought avoidance genotype and GCG, growth cessation genotype). Bars stand for standard deviation. 78

Figure 6-4: Relationship between the number of shoots per tree (NbS) and final vegetative growth variables in increase in number of leaves at tree (FTVG) and shoot (FSVG) scales (see material and methods for details). (a) FTVG as a function of FSVG, the regression lines result from the selected best model (based on AICc) including FSVG, H (water treatment), V (tree genotype) and the interaction $FSVG \times V$ ($R^2_{adj}=0.74$). (b) FTVG as a function of NbS: the regression lines result from the selected best model including NbS, H, V and the interaction $NbS \times V$ ($R^2_{adj}=0.68$). (c) FSVG as a function of NbS: the regression lines result from the selected best model including H and V ($R^2_{adj}=0.34$). 79

Figure 6-5: Number of proleptic structures and relative importance of the two types of proleptic structures, shoots and rosettes (a) Number of proleptic structures per tree (mean \pm SD). Different letters indicate significant differences based on Kruskal-Wallis test, followed by non parametric Tukey multiple comparison. (b) Percentage of total tree leaves inserted on shoots on 64 DAI as a function of final tree vegetative growth (FTVG) expressed as the increase in number of expanded leaves between 2 and 64 DAI, the regression lines result from the selected best model (based on AICc) including FTVG, water treatment H and tree genotype V ($R^2_{adj}=0.41$). 80

Figure 6-6: (a) Temperatures under the insect-proof tunnel: maximum (Tmax), average (Tmean) and minimum (Tmin) daily temperatures. Aphid abundance temporal dynamics (mean \pm standard deviation) for each treatment combination at (b) the shoot scale and (c) the tree scale for the different dates (in days after infestation: DAI). 81

Figure 6-7 : Relationship between final shoot vegetative growth FSVG and shoot aphid index. Each point represents the value of the apical shoot of a tree. The regression lines result from the selected best model (based on AICc) including FSVG, water treatment H, tree genotype V and the interaction term ($H \times V$) as explanatory variables and factors ($R^2_{adj}=0.52$) 82

Figure 6-8: Relationship between tree aphid index and final tree vegetative growth FTVG. Each point represents the value of a single tree. The regression lines result from the selected best model (based on AICc) including FTVG, water treatment H and the interaction term $FTVG \times H$, as explanatory variable and factor ($R^2_{adj}=0.42$). 83

Figure 7-1: Données météorologiques pour la station d'Avignon pour les deux années d'expérimentation : 2013 (expérimentation pêcher) et 2015 (expérimentation pommier) (a) température moyenne, (b) ETP (évapotranspiration) Penmann (données issues de Database Climatik, US 1116 Agroclim, INRA) 90

Figure 7-2: Photographies de pommiers GCG et DAG le 26 avril 2015, soit deux jours avant l'infestation : forte hétérogénéité de développement 93

Figure 7-3: Croissance de rameau d'un an de pêcher en fonction de l'intensité de taille d'hiver: LP Low Pruning intensity, MP Moderate Pruning intensity, HP High Pruning intensity. (A) 2005 sans puceron, (B) 2006 sans puceron ; (C) 2005 avec pucerons ; (D) 2006 avec pucerons (Figure extraite de (Grechi et al. 2008))	94
Figure 7-4: Système étudié dans le cadre de cette thèse	96
Figure 7-5: Photographies de plants de pommier lors de l'expérimentation de 2015 (19/06/15) (A) Apex en arrêt de croissance (B) Apex en arrêt de croissance avec d'importants dégâts liés aux pucerons (C) Apex en reprise de croissance avec d'importants dégâts liés aux pucerons	98
Figure 7-6: Relation entre la croissance végétative (en nombre de feuilles) après le pic d'infestation jusqu'au 10 septembre en relation avec l'abondance de pucerons (données de l'expérimentation pommier 2015)	99

LISTE DES TABLES

Table 2-1: Life cycle characteristics and host use of the main aphid species of apple and peach trees in European orchards. Life cycle: A: anholocyclic, H: holocyclic. Host: D: dioecious, M: monoecious.....	13
Table 3-1: Liste non exhaustive d'études sur de l'effet de restrictions hydrique et azotée sur la performance d'insectes phytophages pour différents systèmes plante-puceron (E : expérimentation, O : observation, P : population, I : individuel).....	33
Table 4-1: Classes d'abondance de pucerons par axe	47
Table 4-2: Effectif en nombre d'arbres de l'expérimentation 2013 pêcher- <i>Myzus persicae</i>	50
Table 4-3: Effectif en nombre d'arbres de l'expérimentation 2015 pommier- <i>Dysaphis plantaginea</i>	51
Table 5-1 Summary of nested models fitting to experimental data. <i>CAA</i> is the cumulative aphid abundance at the end of the experiment ($t = 61$ days after infestation), <i>CVG</i> is the cumulative vegetative growth at the end of the experiment, it is a continuous variable, both <i>H</i> and <i>N</i> are factors, standing for water and nitrogen availabilities respectively. The models are numbered according to their complexity (from the complete to the simplest one).....	68

INTRODUCTION GENERALE



Chapitre 1 : Contexte et objectifs généraux



Figure 1-1: Photographies d'un verger de pommier dans le Sud-Est de la France

Les systèmes de production agricole sont dépendants des intrants pour assurer la production tant en termes de rendement que de qualité du produit agricole. Les intrants sont de nature diverse. En effet ce terme regroupe l'eau d'irrigation, les fertilisants et les produits phytosanitaires.

Différentes menaces remettent en cause l'utilisation massive d'intrants en agriculture.

La disponibilité de la ressource en eau risque de diminuer en conséquence du changement climatique, dans certaines régions, notamment dans le sud, le centre et l'est de l'Europe, ainsi que dans la région méditerranéenne, avec une augmentation de la fréquence et de la durée des sécheresses (Falloon and Betts 2010), notamment au printemps et en début d'été (Olesen et al. 2011). De plus, la disponibilité en eau pour l'irrigation risque d'être d'autant plus réduite que la compétition avec les usages domestiques et industriels risque d'être exacerbée (Falloon and Betts 2010). Il semble donc capital de raisonner au plus juste les quantités d'eau apportées (Feres et al. 2005). Une autre piste est la sélection variétale pour créer des plantes plus tolérantes à la sécheresse (Olesen et al. 2011).

La fertilisation, notamment la fertilisation azotée, provoque des problèmes de pollution des eaux. La concentration en nitrates est un critère important de qualité des eaux souterraines et de surface (MAAF et al. 2015), notamment vis-à-vis de la santé humaine, puisqu'une forte concentration en nitrates augmente les risques de cancer (Shibata et al. 2015). Elle augmente aussi les coûts de potabilisation de l'eau de consommation (Timilsena et al. 2015). En surface, le surplus d'azote en milieu aquatique, *i.e.* l'eutrophisation, favorise le développement de micro-algues et peut ainsi causer des phénomènes d'hypoxie ce qui peut engendrer des modifications en profondeur des écosystèmes concernés (García-Nieto et al. 2016). De plus, la fertilisation azotée en excès participe à l'émission de N_2O , un gaz à effet de serre qui en plus

de son impact sur le changement climatique augmente les risques de problèmes respiratoires (Shibata et al. 2015). Il apparaît donc important d'optimiser les apports azotés, en termes de quantité et de calendrier, afin de limiter les pertes par lixiviation et les émissions de N_2O , tout en maintenant un certain rendement.

Les produits phytosanitaires engendrent des problèmes environnementaux : impacts sur les organismes non cibles, pollution des eaux et risques pour la santé humaine aussi bien pour le consommateur que pour l'applicateur. Face à ces menaces de nombreux produits ont été retirés du marché. Le nombre de molécules disponibles a donc diminué, ce qui favorise la sélection de populations de bioagresseurs résistantes aux molécules autorisées (Lamichhane et al. 2015). L'ensemble de ces problèmes a conduit en France à la mise en place du Plan Ecophyto I en 2008, suivi du Plan Ecophyto II en 2015. Le plan Ecophyto II fixe comme objectif de réduire de 25% l'utilisation des produits phytosanitaires d'ici 2020 par une optimisation des systèmes de culture et de 25% supplémentaires d'ici 2025 par une transformation plus profonde des systèmes agricoles vers l'agro-écologie (MAAF and MEDDE 2015). Afin d'atteindre ces objectifs, il semble primordial de trouver des méthodes alternatives de gestion des populations de bioagresseurs dans les systèmes agricoles.

En zone tempérée, les vergers sont parmi les cultures les plus intensément traitées (Simon et al. 2010), car le marché demande des « produits zéro-défaut » (Lamichhane et al. 2015) et contrairement aux cultures annuelles où les rotations permettent de limiter la pression en bioagresseurs, en verger les bioagresseurs disposent d'une ressource présente sur le long terme (Penvern et al. 2010). Les producteurs doivent donc répondre à la demande sociétale de production de fruits sains avec peu d'impact sur l'environnement, tout en maintenant leur revenu en minimisant l'impact économique des bioagresseurs (Simon et al. 2010). En France, les deux principales espèces fruitières sont le pommier (Figure 1-1) et le pêcher (Figure 1-2) qui représentent respectivement 65% et 9% du volume de fruits produits (Figure 1-3, (France



Figure 1-2: Photographies d'un verger de pêcher dans le Sud-Est de la France

Agrimer 2016)). Sur pommiers en 2011, l'IFT¹ national moyen (Indice de Fréquence de Traitement) était de 34.05 dont 8.30 étaient liés aux insecticides-acaricides. Sur pêcher en 2012, l'IFT national moyen était de 17.24, dont 6.33 étaient liés aux insecticides-acaricides (Agreste 2015). Pour ces deux espèces fruitières, les pucerons font partie des cibles principales des traitements insecticides-acaricides, avec les lépidoptères : carpocapses et tordeuses respectivement (Pujol 2014).

Les pucerons [Hemiptera : Aphididae] sont des insectes de type piqueur-suceur. A l'aide de leurs stylets, leurs pièces buccales hautement modifiées, ils se nourrissent de sève phloémienne en s'alimentant directement dans les cellules des tubes criblés (Giordanengo et al. 2007; Walling 2008). Ainsi la performance des pucerons est liée à l'accessibilité et à la qualité nutritionnelle de la sève phloémienne. L'accessibilité du phloème pour les pucerons est liée à la pression de turgescence (Simpson et al. 2012), à la pression osmotique et à l'épaisseur des parois cellulaires (Mody et al. 2009). La sève phloémienne met les pucerons face à deux défis nutritionnels : une forte concentration en carbohydrates et des teneurs en acides aminés très déséquilibrées (Giordanengo et al. 2007). En effet, la sève phloémienne fournit des sucres en excès par rapport aux besoins du puceron et présente une pression osmotique très élevée par

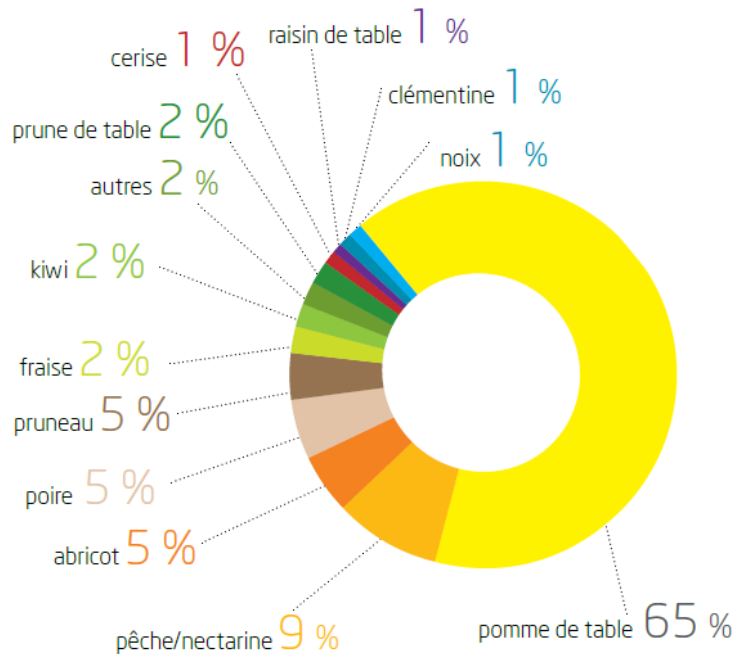


Figure 1-3. Poids des différentes espèces fruitières en volumes de production en 2014 en France, source : (France Agrimer 2016)

¹ IFT : Indice de fréquence de traitement correspond au nombre de doses de référence employées à l'hectare. Il est obtenu en effectuant pour chaque traitement phytosanitaire, un ratio entre la dose employée et la dose de référence (*i.e.* la dose maximale autorisée pour un bioagresseur sur une culture donnée) pondéré par la surface traitée, puis en additionnant l'ensemble des IFT des traitements réalisés sur la culture (Agreste 2015)

rapport à l'hémolymphe du puceron. Pour réguler leur potentiel osmotique, les pucerons peuvent s'alimenter ponctuellement de sève xylémienne (Pompon et al. 2011), et convertissent le saccharose en des molécules plus complexes, qu'ils excrètent ensuite sous forme de miellat. Le miellat est à l'origine de la relation mutualiste entre les pucerons et les fourmis (Bonnemain 2010). Les fourmis récupèrent le miellat, ce qui limite l'attraction des ennemis naturels des pucerons et augmente l'hygiène de la colonie en réduisant les risques d'engluement des pucerons et de développement de champignons (Stewart-Jones et al. 2008). Les fourmis défendent également la colonie contre les prédateurs (Bird et al. 2004). La sève phloémienne, bien que riche en azote, représente une ressource azotée de faible qualité. En effet, les animaux sont incapables de synthétiser 9 acides aminés (qualifiés d'acides aminés essentiels), le déficit en un seul de ces acides aminés contraint la croissance et le développement. Or le phloème présente un ratio d'acides aminés essentiels-non essentiels compris entre 1 : 4 et 1 : 20, ce qui est loin du ratio 1 : 1 des protéines animales (Douglas 2006). Pour pallier le manque d'équilibre de leur régime alimentaire, les pucerons hébergent une bactérie intracellulaire : *Buchnera aphidicola* (Awmack and Leather 2002). Ce symbiote primaire et obligatoire des pucerons (Rahbé et al. 2007; Bonnemain 2010) est transmis verticalement de la mère à sa descendance (Douglas 2006; Goggin 2007). En échange de saccharose et d'acides aspartique et glutamique, la bactérie symbiotique fournit à son hôte des acides aminés essentiels (Mewis et al. 2012) : histidine, isoleucine, leucine, lysine, méthionine, phénylalanine, thréonine, tryptophane et valine (Douglas 2006). Enfin, les pucerons sont capables dans une certaine mesure de manipuler le métabolisme de leur plante hôte, en détournant à leur avantage une partie du flux phloémien au détriment des zones en croissance (Girousse et al. 2003) ou en transformant les apex en tissu puits pour les composés azotés (Girousse et al. 2005). Les pucerons libèrent via leurs salives des composés chimiques au sein de la plante qui altèrent la cicatrisation, les voies de signalisation des défenses et l'émission de composés volatils (Walling 2008).

Le puceron cendré du pommier [*Dysaphis plantaginea* Passerini] et le puceron vert du pêcher [*Myzus persicae* Sulzer] sont considérées comme les espèces les plus nuisibles en vergers de pommier (Forrest and Dixon 1975) et de pêcher (Leclant and Remaudière 1970) respectivement. Le puceron vert du pêcher, *M. persicae*, est une espèce holocyclique dioécique en climat tempéré (Figure 1-4). Ce puceron a pour hôte primaire le pêcher [*Prunus persica* (L.) Batsch] sur lequel se déroulent la reproduction sexuée automnale, l'hivernation sous forme d'œufs et plusieurs cycles de reproduction asexuée au printemps. A la fin du printemps, *M. persicae* migre vers ses hôtes secondaires herbacés sur lesquels il passe l'été. Cette espèce de puceron est très polyphage, certains auteurs parlent de plus de 875 espèces de plantes hôtes (Ro and Long 1999). Certains de ces hôtes secondaires sont d'importance économique : la pomme de terre, la betterave, la laitue, le tabac... Cette espèce de puceron est également le vecteur d'un

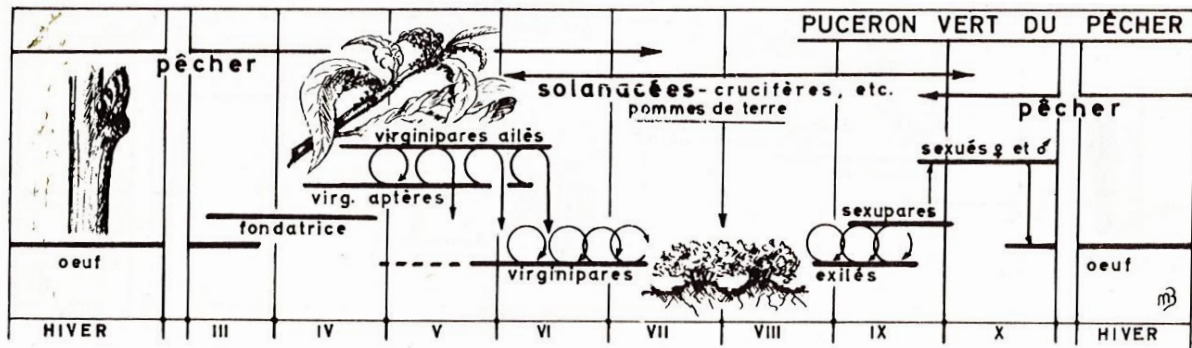


Figure 1-4: Cycle biologique du puceron vert du pêcher [Figure extraite de (ACTA 1979b)]

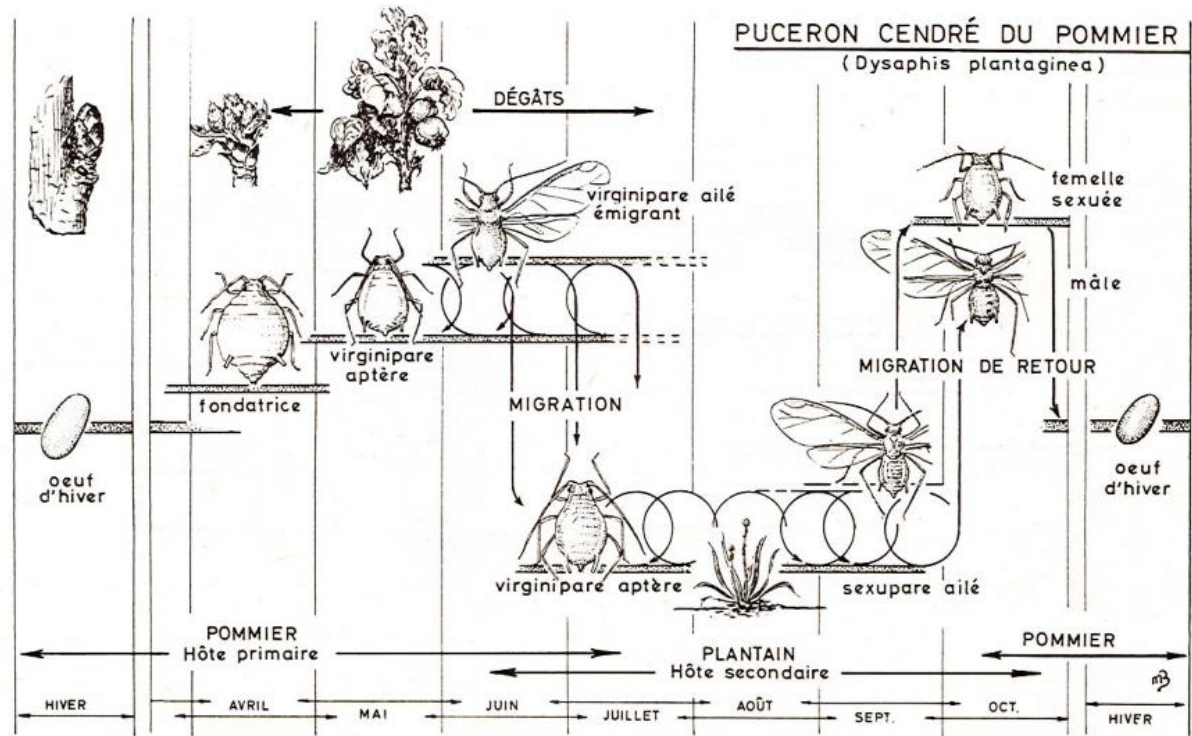


Figure 1-5: Cycle biologique du puceron cendré du pommier [Figure extraite de (ACTA 1977b)]

grand nombre de virus des plantes : mosaïque du concombre (CMV), jaunisse modérée de la betterave (BMV), virus Y (PVY) sur pomme de terre (Hullé et al. 2006). Par conséquent la littérature sur *Myzus persicae* est abondante, particulièrement sur ses hôtes secondaires. Relativement peu d'études ont été conduites sur son hôte primaire (Verdugo et al. 2016), alors même que *M. persicae* est un bioagresseur important en verger de pêcher. Il provoque des chutes de fruits et des enroulements de feuilles (ACTA 1979a).

Le puceron cendré du pommier, *D. plantaginea*, tout comme *M. persicae*, est une espèce holocyclique dioécique (Figure 1-5), ayant pour hôte primaire le pommier [*Malus domestica*

Borkh.]. Les périodes de présence de ces deux espèces de pucerons sont très similaires comme le montre le parallèle des deux cycles biologiques. Ce puceron induit au printemps la formation de pseudo-galles avec un enroulement longitudinal des feuilles (Forrest and Dixon 1975; ACTA 1977a). Il provoque également des déformations des fruits et une production importante de miellat (ACTA 1977a).

Ces deux systèmes arbre-puceron présentent donc d'importantes similitudes. Sur les arbres fruitiers, les populations de pucerons sont régulées par des processus top-down (prédation et parasitisme) et des processus bottom-up (qualité et quantité de la ressource). Ainsi, les performances de ces pucerons dépendent, entre autres, des caractéristiques physiologiques de la plante hôte : qualité nutritionnelle et accessibilité de la sève phloémienne, ce qui en fait des modèles intéressants pour étudier comment une réduction des intrants affecte l'acceptabilité des arbres pour les bioagresseurs. En effet, la nécessaire réduction des intrants en eau et en azote implique que les arbres fruitiers doivent parfois affronter des conditions de fonctionnement sous-optimales, dont les impacts sur la production sont connus (Ruiz-Sánchez et al. 2010; Zapata et al. 2013; Rahmati et al. 2015; Chenafi et al. 2016), alors que leurs effets sur la résistance des arbres aux bioagresseurs ne sont qu'imparfaitement décrits (cf. Chapitre 3). C'est pourquoi cette thèse se propose d'évaluer les effets d'une réduction des apports en eau et en azote sur la susceptibilité de deux espèces fruitières, le pommier et le pêcher, aux pucerons, *D. plantaginea* et *M. persicae* respectivement. L'objectif scientifique de ce travail est double : (i) comprendre si une réduction des apports en eau et en azote modifie la susceptibilité uniquement au travers de ses effets sur la croissance végétative aérienne ou par d'autres voies, et (ii) évaluer la généralité des résultats obtenus en fonctions des espèces (pêcher et pommier) et des génotypes de pommier qui diffèrent pour leur réponse à la restriction hydrique.

Partant du constat que la réduction de l'utilisation des insecticides requiert une combinaison de techniques alternatives, nous avons choisi de débiter ce travail en exposant dans le Chapitre 2 les différentes options envisageables pour la régulation des pucerons en vergers de pommiers et de pêchers, en mobilisant aussi bien les processus top-down que bottom-up (Figure 1-4). La deuxième partie de ce Chapitre 2 est recentrée sur les différentes théories écologiques décrivant les processus bottom-up, qui constituent le cœur de ce travail de thèse. Le Chapitre 3, en se basant sur la littérature existante, explicitera en détails la démarche de ce travail de thèse. Le Chapitre 4 exposera la démarche expérimentale utilisée et les chapitres 5 et 6 exposeront les principaux résultats acquis. Les effets de l'irrigation et de la fertilisation azotée sur l'abondance de *Myzus persicae* sur pêcher seront présentés au Chapitre 5 et les effets de l'irrigation et du génotype de l'arbre sur l'abondance de *Dysaphis plantaginea* sur pommier seront présentés au Chapitre 6. Nous terminerons par une discussion générale présentée dans le Chapitre 7.

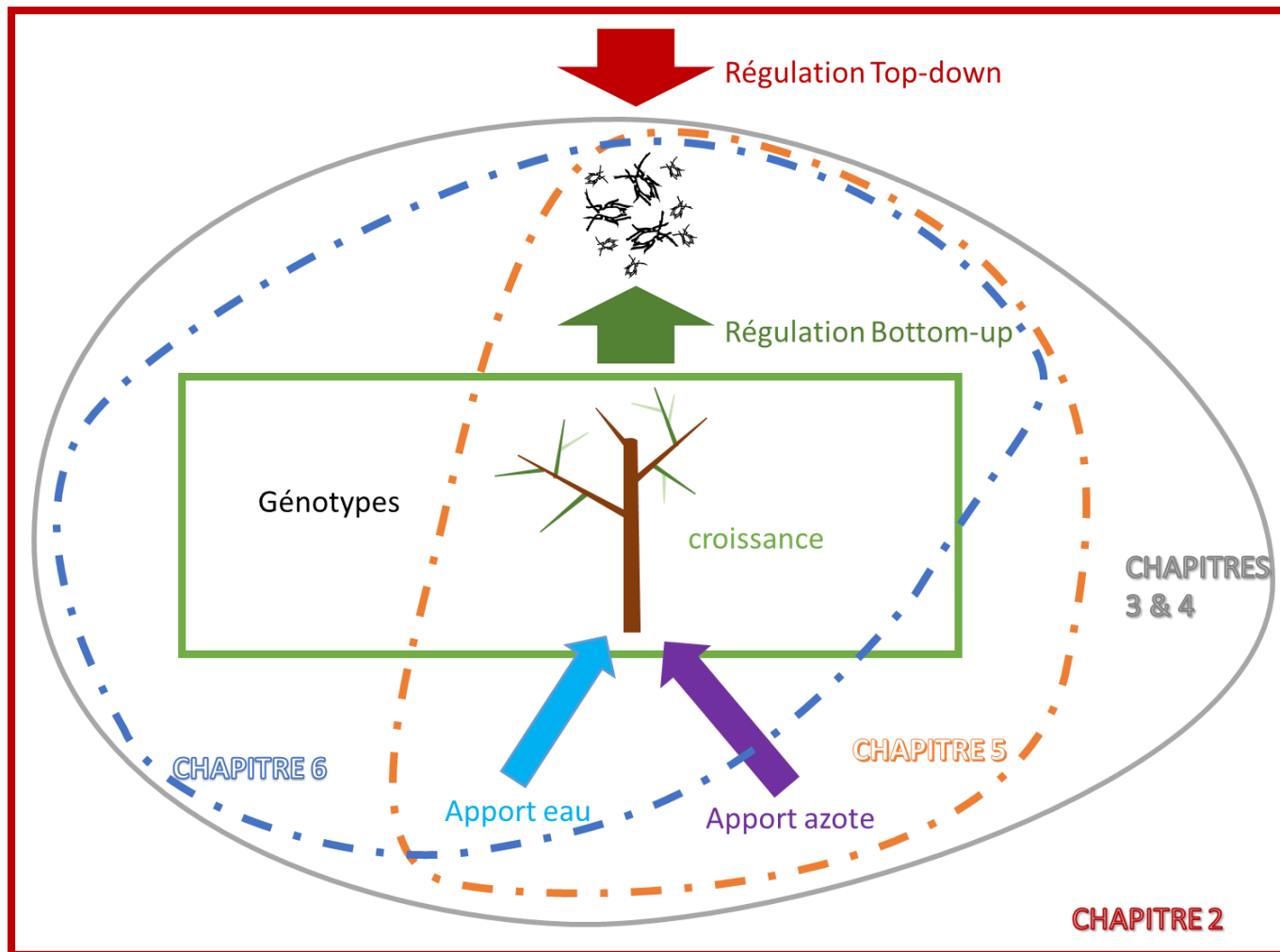


Figure 1-4 Schéma du système arbre-pucerons présentant les différentes interactions prises en compte au cours des chapitres de la thèse. Les populations de pucerons peuvent être régulées par les niveaux trophiques supérieurs : prédateurs et parasitoïdes, on parle alors de régulation top-down. La plante hôte en tant que ressource pour les populations de pucerons peut également contraindre leur performance, on parle alors de régulation bottom-up.

Chapitre 2 : Techniques alternatives de gestion des pucerons en vergers de pommiers et pêchers, focus sur la régulation par la plante

2.1. Alternatives to insecticides for aphid management in apple and peach orchards considering aphid life cycle characteristics²

Alternatives to insecticides for aphid management in apple and peach orchards considering aphid life cycle characteristics

Aurélie Rousselin^a, Daniele Bevacqua^a, Marie-Hélène Sauge^a, Françoise Lescourret^a, Karsten Mody^b, Marie-Odile Jordan^{*a}

^a INRA, UR1115 Plantes et Systèmes de culture Horticoles (PSH), Domaine St Paul, Site Agroparc, 84914 Avignon Cedex 09, France

^b Ecological Networks, Biology, Technische Universität Darmstadt, Schnittspahnstr. 3, 64287 Darmstadt

* Marie-Odile Jordan : marie-odile.jordan@inra.fr

Abstract

Chemical insecticides provoke environmental hazards: damage to non-target organisms, soil and water pollution, human health issues. Due to these hazards and to the development of pest population resistant to various insecticidal molecules, there is a pressing need to reduce our dependency on chemical insecticides for pest management. Apple and peach orchards are chemical-intensive systems and among orchard pests, aphids are one of the majors. Here we review alternative control methods of aphid population in peach and apple orchards considering the specificities of aphid life cycle. The major points are the following: 1) Through a better understanding of species life cycle, we can identify key-step for pest outbreaks and so implement innovative solutions to control aphids. 2) There is no silver bullet, each orchard needs a combination of several alternative control methods, depending on the local context and on the pest pressure. 3) In apple and peach orchards, the main alternative method studied is to increase natural enemy population during spring. 4) On the contrary, studies are scarce on two

² This review article will be soon submitted to *Agronomy for Sustainable Development*.

promising aspects for aphid management in orchards: bottom-up control and impeding aphid autumnal return.

Key-words: pest management, fruit tree, *Malus domestica*, *Prunus persica*, alternative methods

Introduction

Apple and peach are major fruit crops on a global scale. Indeed in 2013 apple ranked 1st for deciduous fruit tree production with a yearly production of more than 80.10⁶ tons, while peach and nectarine ranked 4th with more than 21.10⁶ tons, behind grapes and pear (FAO 2016).

Aphids are considered as major peach and apple pests under temperate and mediterranean climates. First, they can harm fruit production by their detrimental effects on fruit quality, including reduction of fruit size (Filajdić et al. 1995) or deformation of fruit shape (Hullé et al. 2006) in apple or premature fruit fall in peach tree (Van Emden et al. 1969). Second, they reduce overall tree vigour due to phloem intake, organ deformation (leaf rolling, shoot twisting) (Figure 2-1), chlorosis, sooty mould development on honeydew and leaf fall (Dedryver et al. 2010). These effects could result in a decrease in C reserves and so alter long term growth (Zvereva et al. 2010). Third, aphids can cause indirect damage on peach tree through virus transmission, including the plum pox virus which leads to tree death (Rimbaud et al. 2015). The economic threshold levels for insecticide application are low, with 1-2% of infested shoots for *Dysaphis plantaginea* and 8-10% for *Aphis pomi* (Barbagallo et al. 2007). However, data on the extent of yield loss attributable to aphids in fruit trees are scarce relative to data available for annual crops (e.g. wheat, sugar beet, potatoes) (Dedryver et al. 2010). A study based on a modelling approach suggests a strong negative impact (a reduction in fruit growth superior to 5%) of *D. plantaginea* on apple fruit growth even at low aphid density (De Berardinis et al. 1994). In one study the direct evaluation in an organic orchard attributes 21.4% of unmarketable apple fruits to *D. plantaginea* damage (Simon et al. 2011a). The small number of dedicated studies may be explained by a seemingly low impact of aphids on current year fruit yield. Indeed several studies have shown that aphid density has no effect on the current year yield (Filajdić et al. 1995; Grechi et al. 2008), but possibly on that of future years due to the reduction of tree vigour. Thus, multi-year experiments are needed to quantify aphid impact on yield, as suggested by a modelling approach in which aphids impact yield only in a multi-year perspective (Bevacqua et al. 2016).

Nowadays, chemical insecticides are still widely used to manage aphid populations in peach orchards (Penvern et al. 2010), as well as in apple orchards (Simon et al. 2011a). However due to high environmental costs and implementation of restrictive guidelines, alternatives to chemicals are needed. Moreover pest populations resistant to chemicals have developed. For example, 7 different mechanisms of resistance have been identified in *Myzus persicae* aphid,

Chapitre 2: Techniques alternatives de gestion des pucerons en vergers de pommiers et pêchers, focus sur la régulation par la plante

enabling this species to withstand many chemicals (Bass et al. 2014). Aphid clones cumulating several resistance mechanisms have been observed (Bass et al. 2014). Another detriment of pesticide use is the perturbation of natural enemies. Laboratory studies showed lethal effects of some insecticides on ladybeetle and lacewing (Garzón et al. 2015) and reduction of predation activity of earwig following pesticide exposure (Malagnoux et al. 2015a). In apple orchard a negative relationship between the extent of insecticide treatments and earwig occurrence was evidenced (Malagnoux et al. 2015b). Another study showed a negative effect of the intensity of insecticide use on spider community in organic apple orchards (Marliac et al. 2016). Some studies aim at reducing the side effects of pesticides by considering changes in mode of application, such as trunk injection (VanWoerkom et al. 2014) or by application of less toxic substances such as insecticidal soap (Karagounis et al. 2006). Another solution is to seek alternative methods to chemicals.



Figure 2-1: Left photograph: Aphid colony on apple tree. Right photograph: ladybeetle larva and pupa on apple tree.

Herbivorous insect abundance is controlled by both top-down and bottom-up processes (Hunter and Price 1992), which could be exploited for a more sustainable pest management. This review focuses on alternative methods to chemicals for aphid management in apple and peach orchards. To efficiently implement aphid management measures it is of prime importance to understand the specificities of the aphid life cycle. We start therefore with a quick overview of the diverse life cycles of aphid species infesting apple and peach trees. Then, for each aphid life cycle stage possible alternatives mobilising both bottom-up and top-down processes are presented. Finally side effects of alternative methods on other orchard pests and pathogens and on fruit yield are considered.

Aphid species infesting apple and peach orchards

Numerous aphid species - with different life cycles (Figure 2-2) - are able to colonise and damage peach and apple trees (examples in Table 2-1). Some species are monoecious (M in Table 2-1), *i.e.* they stay on the same host species all year round, others are dioecious (D in Table 2-1), *i.e.* they alternate during the year between a primary host, on which aphids overwinter (usually a woody plant), and a secondary host (usually a herbaceous plant), on which aphids spend the summer season. Aphid life cycles are characterized by multiple generations of parthenogenetic reproduction, with females asexually giving birth to female instars. If the parthenogenetic generations are interrupted by one generation of sexual reproduction in autumn, the cycle is called holocyclic (H in Table 2-1), after mating sexual females lay cold resistant eggs. If the parthenogenesis is continuous, the cycle is qualified as anholocyclic (A in Table 2-1) (Moran 1992; Hardy et al. 2015). Aphids can produce winged morphs in case of crowding, decreased host plant quality or for host plant alternation (Moran 1992; Hardy et al. 2015).

Table 2-1: Life cycle characteristics and host use of the main aphid species of apple and peach trees in European orchards. Life cycle: A: anholocyclic, H: holocyclic. Host: D: dioecious, M: monoecious.

	Life cycle	Host	Sources
Apple tree, <i>Malus domestica</i> Borkh.			
<i>Aphis pomi</i> De Geer	H	M	(Wyss 1995; Hullé et al. 2006)
<i>Aphis spiraecola</i> Patch	A	M	(Hullé et al. 2006)
<i>Dysaphis plantaginea</i> (Passerini)	H	D	(Hullé et al. 2006)
<i>Dysaphis devectora</i> (Walker)	H	M	(Cevik and King 2002)
<i>Eriosoma lanigerum</i> (Hausmann)	A	M	(Hullé et al. 2006)
<i>Rhopalosiphum insertum</i> (Walker)	H	D	(Hullé et al. 2006)
Peach tree, <i>Prunus persica</i> (L.) Batsch			
<i>Brachycaudus persicae</i> Passerini	H	D	(Arnoux et al. 1987; Hullé et al. 2006; Penvern et al. 2010)
<i>Brachycaudus prunicola</i> (Kaltenbach)	H	M	(Arnoux et al. 1987; Penvern et al. 2010)
<i>Brachycaudus schwartzi</i> (Börner)	H	M	(Hullé et al. 2006; Penvern et al. 2010)
<i>Hyalopterus pruni</i> (Geoffroy)	H	D	(Hullé et al. 2006)
<i>Myzus persicae</i> Sulzer	H	D	(Arnoux et al. 1987; Hullé et al. 2006; Penvern et al. 2010)
<i>Myzus varians</i> Davidson	H	D	(Arnoux et al. 1987; Hullé et al. 2006; Penvern et al. 2010)

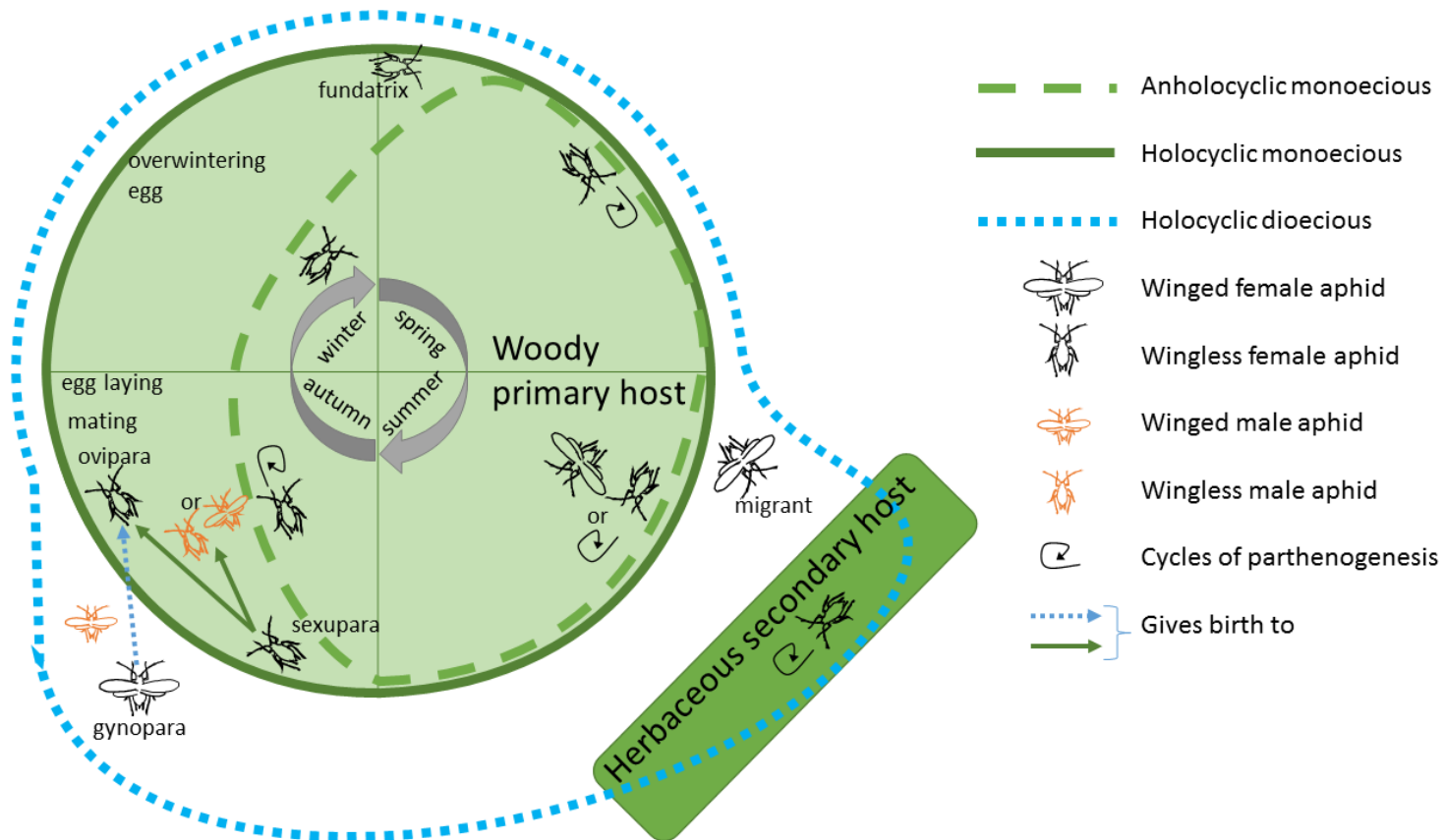


Figure 2-2: Three variants of aphid life cycle with a woody host. In spring, aphids of all variants undergo asexual reproduction (parthenogenesis) on their woody host. In summer, monoecious species stay on the woody host while dioecious species fly to their secondary host, generally an herbaceous plant. In autumn, dioecious species fly back to their woody host. Holocyclic species undergo sexual reproduction and oviparae lay overwintering eggs whereas anholocyclic species overwinter as wingless females.

Bottom-up and top-down control methods at different aphid life cycle phases

In trophic webs, the populations of primary consumers, such as herbivorous insects, can be regulated both by plant productivity and by higher trophic levels (Power 1992).

Modification of host plant suitability through genetic resistance or modification of the abiotic environment can exert bottom-up regulation on aphid populations (Figure 2-3). Host plant suitability for aphid embraces several aspects: settlement site availability (for most orchard aphid species: growing apices), nutritional quality of the phloem sap (amino acid profile (Ryan et al. 2015) and defensive compounds (Czerniewicz et al. 2011)), phloem sap accessibility (Smith and Chuang 2014) (e.g. viscosity, turgor pressure) and canopy microenvironment (Pangga et al. 2012).

Diverse organisms can exert a top-down regulation on aphid populations through predation or parasitism (Figure 2-3) and so be considered as biocontrol agents: natural enemies (predators and parasitoids), entomopathogenic fungi and nematodes. Generally three main approaches of biological control are distinguished: (1) conservation biological control, which is based on enhancement of biocontrol agents naturally occurring in the field, (2) augmentation biological control, which consists of the release of biocontrol agents, and (3) introduction biological control (not treated in this review), which aims at managing exotic pests through the introduction of their natural enemies (Hopper 2003).

Egg hatching

Bottom-up: genetic avoidance

The synchronisation of host plant phenology and aphid life cycle is of prime importance for the success of fruit tree infestation by aphid in spring. Cultivar choice, or more specifically the precocity of the chosen cultivar, can impair spring aphid settlement through phenological avoidance. Actually, fundatrices are not well-armed to face unfavourable conditions (Moran 1992). So if aphid eggs hatch while bud burst of the host plant has not yet started, the fundatrices will not be able to find new leaves to feed upon and so their survival might be strongly compromised (Dapena and Miñarro 2001). As possible consequence of asynchrony between aphid hatching and bud burst, late bud bursting apple cultivars are less infested and damaged by *D. plantaginea* aphid than early bud bursting cultivars (Miñarro and Dapena 2007).

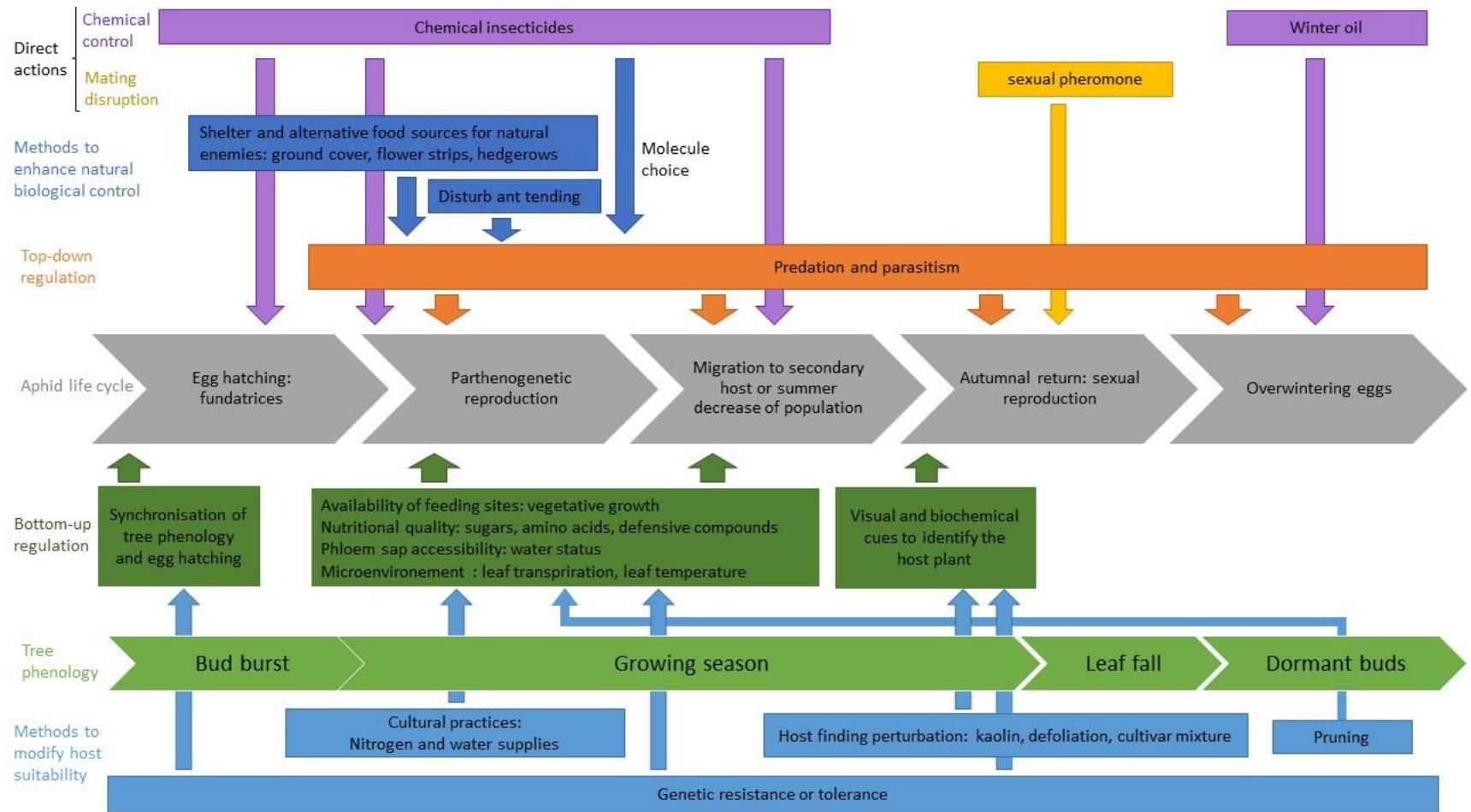


Figure 2-3: Possible methods to control aphid populations in apple and peach orchards by mobilizing bottom-up and top-down processes

Parthenogenetic reproduction

Bottom up

Genetic resistance

Genetic resistance can be separated in two categories: antixenosis resistance, which prevents plant colonization and antibiosis resistance, which alters pest development and/or reproduction (Sauge et al. 2006; Sauge et al. 2011). Genotypes can also be tolerant to aphids meaning that they can bear abundant aphid populations without a strong negative impact on production or growth (Angeli and Simoni 2006).

In peach, resistant cultivars to *M. persicae* aphid have been identified (Verdugo et al. 2016). ‘Weeping Flower Peach’ (Sauge et al. 2011) and ‘Rubira’ (Sauge et al. 1998; Pascal et al. 2002; Sauge et al. 2002; Sauge et al. 2006; Lambert and Pascal 2011) possess single dominant resistance genes, Rm1 and Rm2 respectively, conferring antixenosis resistance. The peach cultivars ‘Malo konare’ and ‘Summergrand’ and the wild related *Prunus davidiana* show antibiosis resistance. The resistance of *P. davidiana* is polygenic, seven QTLs have been identified (Sauge et al. 2011), and it strongly reduces aphid fecundity (Sauge et al. 1998; Sauge et al. 2011). ‘Malo konare’ and ‘Summergrand’ resistances increase aphid pre-reproductive development time (Sauge et al. 1998).

In apple, the cultivar ‘Florina’ is resistant to *D. plantaginea* aphid (Qubbaj et al. 2005; Angeli and Simoni 2006), with a strong surface repellence and a resistance factor in phloem sieve elements (Marchetti et al. 2009). This cultivar combines tolerance, antixenosis and antibiosis mechanisms of resistance (Angeli and Simoni 2006). The cultivar ‘Golden Orange’ also shows resistance to *D. plantaginea* aphid with a strong antixenotic effects on instars (Angeli and Simoni 2006). Two QTLs for apple resistance to *D. plantaginea* and *D. devectora* aphids, respectively, have been identified (Stoeckli et al. 2008b). Three major genes for resistance to *E. lanigerum* aphid have been identified *Er1* from ‘Northern Spy’, *Er2* from ‘Robusta’ and *Er3* from *Malus sieboldii* ‘Aotea 1’ (Bus et al. 2007). As *E. lanigerum* aphid also forms belowground colonies, it can be relevant to use a resistant rootstock cultivar (Lordan et al. 2015). There are also three resistance genes to *D. devectora* aphid *Sd-1* from ‘Cox’s Orange Pippin’, *Sd-2* from ‘Northern Spy’ and *Sd-3* from *Malus robusta* and *Malus zumi* (Alston and Briggs 1977; Cevik and King 2002).

The introduction of genetic resistance into commercial cultivars can help to reduce aphid pressure in orchards. However, this option should be considered with caution as *E. lanigerum* (Bus et al. 2007; Smith and Chuang 2014) and *D. devectora* (Smith and Chuang 2014) aphids developed populations that were virulent to apple genotypes expressing monogenic resistance. Thus, to increase resistance durability, polygenic sources of resistance should be favoured over monogenic resistance (Lambert and Pascal 2011), even if it is more challenging

to breed a cultivar with polygenic resistance (Smith and Chuang 2014) while maintaining interesting fruit quality characteristics.

Cultural practices to modify host plant suitability

Plant physiological status encompasses multiple variables that determine host plant suitability for aphids: phloem nutritional quality (concentrations of amino acids and defensive compounds), nutrition site availability and phloem sap accessibility (osmotic pressure, viscosity). Cultural practices can alter plant suitability, acting simultaneously on favourable and unfavourable variables for aphid performance. As a consequence the resulting effect on aphid performance is highly dependent on the intensities and the combination of the practices and also on the initial plant physiological status resulting from plant history.

Tree shape determined by the training system may affect tree suitability for aphids. In apple trees, for instance, the complexity of tree architecture has been shown to negatively affect *D. plantaginea* aphid, as the complexity of tree branching reduces the success of colony dispersal within the canopy (Simon et al. 2011b).

Individual shoot growth, which has been shown to be positively correlated to *M. persicae* (Grechi et al. 2008) and *A. pomi* (Stoekli et al. 2008a) aphid performance, can be modulated by water and nutrient inputs and also by pruning intensity. The negative effect of nitrogen restriction on performance of *M. persicae* aphid feeding on peach trees has been shown to be mediated mainly by a restriction of vegetative growth (Rousselin et al. 2016). Moreover, low pruning intensity reduces individual shoot elongation rate, as plant vigour is distributed across a higher number of shoots, which results in limited *M. persicae* aphid infestation (Grechi et al. 2008).

Phloem nutritional quality for aphids is mainly characterised by its provision of soluble amino acids and its C/N ratio. Indeed low nitrogen availability is a major constraint of phloem feeding (Bonnemain 2010). Therefore, nutrient inputs such as nitrogen fertilisation that increase plant content in amino acids can positively impact aphid populations (Kyto et al. 1996; Sauge et al. 2010). Water supply as well can modify the amino acid pool, as demonstrated on alfalfa (Girousse et al. 1996).

In addition, water supply can modify the physical properties of the phloem, namely turgor pressure, osmotic potential and sap viscosity (Ryan and Asao 2014; Sevanto 2014). Aphid performance on *Dactylis glomerata* has been shown to be negatively impacted by water soluble carbohydrate content (Alkhedir et al. 2013). As a moderate water restriction reduces plant growth but has no impact on photosynthesis (Mitchell et al. 2013), we can expect an increased sap viscosity resulting from increased carbohydrate contents, and so a decreased phloem accessibility to aphids. The hypothesis of reduced phloem accessibility has been

suggested to explain reduced aphid performance on water stress trees in two different systems: *A. pomi* – apple tree (Mody et al. 2009) and *M. persicae* –peach tree (Rousselin et al. 2016).

Top-down

Conservation biological control

To be efficient biological control agents need to be active early in the season (Wyss et al. 1995; Stewart-Jones et al. 2008; Nagy et al. 2013), *i.e.* before aphid populations increase exponentially, as they might not be able to handle strong aphid infestation. Thus to foster natural enemy populations, different measures of habitat management have been implemented to provide shelter and substitution prey, in periods of aphid scarcity on crop trees (Dedryver et al. 2010; Markó and Keresztes 2014). Many studies have concentrated on the possible effects of groundcover on aphid natural enemies and eventually aphid abundance. The results are contrasting, possibly reflecting differential responses of different arthropod species and also an influential role of initial aphid infestation severity, cover plant species used and the synchronicity between tree phenology and cover plant flowering. On the one hand, it has been shown that even if flowering alleys increase spider abundance in an apple orchard compared to bare ground, there is no effect on *A. pomi* aphid abundance (Markó and Keresztes 2014). In addition, extrafloral nectar sources decreased predation of *Aphis spiraecola* aphid by *Harmonia axyridis* (Coccinellidae) by providing alternative food resources (*i.e.* nectar) to the predator (Spellman et al. 2006). On the other hand, weed strips in apple orchards increase aphidophagous predator abundance (e.g. Araneae, Cecidomyiidae, Chrysopidae, Heteroptera) and reduce *D. plantaginea* aphid abundance (Wyss et al. 1995). Consistently the addition of sweet alyssum (*Lobularia maritima*) causes a decrease in *E. lanigerum* aphid abundance due to increased abundance of natural enemies (e.g. spiders and Anthocoridae) that switch between the flowers and the tree canopy (Gontijo et al. 2013).

The limitation of insecticide use (Brown 2008; Dedryver et al. 2010) and the choice of selective molecules less harmful to natural enemies (Gentz et al. 2010) can help to foster natural enemy populations. A comparative study shows lower *D. plantaginea* aphid abundance and higher natural enemy abundance in organic orchards than in conventional and IPM orchards. The authors suggest that the biocontrol of aphids has been disrupted in IPM and conventional orchards by chemical insecticides (Dib et al. 2016b).

To favour natural enemy populations and action it can be relevant for some aphid species to first get rid of ants or disrupt their tending activity. Indeed a mutualistic relationship exists between aphid and ant. Ants benefit from aphid honeydew and in exchange provide protection of aphids against natural enemies and increase colony hygiene (Stewart-Jones et al. 2008; Nagy et al. 2013). Preventing ants from climbing into the tree canopy by sticky barriers reduces population size of *D. plantaginea* aphid and also aphid-related damage to harvested

fruits (Stewart-Jones et al. 2008). However, this method has many drawbacks, including the exclusion of crawling predators such as earwigs from the tree canopy and the need for labour-intensive regular application and control of sticky barriers. It also implies a strict management of row vegetation. It is therefore not applicable in large commercial orchards (Nagy et al. 2013). An alternative method consists in providing alternative carbohydrate sources to the ants, by the positioning of feeders with a sucrose solution on the trunk base. The set-up of such feeders in apple orchards proves to be as efficient as traditional ant-exclusion technique for *D. plantaginea* aphid control (Nagy et al. 2015).

Releases of biological control agents

Entomopathogenic fungi and natural enemies are two promising categories of biocontrol agents for augmentation biological control of orchard aphids.

Entomopathogenic fungi can infest and kill individual aphids, and so can cause colony collapse (Zhou and Feng 2010). The virulence of several species of fungi on *M. persicae* aphids has been demonstrated in the laboratory: *Metarhizium* strains (Shan and Feng 2010; Jandricic et al. 2014), *Purpureocillium lilacinum* (Lee et al. 2015) and *Beauveria* strains (Jandricic et al. 2014). The main obstacle to overcome for an efficient use of fungi for aphid management in orchards is the adaptation of the fungus strains to the field conditions. A strong virulence is not sufficient for biocontrol purposes, the strains need also to be thermo- and UV-B-tolerant (Lee et al. 2015). The adequate formulation to preserve sporulation capacities has to be found (Zhou and Feng 2010). For aphids living in rolled leaves such as *D. plantaginea* the efficient application of fungal spores for biocontrol can be arduous, so the use of *Lasius niger* ants as passive vector of the spores has been considered and resulted in infestation of aphid colonies (Bird et al. 2004). The use of entomopathogenic nematodes for aphid control has also been studied but the results are not encouraging, with a low infectivity of the tested nematodes (Park et al. 2013; Berkvens et al. 2014).

Augmentation biological control through releases of natural enemies is not included in common orchard practices. A study testing the releases of earwigs has not evidenced an effect of these releases on abundance of *D. plantaginea* aphid (Dib et al. 2016a). On the contrary, the release of larvae of *Adalia bipunctata* (Coccinellidae) early in the season shows a positive effect on control *D. plantaginea* aphid. However the effect has been obtained with a predator:prey ratio of 1:1 or 5:1 (Wyss et al. 1999a), compromising the cost-efficiency of the method. So further research is needed, possibly exploiting codling moth exclusion nets as a physical barrier to increase the efficiency of the releases (Dib et al. 2016a).

Autumnal return (dioecious species)

Bottom up: Impairing host plant location and decreasing host plant suitability

Repeated autumn applications of kaolin have been shown to decrease the landing and larvae deposition of gynoparae of *D. plantaginea* aphid on apple trees (Bürgel et al. 2005). The repeated treatments either suppress spring aphid populations (Andreev et al. 2012), or reduce it, but not below economic threshold levels (Bürgel et al. 2005). The potential mechanisms underlying these effects are perturbation of visual and physical cues to recognise the host plant, and a limitation of aphid movement, feeding and oviposition on treated trees (Bürgel et al. 2005).

Manual artificial defoliation in September or early October results in aphid absence in the following spring (Andreev et al. 2012). The possible mechanisms underlying this effect are that aphids fail to recognise their host plant in the absence of leaves or that autumnal aphids are unable to settle on leafless apple trees. This method seems promising, however, the effect of defoliation over tree reserves remains to be assessed, especially if this technique is to be repeated on a yearly basis.

Water restriction, suggested as a bottom-up method to reduce spring aphid populations, can postpone autumnal leaf senescence (Naschitz et al. 2014). Depending on the host plant and the aphid species considered, this delayed senescence can have contrasting effects. For *Prunus padus-Rhopalosiphum padi* aphid system, it has been found that aphid autumnal return is positively influenced by green leaves (Archetti and Leather 2005). On the contrary, early leaf senescence increases the number of overwintering eggs of *Euceraphis betulae* aphid on *Betula pendula* in short autumn (Silfver et al. 2014).

Cultivar mixtures of apple trees with differential resistance to *D. plantaginea* aphid has been shown to reduce aphid incidence on the susceptible cultivar compared to a pure stand of the susceptible cultivar. This positive effect of cultivar mixture has been attributed to a dilution effect of the resource, which is the susceptible cultivar (Parisi et al. 2013).

Direct action: use of sexual pheromone lures to impair mating partner location

During the sexual generation involving oviparae and winged males, oviparae release a sex pheromone to guide conspecific males. The two pheromone components (4aS,7S,7aR)-nepetalactone and (1R,4aS,7S,7aR)-nepetalactol are quite common among aphid species, however it is the ratio between the two components which is species specific (Symmes et al. 2012). These sex pheromones could be used to monitor fall populations and also to disrupt mating (Boo et al. 2000; Symmes et al. 2012). A 1:1 ratio of the two components of the sex pheromone have shown to be efficient to trap *Hyalopterus pruni* and *Brachycaudus helichrysi* aphids in prune orchards (*Prunus domestica*). However, the trap has also caught an important proportion of non-target aphid species, so the bait should be improved if it is to be used for

monitoring purposes (Symmes et al. 2012). For *Tuberocephalus momonis* aphid in peach orchards, the most performant blend of the pheromone components is 85:15 (Boo et al. 2000).

Top down: Web-building spiders

Whereas aphidophagous insects have been shown to be relatively inactive in autumn, web-building spiders have been observed in relevant quantity in an apple orchard (Wyss 1995). The finding that the number of spider' webs in autumn is negatively correlated with aphid abundance in subsequent spring indicates that measures that increase spider abundance in orchards such as weed strips can help to reduce orchard infestation by winged aphids returning in autumn.

Overwintering forms

Studies focusing on alternatives to chemicals for control of overwintering aphid stages are scarce. *E. lanigerum* aphids overwinter as apterous females either on the roots or within the canopy of apple tree. Overwintering canopy colonies of *E. lanigerum* aphid can be strongly reduced by earwigs, so any measure to favour earwig can have a positive effect on the control of this aphid (Lordan et al. 2015).

Side effects of alternative methods to chemicals for aphid control

Orchard pest community complexity

The implementation of alternative control methods for aphid management - such as modified host plant suitability or environment - can have contrasting effects on other orchard pathogens or pests. These effects can be arduous to predict as the implementation of alternative methods can cause changes in both pest and natural enemy communities. Indeed it has been observed in Southern France that a higher number of aphid species colonise peach trees in orchards that are less intensively treated with pesticides (Penvern et al. 2010).

For example, a tree cultivar selected to be resistant to a specific pest can be susceptible to another one. The peach cultivar 'Rubira' is resistant to *M. persicae* aphid but susceptible to *Brachycaudus persicae* aphids (Sauge et al. 1998; Sauge et al. 2002). Similarly, the apple cultivar 'Florina' is resistant to *D. plantaginea* aphid and to scab (Miñarro and Dapena 2008), but susceptible to *E. lanigerum* aphid (Abu-Romman and Ateyyat 2014). Deficit irrigation seems to reduce peach tree susceptibility to aphids and has also a positive effect on the control of brown rot. This effect of water restriction on brown rot might be due to a reduction of microcracks on the fruit surface, which limits the invasion of pathogens (Mercier et al. 2008). On the contrary, egg hatching of the buprestid *Capnodis tenebrionis* can be compromised by high soil humidity, so restrictive irrigation might have a positive effect on this stone orchard pest (Marannino and De Lillo 2007). The cultivar mixture of apple cultivars varying in their resistance to scab results in decreased scab and *D. plantaginea* aphid infestations on the

susceptible cultivar (Parisi et al. 2013). Ground cover management, which is suggested to positively influence biological control of aphids positively influences vole (*Microtus savii*) populations (Bertolino et al. 2014). As the effects of the alternative methods implemented for aphid management can be either positive or negative depending on other pest species affected, alternative methods should be selected and combined according to locally important pest species to optimise the control of orchard pest community. In this context it is noteworthy that the implementation of alternative control methods for the management of other pests can also impact aphid dynamics. Indeed, codling moth exclusion nets closed in April during aphid development have been shown to decrease *D. plantaginea* abundance (Dib et al. 2010a).

Fruit production and quality

Alternative methods for aphid management can impact fruit yield and quality. So the implementation of alternatives to chemicals should be performed considering that the ultimate goal is the production of marketable fruits. Important aspects of profitability are yield (*i.e.* number of fruits and weight) and fruit quality (*i.e.* fruit size, color and sometimes sweetness).

Nitrogen restriction can impact yield, as demonstrated in apple orchards (Kühn et al. 2011). Water restriction depending on its time of application and intensity has contrasting effects on fruit production and quality. It can either reduce yield, as demonstrated in apple (Girona et al. 2010) and nectarine (Naor et al. 1999; Naor et al. 2001) orchards, or have no effect, as demonstrated in peach orchards (Mercier et al. 2008). However, economic losses related to lower yield may be compensated by higher fruit quality, indeed deficit irrigation may decrease peach fruit diameter (Mercier et al. 2008; Rahmati et al. 2015), but increase fruit softness (Mercier et al. 2008) and sugar content (Mercier et al. 2008; Rahmati et al. 2015). In this context, it has been shown that informed consumers are willing to pay more for apple produced with less chemicals and assumedly contain less chemical residues (Marette et al. 2012). Such an economic valorisation of a more sustainable production could counterbalance a yield reduction.

Conclusion

Diverse alternative methods, especially the modulation of host plant suitability through modified cultural practices or the enhancement of top-down regulation, have been demonstrated to decrease aphid abundance in peach and apple orchards at various stages of aphid life cycle (Figure 2-3). However, it seems important to highlight that most studies have focused on aphid abundance, so the yield loss, the costs of the alternative methods compared to chemicals and the potential increased value of the more environmentally friendly fruits should be considered to determine relevant economic thresholds for the implementation of these methods. Moreover, very few studies consider the impact of aphids over several years. As aphids impact particularly

Chapitre 2: Techniques alternatives de gestion des pucerons en vergers de pommiers et pêchers, focus sur la régulation par la plante

vegetative growth of the trees, the repercussion of aphid abundance in one year should be assessed, not only on current-year yield, but also on production potential of the following years.

Bottom-up processes need to be mobilized before aphid outbreaks. Moreover top-down control can be poorly efficient in case of rapid and severe infestation (Wyss et al. 1995). Thus aphid outbreaks under favourable conditions can justify the use of chemical as a last resort to solve inextricable situations. To maximise the chances of success of the alternative control methods, they need to be combined and adapted at local scale to take into account climate, soil properties, tree physiological status, and arthropod (pests and natural enemies) community.

2.2. Précisions sur les hypothèses écologiques décrivant les processus de régulations des phytophages par les plantes

Nous avons vu dans le paragraphe précédent que des processus bottom-up et top-down peuvent être mobilisés pour la gestion des pucerons en verger fruitier. Nous allons à présent nous focaliser sur les processus bottom-up qui selon Price (2002) sont plus à même de contrôler les populations de bioagresseurs. De nombreuses théories écologiques ont été formulées pour décrire/prédire les réponses des phytophages aux variations de l'environnement abiotique de leur plante hôte.

Ces théories écologiques se basent principalement sur des mécanismes de modification de la qualité nutritionnelle de la plante hôte et de l'accessibilité de la ressource pour justifier ou prédire les performances des insectes phytophages. La qualité nutritionnelle de la plante hôte regroupe différents aspects : disponibilité en acides aminés, concentrations en composés de défenses. Ces théories peuvent être classées en deux grandes catégories. (i) Les théories écologiques avec une approche dynamique des populations d'insectes phytophages se basent sur des observations de pullulation d'insectes ou des études de dynamique de population de phytophages en réponse à des contraintes abiotiques subies par la plante hôte. (ii) Les théories écologiques avec une approche physiologie végétale se basent sur les impacts des contraintes abiotiques subies par la plante hôte sur la croissance végétale et le pool de métabolites secondaires qui détermine la défense.

Théories écologiques avec une approche dynamique des populations d'insectes phytophages

Dès les années 1920s, des études non expérimentales ont relié les périodes de sécheresse à des pullulations d'insectes phytophages (Huberty and Denno 2004), ce qui a conduit à la formulation de la 'Plant Stress Hypothesis' (PSH) (Figure 2-4) selon laquelle les insectes phytophages sont plus performants sur des plantes hôtes subissant un stress abiotique (White 1974; White 1984). Le stress abiotique est supposé augmenter la qualité nutritionnelle de la plante hôte, notamment en augmentant la disponibilité de l'azote qui est généralement un facteur limitant le développement des populations d'insectes phytophages (White 1974). En effet, lorsque les plantes subissent un stress, notamment un stress hydrique, le métabolisme protéique et la synthèse des acides aminés sont altérés. Sous de telles conditions, les protéines existantes peuvent être hydrolysées ce qui résulte en une augmentation des niveaux d'acides aminés libres (Huberty and Denno 2004). De plus, pour contrebalancer la faible pression osmotique résultant du stress hydrique, de nombreuses plantes produisent et accumulent des osmoprotectants contenant de l'azote (Huberty and Denno 2004). D'autres stress abiotiques

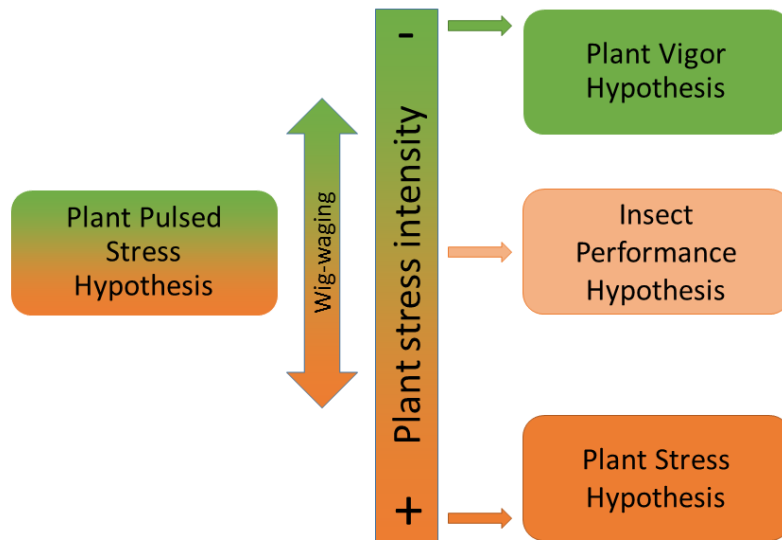


Figure 2-4 Positionnement du maximum de performance des insectes phytophages sur une échelle d'intensité de stress abiotique subi par la plante hôte selon les différentes théories écologiques.

peuvent favoriser la solubilisation de l'azote : les températures extrêmes, les carences en azote, phosphore ou potassium, l'application de produits phytosanitaires et les blessures (White 1984). L'effet positif du stress abiotique sur la performance des phytophages peut également être relié à une diminution de la synthèse des composés de défense (Price 1991; Inbar et al. 2001; Mody et al. 2009; Tariq et al. 2012), notamment carbonés.

Depuis la formulation de la PSH, un nombre grandissant d'études, notamment expérimentales, ont semé le doute quant à l'étendue de son application (Huberty and Denno 2004). En effet, il est possible qu'à des niveaux élevés de stress, la plante devienne une non-ressource pour les insectes phytophages, soit parce qu'elle est morte, soit parce qu'elle ne fournit plus une alimentation adaptée. Ceci a mené à la formulation de la 'Insect performance hypothesis' (IPH) (Figure 2-4), selon laquelle la performance des insectes phytophages est maximale à des niveaux intermédiaires de stress abiotiques (Larsson 1989). Un niveau intermédiaire de stress représente selon l'IPH un compromis profitable pour le phytophage entre les modifications liées au stress améliorant la qualité de la plante hôte et celles la détériorant.

Cependant d'autres observations tendent à contredire ces deux hypothèses. En effet, en milieu forestier de nombreux phytophages s'attaquent plus fréquemment aux plantes jeunes et

vigoureuses, plutôt qu'aux plantes âgées et mures, ce qui a conduit à la formulation de la 'Plant Vigor Hypothesis' (PVH) (Figure 2-4) qui prédit que les insectes phytophages préfèrent, et sont plus performants sur des plantes ou des organes vigoureux. Le terme 'vigueur' signifie toute plante ou tout organe dans une population, qui croît rapidement et atteint une taille importante, par rapport au taux de croissance moyen et à la taille finale atteinte dans la population de plantes ou d'organes (Price 1991). Les mécanismes sous-jacents seraient une meilleure disponibilité des nutriments, des taux d'abscission plus faibles et des potentiels osmotiques plus élevés dans les pousses vigoureuses (Tariq et al. 2012).

Les pullulations d'insectes suite à des périodes de sécheresse et les résultats des études expérimentales démontrant un effet négatif du stress hydrique continu sur la performance des phytophages, ne peuvent être compris et intégrés dans un schéma global que si l'on tient compte de la phénologie du stress (durée, intensité, période d'application). Ainsi, selon la 'Plant Pulsed Stress Hypothesis' (Huberty and Denno 2004), un stress hydrique pulsé ou intermittent (Figure 2-4) permettrait de maximiser la performance des insectes se nourrissant de sève phloémienne (Mody et al. 2009; Tariq et al. 2012), alors que les insectes broyeurs ne seraient pas impactés par la phénologie du stress (Mody et al. 2009). Les mécanismes sous-jacents sont (i) une qualité nutritionnelle augmentée par le stress, car suite à la réduction précoce de la synthèse des protéines, les concentrations en acides aminés solubles augmentent, et (ii) un retour de la pression de turgescence, ce qui améliorerait l'accessibilité du phloème pour les insectes, par rapport aux plantes continuellement stressées (Huberty and Denno 2004; Mody et al. 2009; Simpson et al. 2012; Tariq et al. 2012).

Selon les études, les résultats sont en faveur de l'une ou l'autre des hypothèses. Cependant les hypothèses PSH et PVH ne doivent pas être vues comme des alternatives strictes, mais plutôt comme un continuum de réponses possibles des insectes phytophages au stress abiotique de la plante hôte (Price 1991). Le comportement spécifique de chaque espèce d'insecte phytophage, notamment sa préférence pour des tissus sénescents ou vigoureux, peut fortement orienter le choix de l'hypothèse la plus plausible, et ce quelle que soit la guildes du phytophage (White 2009).

Théories écologiques avec une approche de physiologie végétale

La base commune de ces hypothèses est l'existence chez les végétaux d'un compromis physiologique entre les processus de croissance, de défense et de stockage. Ces hypothèses concernent les changements d'allocation et l'importance du pool de métabolites secondaires, qui déterminent les défenses de la plante, contrairement aux hypothèses du paragraphe précédent qui se focalisent sur la performance des phytophages. Dans la suite de cet exposé, nous allons nous restreindre aux hypothèses portant sur la plasticité individuelle des défenses des plantes en fonction de leurs conditions de ressources, ce qui exclut notamment la 'resource

availability hypothesis' aussi appelée la 'growth rate hypothesis' qui est principalement utilisée pour prédire des différences entre espèces végétales (Endara and Coley 2011).

La 'Growth-Differentiation Balance Hypothesis' (GDBH) prédit que tout facteur environnemental qui réduit la croissance plus que la photosynthèse, c'est-à-dire un stress modéré, peut augmenter le pool de ressources disponibles pour l'allocation aux métabolites secondaires (Herms and Mattson 1992; Gutbrodt et al. 2012). En conditions de stress sévère, la croissance et la photosynthèse sont impactées toutes deux fortement, donc le pool de ressources disponibles pour le métabolisme secondaire n'est pas augmenté (Gutbrodt et al. 2012). En condition de confort, les plantes investissent dans la croissance plutôt que dans la défense (Herms and Mattson 1992; Gutbrodt et al. 2012). La GDBH englobe la 'Carbon-Nutrient Balance Hypothesis' (CNBH) qui elle se concentre sur les différents déficits en nutriments. Ainsi, selon la CNBH, un déficit modéré en nutriments limite la croissance plus que la photosynthèse, ce qui provoque une accumulation de carbohydrates et une augmentation du ratio C/N. Les carbohydrates accumulés en excès des besoins de la croissance sont alloués aux métabolites secondaires carbonés (ex : terpènes, composés phénoliques) et aux réserves. A l'inverse, une disponibilité importante en nutriments décroît le ratio C/N de la plante, provoquant une décroissance du métabolisme secondaire carboné, le carbone étant alloué prioritairement à la croissance. Lorsque d'autres facteurs, comme l'intensité lumineuse, commencent à limiter la croissance, l'azote assimilé en excès peut être alloué à la production de métabolites secondaires azotés (ex : alkaloides, composés cyanogènes) (Herms and Mattson 1992). Cet effet de l'équilibre carbone-nutriment de la plante hôte sur la réponse des herbivores avait déjà été mis en avant par Bryant et al. (1983). La CNBH ne permet pas de prédire la régulation de la synthèse de composés de défense présents en faibles quantités (Lerdau and Coley 2002). Une des critiques faites à la CNBH est qu'elle ne considère pas directement l'activité métabolique de la plante hôte. En effet, elle se base sur des ratios globaux (rapport C/N) pour prédire les composés métaboliques secondaires majoritaires. Cependant le coût d'un métabolite secondaire dépend non seulement de sa composition, mais aussi des coûts associés à sa synthèse, à son stockage et à sa maintenance (Hamilton et al. 2001). Ainsi une prise en compte de l'activité métabolique primaire de la plante permettrait peut-être une meilleure prédiction du fonctionnement du métabolisme secondaire.

D'autres hypothèses se basent sur le coût présumé des défenses pour la plante. L' 'Optimal Defense Hypothesis' part du postulat que les défenses sont coûteuses puisqu'elles détournent des ressources de la croissance. Ainsi les ressources allouées par les plantes à la défense de leurs organes sont proportionnelles au coût de la perte de l'organe considéré, afin d'optimiser l'investissement. Par conséquent les tissus peu critiques et faciles à remplacer sont moins défendus (Herms and Mattson 1992) que les tissus ayant une forte valeur pour la fitness de la

Chapitre 2: Techniques alternatives de gestion des pucerons en vergers de pommiers et pêchers, focus sur la régulation par la plante

plante (Hamilton et al. 2001). Selon cette hypothèse, les niveaux de croissance et de défense de plantes se développant dans des conditions similaires de disponibilité en ressources peuvent varier selon l'intensité de phytophagie subie (Herms and Mattson 1992).

Chapitre 3 : Démarche générale

Les théories écologiques décrivant les processus bottom-up de régulation des phytophages par la susceptibilité de leur plante hôte, qu'elles soient basées sur l'observation de la dynamique des populations de phytophages ou sur les réponses physiologiques de la plante aux contraintes environnementales, montrent que les interactions plante-insecte dépendent à la fois de la composition et de la croissance de la plante hôte. Ces deux aspects peuvent être modifiés par les pratiques culturales courantes : taille hivernale, apports en eau et en éléments nutritifs, qui peuvent ainsi contribuer au contrôle des populations de pucerons en verger de pêcher et de pommier. Leur utilisation doit cependant être optimisée en tenant compte des objectifs de production. Nous avons choisi de nous focaliser sur l'irrigation et la fertilisation azotée, deux intrants dont les apports doivent être diminués dans le contexte actuel (cf Chapitre 1). Dans ce chapitre, une rapide analyse bibliographique nous permettra de faire le point sur les données déjà acquises sur l'effet de ces pratiques et d'en préciser les limites. La démarche de ce travail de thèse sera ensuite explicitée à la lumière de cette analyse. Nous terminerons ce chapitre par une présentation des connaissances disponibles sur la régulation bottom-up des pucerons sur pommier et pêcher.

3.1. Limites des études portant sur les effets de l'irrigation et de la fertilisation azotée sur la performance des pucerons

L'irrigation et la fertilisation azotée affectent le fonctionnement global de la plante au travers de multiples variables dont certaines contribuent également à définir son acceptabilité par le puceron ou sa résistance (Figure 3-1). Cependant, la bibliographie montre une forte variabilité des effets de ces pratiques sur les performances des pucerons (Table 3-1). L'hétérogénéité des réponses provient en partie de la diversité des systèmes plante-pucerons étudiés. En effet, certains pucerons adaptent leur comportement à la plante hôte. Ainsi, selon la classification de Koricheva *et al.* (1998), en fonction du tissu sur lequel il préfère s'alimenter, *M. persicae* est catégorisé comme « senescence feeder » sur *Brassica oleracea* (Tariq *et al.* 2012), et comme « flush feeder » sur pêcher (Grechi *et al.* 2008). Il est donc probable qu'un même stress impacte différemment cette espèce de puceron selon la plante hôte sur laquelle il se trouve. De plus, les effets d'un même stress abiotique varient en fonction du stade phénologique de la plante hôte, certains stades étant plus sensibles que d'autres (Boege and Marquis 2005). Ils varient également en fonction des conditions de culture *i.e.* la disponibilité du milieu en éléments majeurs (Zehnder and Hunter 2009; Lawniczak *et al.* 2016) et de l'histoire de la plante qui détermine entre autres les quantités de réserves C et N pouvant être mobilisées. Celles-ci ont par exemple pu être mises à mal par un stress passé, ce qui peut

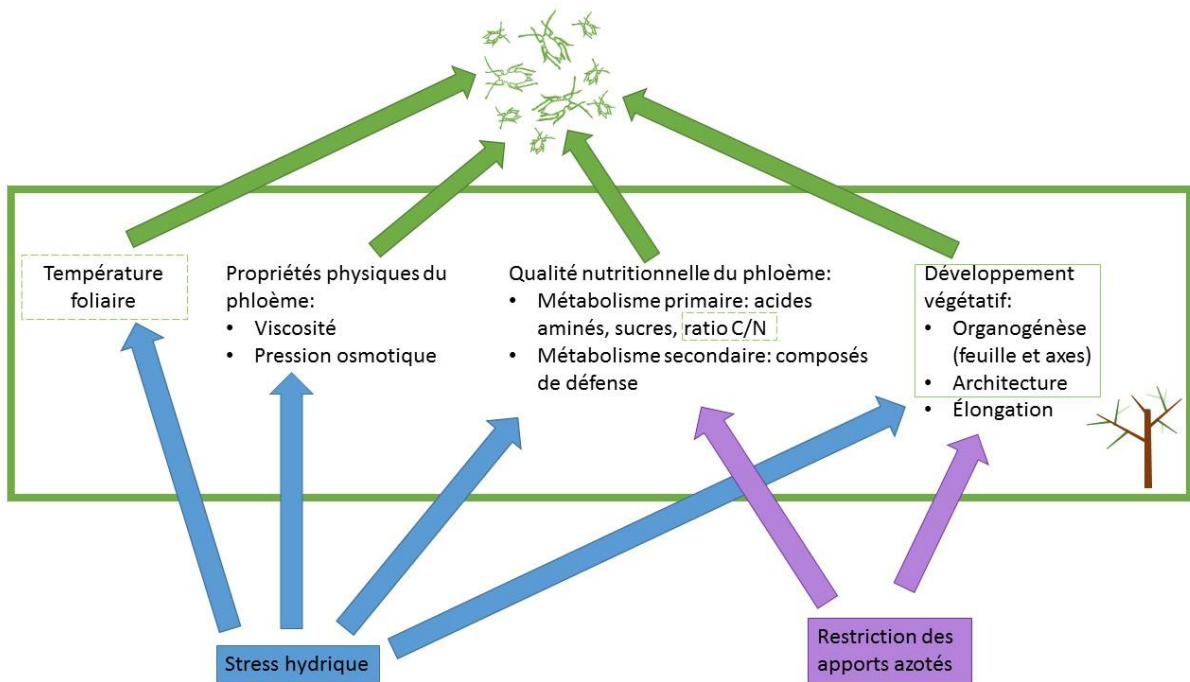


Figure 3-1: Variables du fonctionnement de la plante impactant la performance des pucerons, et modulation possible de ces variables par les pratiques culturales

compromettre la survie de la plante, s'il survient un second stress avant que les réserves ne soient reconstituées, ce qui peut prendre plusieurs années (Bréda et al. 2006).

La variabilité des résultats au sein de la littérature est également liée aux différences de définition des notions de stress et de confort entre les études. Par exemple, en ce qui concerne le stress hydrique certaines études se basent sur des calculs d'évapotranspiration et appliquent un coefficient de réduction pour les plantes en restriction. Ainsi pour De la Rosa *et al.* (2014), les arbres en confort hydrique sont irrigués à 120% de l'évapotranspiration de la culture et les arbres en restriction reçoivent 50% de l'eau apportée aux arbres en confort. D'autres études pilotent les traitements hydriques en fonction de l'observation de symptômes. Dans l'étude de Gutbrodt *et al.* (2012), les plantes bien irriguées reçoivent de l'eau tous les 1-2 jours pour assurer une humidité permanente du sol. Les plantes faiblement stressées sont arrosées tous les 2-3 jours lorsque les feuilles commencent à perdre leur turgescence et elles reçoivent 40-50% de l'eau apportée aux plantes bien irriguées. Les plantes fortement stressées ne sont irriguées que tous les 4-6 jours juste avant que les nécroses se produisent, et ne reçoivent sur la durée de l'expérience que 15-20% de l'eau apportée aux plantes témoins. On retrouve des définitions de traitement identiques dans l'étude de Mody *et al.* (2009) : les plantes faiblement stressées ne sont irriguées que tous les 3 jours environ et ne reçoivent pendant la durée de l'expérience que

40% de l'eau reçue par les témoins. Pour les plantes fortement stressées la fréquence d'irrigation est de 6 jours environ et les apports de 23% de l'eau reçue par les témoins. Dans l'étude de Oliveira *et al.* (2014), les témoins ont des feuilles turgescentes et les plantes en stress hydrique des feuilles partiellement flétries. Le potentiel hydrique du substrat est mesuré, il est en moyenne de 0.5 PSI pour les plantes en confort (apports : 600-800 mL d'eau par jour) et de 0.01 PSI pour les plantes en stress (apports : 100-300 mL par jour) (Oliveira et al. 2014).

De plus, la majorité des études ne s'intéresse qu'aux effets des pratiques culturales sur les dynamiques d'infestation, sans tenir compte de la façon dont ces effets sont médiés par la plante (Table 3-1). Alors même que les hypothèses écologiques soulignent l'importance de la vigueur de croissance et de la qualité nutritionnelle de la plante hôte sur la performance du phytophage, ces paramètres plante ne sont que rarement pris en compte (Table 3-1). Seules 6 études sur 98 portant sur les effets du stress hydrique sur la performance des insectes phytophages tiennent compte du statut hydrique de la plante hôte (Huberty and Denno 2004).

Une restriction hydrique ou azotée peut impacter simultanément plusieurs variables du fonctionnement de la plante (Figure 3-1), or c'est l'équilibre entre l'ensemble de ces variables (qualité nutritionnelle de la sève phloémienne, propriétés physiques du phloème...) qui définit l'acceptabilité de la plante hôte. Ainsi plus que la nature du stress, ce sont son intensité et sa durée (stress transitoire ou limitant pour la croissance) qui définissent l'impact sur la performance des pucerons. De plus, la combinaison de différentes pratiques peut impacter de manière synergique, additive ou antagoniste les variables physiologiques de la plante hôte (Cramer et al. 2009) qui contribuent à déterminer son acceptabilité, d'où l'importance d'étudier l'interaction entre les pratiques. Nous avons trouvé assez peu d'études s'intéressant à l'interaction entre restriction hydrique et azotée (voir : (Archer et al. 1995; Bethke et al. 1998)).

Table 3-1: Liste non exhaustive d'études sur de l'effet de restrictions hydrique et azotée sur la performance d'insectes phytophages pour différents systèmes plante-puceron (E : expérimentation, O : observation, P : population, I : individuel)

Contraintes abiotiques testées	Espèces de puceron	Plante	Variété de plante	Type d'étude (E ou O)	Durée de l'étude	Indicateur perf. (P ou I)	Mesure de croissance végétative	Effets sur la performance du phytophage	Source
Restriction hydrique (3 niveaux)	<i>Aphis craccivora</i>	Voème : <i>Vigna unguilata</i>	4 (résistance pucerons)	E	6 sem.	P	Biomasses aérienne et racinaire, rendement	Le stress hydrique réduit la performance des pucerons	(Agele et al. 2006)
Restriction hydrique (5 niveaux)	<i>Elatobium abietum</i>	<i>Picea sitchensis</i>	?	E	6-7 mois	P		Effet positif du stress hydrique intermittent de faible amplitude	(Banfield-Zanin and Leather 2014)
Restriction hydrique (2 niveaux)	<i>Diuraphis noxia</i> et <i>Rhoplosiphum maidis</i>	<i>Hordeum vulgare</i>	2 (résistance <i>D. noxia</i>)	E	Traitement + 6 h (EPG)	I		Pas d'effet significatif du traitement hydrique sur le comportement d'alimentation des deux pucerons	(Brewer and Webster 2001)
Restriction hydrique (3 niveaux)	<i>Phloemomyzus passerinii</i>	<i>Populus × canadensis</i>	2 (résistance pucerons)	E	5 sem. de stress + 5 sem. d'infestation	P	Diamètre tronc + longueur des pousses axiales et nombre de pousses latérales + Masses sèches (avant et après infestation)	Effet négatif fort niveau de restriction sur performance puceron. Selon génotype niveau intermédiaire de restriction : résistant effet positif, sensible pas d'effet	(Dardeau et al. 2015)
Restriction hydrique (2 niveaux)	<i>Lipahis erysimi</i> et <i>Brevicoryne brassicae</i>	Colza : <i>Brassica napus</i>	1	E	3 sem.	P	Surface foliaire totale et moyenne, nombre de feuilles au début et à la fin	Pas d'effet de la restriction hydrique sur <i>L. erysimi</i> Effet négatif du stress hydrique sur l'abondance de <i>B. brassicae</i>	(King et al. 2006)

Chapitre 3: Démarche générale

Restriction hydrique (3 niveaux)	<i>Myzus persicae</i> et <i>Brevicoryne brassicae</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	1	E	1 sem.	P	Masse sèche	Pas d'effet sur <i>B. brassicae</i> Effet positif de la restriction hydrique sur <i>M. persicae</i>	(Mewis et al. 2012)
Confort + 2 niveaux de stress hydrique pulsé	<i>Aphis pomi</i>	<i>Malus domestica</i>	Multiple (issus graines)	E	3 sem. de traitement hydrique + irrigation <i>ad libitum</i> : 2 sem.	P	Longueur pousse + masse sèche	La restriction hydrique a un effet négatif sur les pucerons : avec la performance maximale sur les plants non stressés et la performance minimale sur les plants faiblement stressés	(Mody et al. 2009)
Restriction hydrique (2 niveaux)	<i>Myzus persicae</i>	<i>Brassica oleracea</i>	1	E	5 sem.	P et I	Masse sèche partie aérienne	Effet négatif du stress hydrique sur les pucerons	(Simpson et al. 2012)
Restriction hydrique (4 niveaux + intermittent)	<i>Brevicoryne brassicae</i> et <i>Myzus persicae</i>	<i>Brassica oleracea</i>	1	E	4 sem.	I	Biomasse	Effet positif d'un stress hydrique intermédiaire sur la performance des pucerons par rapport stress fort ou pulsé ou confort hydrique	(Tariq et al. 2012)
Azote (4 niveaux)	<i>Sitobion avenae</i> et <i>Rhopalosiphum padi</i>	Blé : <i>Triticum aestivum</i>	4	E	20aine de jours	I		Effet positif des apports azotés sur la croissance et la fécondité des deux pucerons	(Aqueel and Leather 2011)
Azote (5 niveaux)	<i>Aphis gossypii</i>	<i>Dendranthema grandiflora</i>	1	E	20aine de jours	P		Effet positif des apports azotés sur l'abondance de pucerons	(Chau et al. 2005)

Chapitre 3: Démarche générale

Azote (3 niveaux)	<i>Chromaphis juglandicola</i>	Noyer : <i>Juglans regia</i>	Multiple (issus de graines)	E O	3 sem. pré-conditionnement + 19 j. Ponctuelle	P P		Pas d'impact du traitement azoté sur la croissance de population de pucerons. Pas de corrélation entre index de concentration en chlorophylle et la densité de pucerons au champ.	(Mace and Mills 2015)
Azote (2 niveaux 3 sources d'azote)	<i>Myzus persicae</i> et <i>brevicoryne brassicae</i>	<i>Brassica oleracea</i>	1	E	1 mois	I		Effet positif des apports en azote sur <i>M. persicae</i> et <i>B. brassicae</i> , la source de l'apport d'azote a un effet important sur la performance des pucerons	(Stafford et al. 2012)
Azote (2 niveaux)	<i>Microsiphonia artemisiae</i>	<i>Artemisia ludoviciana</i>	?	E	2 mois	P	Biomasse	Effet positif de l'apport en azote	(Strauss 1987)
Azote (3 niveaux) et Phosphore (3 niveaux)	<i>Aphis nerii</i>	<i>Asclepias syriaca</i>	?	E	12 jours	P	Biomasse (avant et après infestation)	Effet positif des combinaisons de niveaux intermédiaires N et P, ou N _{fort} -P _{faible} ou N _{faible} -P _{fort} . Effet négatif de la combinaison de niveaux forts N et P. Plus faible taux de croissance par individu N _{faible} -P _{faible} .	(Zehnder and Hunter 2009)
Restriction hydrique (2) et azote (5)	<i>Diuraphis noxia</i>	Blé : <i>Triticum aestivum</i>	1	E	3 mois	P	Masses sèches	Pas d'effet de la fertilisation. Effet positif de la restriction hydrique	(Archer et al. 1995)
Restriction hydrique (2) et azote (3)	<i>Aphis gossypii</i>	<i>Dendranthema grandiflora</i>	6	E	20aine de jours	I	Oui dans une étude compagne : hauteur plante	Fort apport en azote, impact négatif. Pas d'effet apport eau.	(Bethke et al. 1998)

3.2. Implications pour la démarche générale

L'analyse de la littérature réalisée dans le paragraphe précédent, nous a permis de mettre en évidence quelques facteurs d'hétérogénéité pouvant expliquer la variabilité des résultats observés, dont nous allons tenir compte dans notre démarche.

Les interactions plantes-insectes semblent fortement dépendantes des espèces de plante et d'insecte impliquées. Il apparaît donc intéressant de tester cette variabilité sur des plantes relativement proches (arbres fruitiers de la famille des Rosaceae), infestées par des pucerons dont les cycles de vie et les périodes d'infestation sont similaires. Cette question est pertinente dans la mesure où le déterminisme de la susceptibilité est lié au fonctionnement global de la plante, qui est très semblable chez les deux espèces : pommier et pêcher (Millard and Neilsen 1989; Jordan et al. 2013; Da Silva et al. 2014; Pallas et al. 2016). Une question subsidiaire concerne l'évaluation de la variabilité au sein d'une même espèce, qui a été réalisée dans plusieurs études sur des génotypes contrastés pour leur résistance aux pucerons (Brewer and Webster 2001; Agele et al. 2006; Dardeau et al. 2015). C'est pourquoi nous envisageons de comparer deux génotypes de pommier issus de la même descendance d'un croisement 'Starkrimson' × 'Granny Smith', mais qui développent des mécanismes de réponse au stress hydrique différents (Lauri et al. 2016). Ces comparaisons devraient nous permettre de déterminer les potentielles variables du fonctionnement affectées par la restriction hydrique et impactant le puceron.

Un second facteur de variation est lié aux effets croisés (synergie ou antagonisme) de plusieurs pratiques culturales. Les contraintes abiotiques modifient simultanément plusieurs variables de fonctionnement de la plante, ainsi les effets de plusieurs contraintes ne sont pas nécessairement additifs, ce qui rend intéressante l'étude des interactions entre contraintes. C'est pourquoi nous avons choisi de travailler conjointement sur l'effet des restrictions hydrique et azoté.

Le troisième point concerne la non prise en compte ou la mauvaise prise en compte de la plante. Les effets des apports hydrique et azoté modifiant le fonctionnement global de la plante hôte, il semble vain d'unifier les connaissances déjà acquises en cherchant à définir un schéma de réponse global des pucerons aux contraintes abiotiques sans remettre la plante au centre de l'analyse. Ce constat est le point de départ de notre étude. Dans les théories écologiques centrées sur les insectes, PSH et PVH notamment, un accent particulier est mis sur la vigueur de croissance végétative. Ainsi l'objectif premier de ce travail est d'évaluer si les effets de l'irrigation et de la fertilisation azotée sur l'abondance de pucerons sont médiés par une modulation de la croissance végétative de la plante hôte. Il en résulte un effort particulier pour l'évaluation de la croissance végétative, et moindre pour l'évaluation des statuts hydrique et trophique. Il est important de noter que les théories avec un angle physiologie végétale se

focalisent sur le métabolisme secondaire. La sève phloémienne est relativement pauvre en composés de défense, par conséquent les pucerons en ingèrent peu (Douglas 2006), c'est pourquoi nous avons choisi de ne pas nous focaliser sur les composés secondaires. D'autant plus que des dosages à l'échelle de l'organe n'auraient été que peu informatifs des concentrations en métabolites secondaires rencontrées par le puceron.

La dernière source d'hétérogénéité est méthodologique et liée à la multiplicité des définitions de stress. Nous avons donc choisi de caractériser les stress en appliquant un pourcentage de réduction des apports en eau et en azote par rapport aux arbres témoins, mais aussi en évaluant leurs effets sur la plante. Le statut azoté a été évalué par des dosages réguliers des concentrations en azote des apex en croissance et des feuilles, le statut hydrique par des mesures hebdomadaires du potentiel hydrique et de la photosynthèse.

Enfin pour des raisons pratiques, nous avons travaillé sous tunnel insect-proof, cela nous a permis de disposer d'assez d'espace d'une part pour travailler avec un effectif suffisamment important pour combiner plusieurs traitements avec un nombre de répétitions confortable et d'autre part de travailler sur des arbres greffés de taille importante. Le travail sous tunnel insect-proof nous a également permis de limiter les interactions avec les niveaux trophiques supérieurs. Cependant ce dispositif présente des inconvénients. D'une part le climat n'est pas contrôlé, on a ainsi sous le tunnel une température supérieure à la température extérieure, ce qui est contraignant pour l'étude d'organismes poïkilothermes. De plus, les stress hydriques induits ne sont pas continus et sont d'intensités variables, entre les deux expérimentations et au cours d'une même expérimentation. D'autre part, le choix de ce dispositif en extérieur limite le nombre de variables de fonctionnement de la plante, listées à la Figure 3-1, accessibles à la mesure, à la fois par manque de temps et pour des raisons techniques. C'est notamment le cas pour la composition et les propriétés physiques du phloème (variables non encadrées sur la Figure 3-1), qui n'ont pas été abordés malgré leur importance pour la performance du puceron.

3.3. Connaissances sur les processus bottom-up de nos deux systèmes d'étude

Des connaissances sont déjà disponibles sur les interactions pêcher-puceron vert et pommier-puceron cendré, qui sont les deux systèmes que nous avons choisis pour notre étude.

Sur pêcher *Myzus persicae* (Figure 3-2) se comporte en « flush feeder » et s'alimente sur des apex composés de feuilles non lignifiées (Sauge *et al.*, 1998). Une étude sur l'intensité de la taille hivernale a montré que l'abondance de pucerons est positivement liée à la vigueur de l'arbre, et plus précisément à la proportion de pousses en croissance vs rosettes, ce qui est cohérent avec la PVH (Grechi *et al.* 2008). La performance de ce puceron est également maximisée pour des niveaux intermédiaires de fertilisation azotée (Sauge *et al.* 2010). En

dessous de ces niveaux, la dynamique est corrélée à la croissance de la plante (exprimée en variations du diamètre du tronc), ainsi qu'à l'augmentation des teneurs en acides aminés et en prunasine. Au-dessus de ces niveaux intermédiaires d'azote, on a une diminution de la performance des pucerons, malgré une croissance végétative équivalente. Ces résultats ont été obtenus en chambre de culture sur de jeunes arbres (35 cm de haut), deux mois après leur greffage.

De plus, une étude a été conduite sur de jeunes arbres sur l'effet de la restriction hydrique sur l'interaction pêcher-*M. persicae*. Sur le cultivar sensible l'étude de Verdugo *et al.* (2015) montre une absence d'effet du traitement hydrique sur la performance du puceron. Ces résultats ont été obtenus sur une période de 10 jours et doivent être confirmés sur des périodes plus longues, d'autant plus que les effets du traitement hydrique sur la performance des pucerons peuvent n'être apparents qu'après un certain laps de temps (Mody *et al.* 2009; Simpson *et al.* 2012). La combinaison des traitements de fertilisation et d'irrigation sur une période plus



Figure 3-2: Photographies de *Myzus persicae* sur *Prunus persica* (A) Femelle parthénogénétique et larves (B) Enroulement de feuille avec colonie de pucerons (C) Pucerons ailés (D) Apex avec colonie de pucerons et nombre important d'exuvies

longue sur des arbres plus âgés, nous permettra (i) de confirmer que la croissance est le principal critère d'acceptabilité et que le stress hydrique n'a que peu d'effet sur la performance des pucerons et (ii) d'évaluer le potentiel effet d'interaction des traitements sur la performance des pucerons. Une de nos hypothèses de travail est donc que la restriction azotée diminue l'acceptabilité du pêcher pour *M. persicae*, principalement au travers de ses effets sur la croissance et que cet effet est potentiellement modulé par l'effet de la restriction hydrique sur les variables de fonctionnement de la plante. Les intensités de restrictions hydrique et azotée sont choisies pour limiter la croissance, sans pour autant la stopper ; en effet des restrictions capables de stopper la croissance végétative ne pourraient en aucun cas être envisageables en verger.

Sur pommier, le puceron cendré (Figure 3-3) a une préférence pour les pousses vigoureuses, il privilégie les pousses longues par rapport aux pousses courtes (Simon et al. 2011b) ce qui nous amène à penser qu'il suit également la « Plant Vigor Hypothesis ». La littérature foisonne d'études sur le contrôle top-down de ce ravageur par les ennemis naturels



Figure 3-3: Photographies de *Dysaphis plantaginea* sur *Malus domestica* (A) Pucerons sur un apex de pommier (B) Colonie de pucerons dans une feuille enroulée, mêlant individus aptères et ailés, présence de miellat (C) Pucerons aptères et ailés (D) Enroulement de feuille caractéristique

(Wyss et al. 1999b; Kehrlı and Wyss 2001; Brown and Mathews 2007; Dib et al. 2011; Dib et al. 2016a), mais relativement peu d'études portent sur la possibilité de contrôle bottom-up. Celles-ci portent sur la résistance génétique et la modulation de l'architecture de l'arbre. Plusieurs cultivars ont été identifiés comme étant tolérants à ce puceron : 'Florina querina' et 'Golden Orange' (Angeli and Simoni 2006). D'autre part, la complexité de l'architecture exprimée en nombre d'embranchements semble limiter la dissémination des pucerons au sein de la couronne à partir du foyer d'infestation primaire (Simon et al. 2011b). Les auteurs associent cela à une diminution des chances du puceron aptère, devant marcher d'un site à un autre, de trouver un site favorable (Simon et al. 2011b). Il n'existe pas, à notre connaissance, d'étude sur l'effet d'une restriction hydrique sur la performance du puceron cendré du pommier. Nous avons donc choisi de nous focaliser sur cet aspect, et ce d'autant plus que des génotypes de pommier contrastés pour leur réponse à la restriction hydrique ont été identifiés (Lauri et al. 2016). Les deux génotypes choisis pour notre étude se caractérisent par un arrêt de croissance tardif en réponse au stress hydrique (Lauri et al. 2016), ce qui permet de les utiliser pour cette étude. Cependant ils se distinguent par leurs stratégies d'adaptation au stress hydrique. Le génotype 96 (GCG : Growth Cessation Genotype) met en place une "stratégie d'échappement architectural", avec une importante proportion (>80%) d'apex en arrêts de croissance (pour des stress modéré et sévère) et un pourcentage de perte de conductivité hydraulique important (~23%) pour un stress sévère. En revanche, le génotype 26 (DAG : Drought Avoidance Genotype) met en place un "évitement du stress", avec une diminution de la conductance stomatique et de la photosynthèse.

DEMARCHE ET RESULTATS EXPERIMENTAUX



Chapitre 4 : Démarche expérimentale

Pour répondre à nos objectifs, deux expérimentations ont été mises en place : pêcher-*Myzus persicae* (2013, jeu de données existant au début de la thèse) et pommier-*Dysaphis plantaginea* (2015).

Le dispositif expérimental, ainsi que les méthodes de notation de la croissance végétative et de l'abondance de pucerons sont décrits dans l'article (4.1). Nous complétons ensuite ces informations par des éléments spécifiques aux deux expérimentations. Chaque expérimentation est ensuite décrite en détails dans les chapitres dédiés, Chapitre 5 et Chapitre 6.

4.1. Dispositif de caractérisation simultanée de l'abondance de pucerons et de la croissance végétative d'arbres fruitiers³

Aurélien ROUSSELIN, Marie-Hélène SAUGE, Marie-Odile JORDAN

Résumé

L'optimisation des pratiques culturales, en particulier l'irrigation et la fertilisation azotée, peut permettre de réduire la performance des pucerons sur les arbres et ainsi contribuer à diminuer l'usage des pesticides. La méthode proposée dans cet article permet un suivi temporel du couple arbre-puceron sous différentes contraintes abiotiques. Elle vise à caractériser, d'une part, la croissance végétative et l'état physiologique de la plante hôte et d'autre part, le niveau d'infestation des pucerons. Cette méthode se base sur des notations en classe d'abondance des pucerons et sur des descriptions architecturales de l'arbre. Elle a été appliquée aux couples pêcher-*Myzus persicae* et pommier-*Dysaphis plantaginea*.



Figure 4-1 Dispositif de pommiers en pots sous tunnel insect-proof

³ Chapitre accepté (29/09/16) pour publication dans un numéro spécial Entomologie appliquée des Cahiers des Techniques de l'INRA

Mots-clés. Architecture, croissance végétative, niveau d'infestation, pratiques culturales, fertilisation, irrigation, bottom-up

Introduction

Les pucerons sont des ravageurs majeurs des arbres fruitiers. Pour rendre les arbres moins favorables à leur développement, tout en réduisant l'usage des pesticides, un levier possible est l'utilisation de pratiques culturales adaptées. En effet, les contraintes abiotiques ont un impact sur la physiologie et la croissance de l'arbre, qui peuvent via des processus bottom-up impacter les pucerons. Pour étudier les effets des combinaisons de pratiques culturales sur la sensibilité de la plante-hôte, il est nécessaire d'évaluer comment le fonctionnement global de la plante structure les interactions arbre-puceron. Pour ce faire, nous avons combiné au sein d'un même dispositif expérimental deux méthodes de suivi dynamique. Nous avons couplé un suivi hebdomadaire de l'abondance de pucerons (Grechi et al. 2008) à des descriptions architecturales pour suivre la croissance végétative de l'arbre (Médiène et al. 2002). Nous avons complété ces suivis par des mesures ponctuelles de caractérisation de l'état physiologique de l'arbre : potentiel hydrique foliaire, photosynthèse et dosages biochimiques.



Figure 4-2: Araignée consommant un puceron *Myzus persicae*

Matériel et méthodes

Le dispositif expérimental

Pour empêcher la propagation des pucerons de l'essai vers l'extérieur, l'expérimentation est réalisée sous tunnel insect-proof (Figure 4-1). Par rapport à la réalisation d'essais d'infestation sous manchon, le tunnel présente l'intérêt de ne pas contraindre la croissance de la branche infestée et de laisser les pucerons libres d'infester d'autres branches de l'arbre. D'autre part, d'un point de vue pratique, les observations sont plus aisées que sous manchon.

De plus, le tunnel permet de limiter la présence de prédateurs : araignées (Figure 4-2), forficules, coccinelles ou syrphes et de

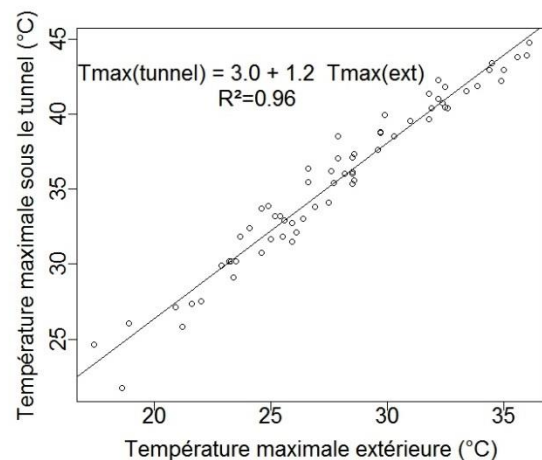


Figure 4-3: Corrélation entre les températures maximales journalières extérieures et sous le tunnel insect proof sur la période du 04/05/15 au 07/07/15

parasitoïdes des pucerons. Afin de réduire l'impact des prédateurs et des parasitoïdes, un traitement de désinfection couplant des insecticides et des herbicides est réalisé avant la mise en place des arbres sous le tunnel. Les autres mesures d'exclusion incluent le bâchage du sol du tunnel, le désherbage manuel des abords et l'application autour du tronc de glue arboricole (qui empêche l'ascension des arthropodes : prédateurs et fourmis) avant l'infestation. L'inconvénient majeur du tunnel est qu'il provoque une augmentation de la température par rapport à l'extérieur, ce qui peut réduire les périodes durant lesquelles la température est optimale pour le développement des pucerons. L'impact est majeur sur les températures maximales journalières (Figure 4-3), avec en moyenne sur la durée de l'expérimentation une différence de 7,7°C, qui induit un risque de mortalité des pucerons. En effet, pour *Myzus persicae* les températures de confort et létale sont respectivement de 25°C (Hazell et al. 2010) et 42°C (Alford et al. 2012).

Les plantes

Les plantes sont cultivées en pots (Figure 4-1) sous le tunnel insect-proof. Quatre modalités de nutrition hydrominérale ont été appliquées résultant de la combinaison de deux niveaux d'azote et deux niveaux d'irrigation, chaque pot est équipé d'un goutteur pour l'irrigation et d'un goutteur pour la fertilisation. Les pots sont bâchés afin d'éviter des apports non contrôlés d'eau via les précipitations. Les deux niveaux azotés sont choisis de façon à ce que le niveau N⁺ corresponde à un confort, et le niveau N⁻ à des apports plus faibles sans pour autant provoquer un arrêt de la croissance végétative. Le niveau d'irrigation H⁺ est ajusté pour correspondre aux besoins des plantes en fonction des conditions climatiques, pour cela le drainage est mesuré sur certains pots. Le niveau H⁻ correspond à 50% des apports du niveau H⁺. La répartition des traitements n'est pas totalement randomisée. En effet, les modalités sont arrangées selon des lignes diagonales afin d'éviter l'encombrement du sol en tuyaux. L'inconvénient de la culture en pot est la chute occasionnelle des arbres en cas de fort mistral. Un système de tuteurage, autre que le simple tuteur dans le pot, aurait sans doute pu pallier le problème.

Les traitements phytosanitaires sur les arbres (bouillie bordelaise à l'automne et au débourrement) et aux abords du tunnel sont limités au maximum afin d'éviter toutes interférences avec l'expérimentation.

Les pucerons

Les pucerons sont élevés en laboratoire sur des variétés d'arbres fruitiers sensibles aux pucerons (pêchers GF305 ou pommiers M9 selon l'expérimentation) dans des conditions favorisant la reproduction parthénogénétique (20°C +/- 1°C, 60-70% d'humidité relative et une photopériode de 16 h). L'infestation des plants expérimentaux est réalisée à partir d'un nombre faible d'individus. Afin de ne pas introduire de biais lié à des différences de performance

intrinsèque des pucerons, les individus sont tous issus d'une même lignée clonale. De plus, l'infestation est réalisée avec des pucerons adultes d'âge homogène. Pour ce faire, on dépose des adultes durant 48 h sur des plants d'élevage, puis on les retire, les larves pondues durant ce laps de temps servent à l'infestation une fois adultes.

Modalités d'infestation

La veille de l'infestation, les plants d'élevage sont déposés dans le tunnel afin que les pucerons s'acclimatent aux conditions expérimentales. Les plants sont positionnés sur un plateau avec de l'eau afin d'éviter de disséminer des pucerons sous le tunnel. L'infestation est réalisée le matin : les pucerons sont déposés sur l'apex d'une branche vigoureuse à l'aide d'un pinceau humide ; cinq pucerons sont déposés par branche infestée. L'infestation est une phase critique de l'expérimentation, il faut contrôler la présence des pucerons sur les arbres dans les jours qui suivent et réinfester si nécessaire.

Notation et mesures

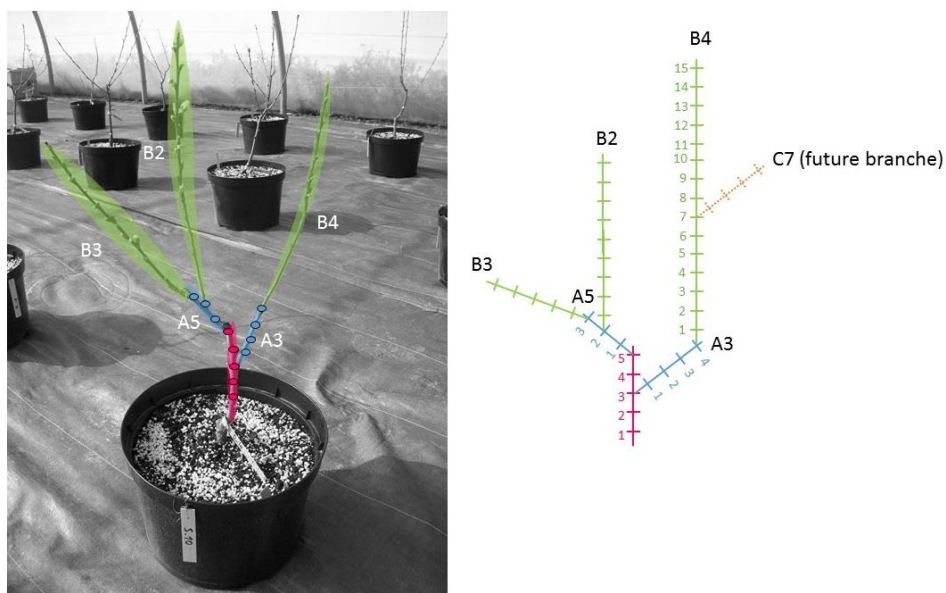


Figure 4-4: Schéma explicatif de la méthodologie de description de l'architecture des arbres

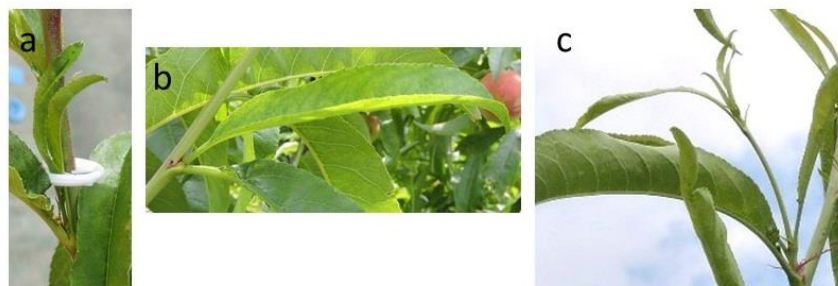


Figure 4-5: Différents types de structures. a) ébauche ; b) rosette ; c) axe



Figure 4-6: Utilisation de bagues de couleur, positionnées toutes les cinq feuilles pour faciliter les notations de croissance végétative

L'architecture de départ de chaque arbre est décrite de façon à individualiser chaque structure par son ordre de ramification et sa position sur son axe père. Ainsi les structures s'insérant sur l'axe principal du greffon (ou tronc) sont notées A. Elles peuvent, à leur tour, donner naissance à des structures filles notées B, qui elles-mêmes vont porter des structures notées C, etc. Cette lettre, donnant l'ordre de ramification, est complétée par un chiffre, qui correspond au rang de l'unité de croissance de la structure mère sur laquelle s'insère la structure fille. Par exemple, l'axe A3 s'insère sur la troisième unité de croissance décomptée depuis la base du tronc (Figure 4-4). Pendant l'expérimentation, de nouvelles structures feuillées apparaissent sur l'architecture existante. Ces structures correspondent au développement d'un bourgeon axillaire. Elles peuvent être de trois types : (i) ébauche (Figure 4-5a), tant que les feuilles préformées dans le méristème apical ne sont pas totalement étalées, (ii) rosette (Figure 4-5b), lorsque ces feuilles préformées sont étalées, (iii) axe (Figure 4-5c), lorsque le méristème apical est actif. A leur apparition, les différentes structures sont positionnées dans l'architecture selon la méthode précédemment expliquée. Ainsi un axe se développant sur la 7^e unité de croissance de l'axe A3B4 sera noté A3B4C7 (axe hypothétique en orange sur le schéma de la Figure 4-4).

On effectue une notation par semaine en indiquant pour chacune de ces nouvelles structures l'état de développement : ébauche, rosette ou axe (Figure 4-5), le nombre de feuilles, ainsi que la position et le nombre de feuilles des éventuelles ramifications secondaires. Lors des notations, des bagues de couleur sont positionnées toutes les cinq feuilles avec un code couleur (Figure 4-6) afin de faciliter les comptages ultérieurs et éviter les erreurs dues à des chutes de feuilles.

Suite à l'infestation, l'abondance des pucerons est également évaluée de façon hebdomadaire. Les premiers comptages sont exhaustifs, puis lorsque cela n'est plus possible, on passe en notation par classe d'abondance. On attribue à chaque axe une classe d'abondance (Table 4-1) selon

une échelle établie par Leclant et Remaudière (1970) et adaptée de l'échelle arbre à l'échelle rameau par Grechi et al. (2008).

D'autres mesures hebdomadaires visent à caractériser l'état physiologique des plantes. Des mesures de potentiel hydrique foliaire au midi solaire sont réalisées à l'aide d'une chambre à pression (bombe de Scholander) sur une feuille (dernière feuille étalée d'un axe, soit la feuille étalée la plus proche de l'apex) par arbre. En parallèle, et sur les mêmes arbres, des mesures de photosynthèse sont réalisées à l'aide d'une pince à photosynthèse ADC de type LCA-4.

Enfin, des prélèvements périodiques d'apex et de feuilles non infestés à des fins de dosages biochimiques (carbone et azote totaux, sucres, acides aminés, phénols) sont réalisés en immergeant les organes dans de l'azote liquide immédiatement après leur ablation. Ceci permet de comparer à un instant *t* la composition d'organes de même âge d'arbres différenciés par leur statut trophique et/ou leur degré d'infestation. Toutefois, la faible fréquence des prélèvements ne permet pas d'appréhender la variabilité temporelle de ces données. Ces prélèvements ont un impact minimal sur la dynamique de populations de pucerons. En effet, aucun individu n'est supprimé lors du prélèvement. De plus, la faible quantité de matière prélevée n'a qu'une incidence minime sur le fonctionnement de la plante.

Table 4-1: Classes d'abondance de pucerons par axe

Classe d'abondance	Effectif
0	0
1	1 à 5
2	6 à 25
3	26 à 125
4	126 à 625
5	Plus de 625

Exemples de résultats sur pêcher-*Myzus persicae*

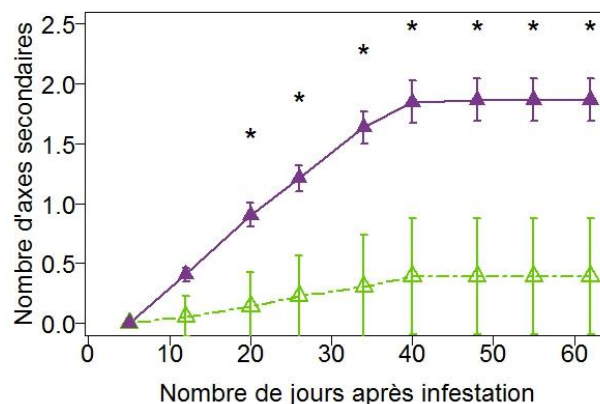
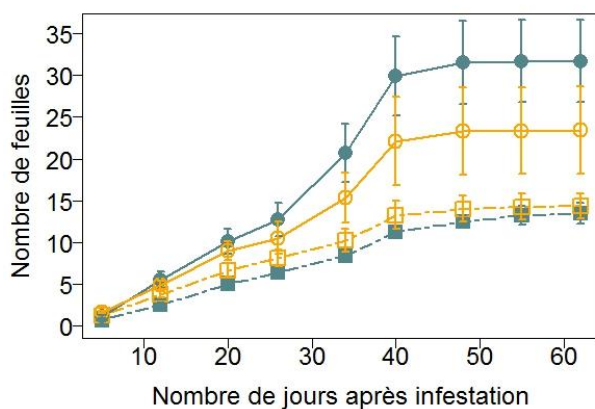
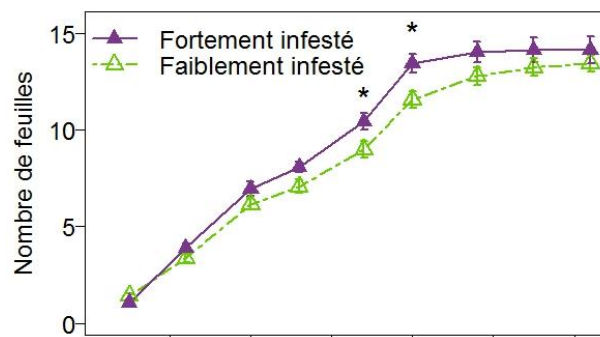
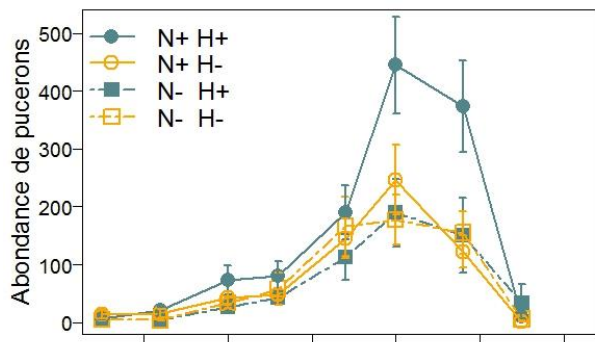


Figure 4-7: Dynamiques d'abondance puceron et de croissance végétative (moyenne \pm erreur standard) des axes suivis en fonction des différentes modalités hydrominérales: N⁺/N⁻ niveau d'apport azoté, H⁺/H⁻ niveau d'apport hydrique

Figure 4-8: Dynamique de croissance végétative (moyenne \pm erreur standard) en nombre de feuilles de l'axe principal et nombre de ramifications secondaires selon la classe d'abondance de pucerons au moment du pic d'infestation (faiblement infesté < 125 pucerons, fortement > 125 pucerons).

Ce dispositif permet de suivre de façon dynamique la croissance végétative et les populations de pucerons durant la période d'infestation pour différentes modalités hydrominérales (Figure 4-7).

De plus, il permet de mettre en évidence l'impact de la croissance architecturée sur la sévérité de l'infestation. Ainsi, les rameaux fortement infestés sont significativement plus longs, et à partir de 20 jours après l'infestation sont significativement plus ramifiés que les rameaux faiblement infestés pour les deux dates correspondant au pic d'infestation (Figure 4-8).

Ce dispositif permet également d'étudier les dynamiques et les patrons de ramifications (Figure 4-9). Ainsi, le développement des bourgeons axillaires est plus important sur les rameaux fortement infestés pour l'ensemble des structures secondaires. La dynamique

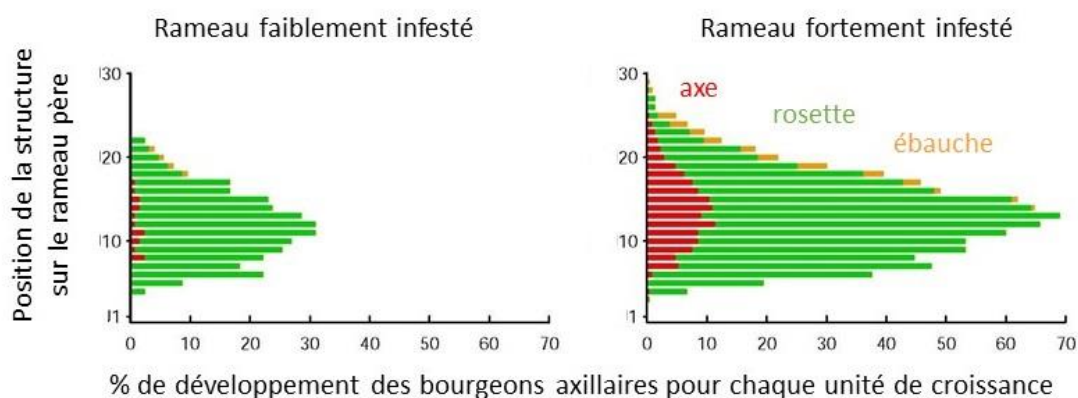


Figure 4-9 Répartition en pourcentage des différents types de structures axillaires sur les proleptiques classés selon le niveau d'infestation au moment du pic d'abondance

temporelle est également affectée, avec un développement d'ébauches jusqu'à une période tardive.

Conclusion et perspectives

La combinaison de ces deux suivis, sous tunnel insect-proof, est un bon outil pour l'étude des relations plantes-insectes phytophages, en l'absence de troisième niveau trophique. Il a été appliqué avec succès sur deux couples arbre fruitier-puceron : pommier *Dysaphis plantaginea* et pêcher *Myzus persicae*. Cette méthode pourrait être déclinée pour d'autres couples arbres-bioagresseurs pour lesquels on souhaite tester une relation entre croissance végétative et dynamique d'infestation. Elle peut également permettre d'étudier la dynamique spatiale d'infestation au sein de l'arbre.

Remerciements

Les auteurs remercient Pierre Rouet, Jean-Philippe Lacroze et Valérie Serra pour leur aide. Ces expérimentations ont reçu le soutien financier du projet APMed - ARIMNET (ANR-12-AGR-0001). La thèse d'A. Rousselin est financée par l'INRA et la région PACA (Provence-Alpes-Côtes d'Azur).

4.2. Informations complémentaires sur les deux expérimentations

Prunus persica – Myzus persicae : expérimentation 2013

Les pêchers, de la variété Magique®, ont été greffés en février 2011, ils étaient donc dans leur troisième année de végétation lors de l'expérimentation (Figure 4-10). Dans cette expérimentation nous avons travaillé sur les facteurs azote et eau (voir Table 4-2 pour les effectifs). Pour les traitements azotés, les arbres ont été pré-conditionnés à l'automne 2012 par

des apports différenciés. Les apports azotés du printemps sont également contrastés entre les niveaux N⁺ et N⁻. Les traitements hydriques sont initiés le 3 mai 2013, soit le lendemain de l'infestation.

L'infestation a été réalisée le 2 mai 2013 : deux pousses de l'année préalablement identifiées ont été infestées (voir les rameaux entourés en orange sur Figure 4-10). L'abondance des pucerons et la croissance des deux pousses infestées par arbre ont été suivies jusqu'à début juillet, ce qui correspond au départ des pucerons de leur hôte primaire. Ainsi pour cette étude, l'individu statistique sera le rameau moyen de l'arbre, obtenu en moyennant les données des deux rameaux suivis. Cette étude est présentée en détail dans le chapitre 5.

Table 4-2: Effectif en nombre d'arbres de l'expérimentation 2013 pêcher-*Myzus persicae*

Apports azote\eau	H ⁺	H ⁻
N ⁺	13	12
N ⁻	9	10

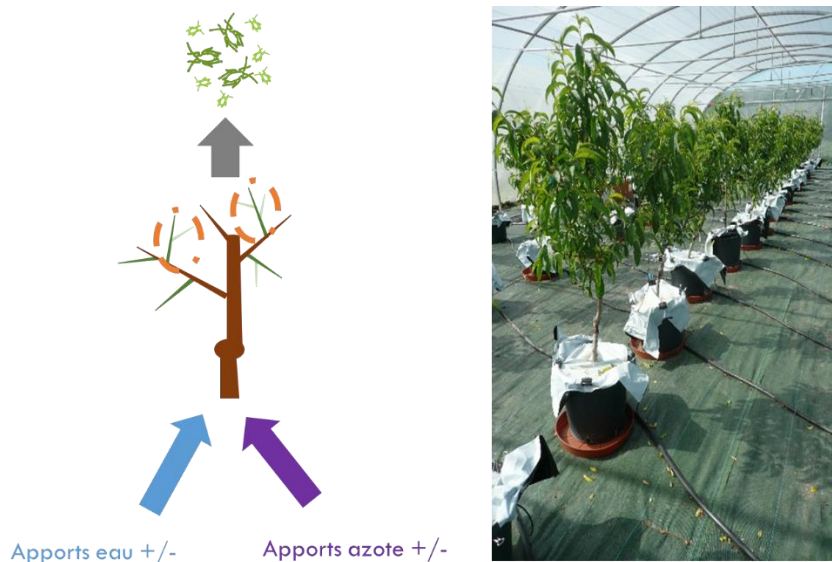


Figure 4-10: Expérimentation 2013 pêcher-*Myzus persicae*. Les deux facteurs testés sont les apports hydriques et azotés. Les rameaux entourés en orange sur le schéma correspondent aux deux rameaux infestés et suivis par arbre.

Malus domestica – Dysaphis plantaginea : *expérimentation 2015*

Les pommiers, de deux génotypes contrastés pour leur réponse au stress hydrique ont été greffés en mars 2014, ils étaient donc dans leur deuxième année de végétation lors de l'expérimentation (Figure 4-11). Dans cette expérimentation nous avons travaillé sur les effets

du génotype de l'arbre et de l'alimentation en eau (voir Table 4-3 pour les effectifs). Les traitements hydriques ont été initiés le 24 avril 2015. Les arbres de la modalité H⁻ ont reçu 50% des apports des arbres de la modalité H⁺. Nous avons vérifié de façon ponctuelle la quantité d'eau de drainage des arbres, afin d'ajuster les apports.

L'infestation a été réalisée le 28 avril 2015. Dans cette expérimentation, le rameau infesté était le rameau apical (entouré en orange sur le schéma Figure 4-11). L'ensemble des structures proleptiques a été suivi individuellement pour la croissance végétative et l'abondance de pucerons durant toute la durée de l'expérimentation. Dans cette étude, les données ont été analysées à deux échelles, celle du rameau infesté (relativement équivalente à l'échelle utilisée pour l'étude 2013) et celle de l'arbre entier. Cette étude est présentée en détail dans le chapitre 6.

Table 4-3: Effectif en nombre d'arbres de l'expérimentation 2015 pommier-*Dysaphis plantaginea*

Variété\ apport eau	H ⁺	H ⁻
V26-> DAG	12	12
V96->GCG	12	12



Figure 4-11: Expérimentation 2015 pommier- *Dysaphis plantaginea*. Le rameau entouré en orange représente le rameau apical infesté. Dans cette étude on teste l'effet de l'irrigation et du génotype de l'arbre sur les interactions arbres-pucerons. Les deux génotypes testés sont V26 (DAG) et V96 (GCG).

Chapitre 5 : Nitrogen and water supplies affect peach tree–green peach aphid interactions: the key role played by vegetative growth⁴



⁴ Accepted in 2 June 2016 and published in *Agricultural and Forest Entomology* (2016), DOI : 10.1111/afe.12168

Chapitre 5 : Nitrogen and water supplies affect peach tree–green peach aphid interactions: the key role played by vegetative growth

Nitrogen and water supplies affect peach tree–green peach aphid interactions: the key role played by vegetative growth

Aurélie Rousselin, Marie-Hélène Sauge, Marie-Odile Jordan, Gilles Vercambre, Françoise Lescourret and Daniele Bevacqua

5.1. Abstract

1. The availabilities of water and nitrogen resources are among the main abiotic factors modifying plant physiology and growth. Consequently, via bottom-up processes, they also can have an impact on the performance of herbivorous insects. However, the extent to which the modification of plant growth is responsible for such an impact remains unclear.

2. We conducted a factorial experiment quantifying *Myzus persicae* aphid abundance and the vegetative growth of *Prunus persica* peach tree shoots under contrasting levels of nitrogen and water supplies. We used a hierarchical analysis of multiple regression models to determine whether the consequences of the availability of nitrogen and water on aphid abundance could be the result of a modification of plant growth.

3. Maximum aphid abundance was achieved under nitrogen and water comfort conditions. The best model explaining variance in aphid abundance took into account vegetative growth and water supply, as well as their interaction.

4. The results of the present study suggest that a higher nitrogen supply increases aphid abundance by fostering plant growth. Additionally, the positive response of aphid abundance to vegetative growth is lower in the case of water restriction because, under such conditions, aphids cannot take full advantage of tree vigour. Such a result provides new insights into aphid control in agriculture, as well as on the possible effects of climate change.

Keywords Bottom-up control, cultural practices, fertilization, irrigation, *Myzus persicae*, pest management, plant stress hypothesis, plant vigor hypothesis.

5.2. Introduction

Aphids are major agricultural pests that cause crop losses by manipulating host plant physiology (Goggin 2007). Many studies in recent decades have focused on the possible use of predators and parasitoids to control the abundance of aphids via top-down processes (Aquilino et al. 2005; Snyder et al. 2006; Dib et al. 2010b). At the same time, resource availability is known to shape the structure and functioning of trophic ecosystems (Vince et al. 1981; Gonthier et al. 2013). In particular, mineral nutrients and water can affect both plant quality and quantity as a food resource (Coley et al. 1985; Farooq et al. 2009; Bubier et al. 2011) and thus have an impact on aphid abundance (Kyto et al. 1996; Awmack and Leather 2002). Price (2002) suggested that bottom-up control would be more effective and persistent in controlling pest populations than top-down control.

The plant vigor hypothesis (PVH) states that insect performance is favoured on fast growing plants or organs (Price 1991). By contrast, the plant stress hypothesis (PSH) states that it is favoured on slow growing stressed plants because these plants undergo biochemical changes that can increase their nutritional quality (White 1984; Larsson 1989). In subsequent years, the PSH has been refined to take into account stress phenology and intensity. It has developed into two variants: the plant pulsed stress hypothesis (PPSH), stating that intermittent water stress favours phloem feeders (Huberty and Denno 2004), and the insect performance hypothesis, stating that insect performance is favoured by intermediate levels of stress (Larsson 1989). Eventually, all of these hypotheses have been shown to hold for different plant–insect systems under contrasting abiotic conditions (Koricheva et al. 1998). The PVH and PSH represent the two extremities of a range of possible responses of insect performance to plant stress (Price 1991; Koricheva et al. 1998) and reflect the existence of two trophic sub-guilds: the flush-feeders favoured by plant vigour and the senescence-feeders favoured by stressed plants (White 2015). Thus, the effect of plant stress on phytophagous insect probably depends on the considered plant–insect system, on the intensity and the nature of the abiotic stress, and on the plant status that varies with the seasons.

Most studies on bottom-up control in plant–aphid interactions have been conducted on annual herbaceous plants (Archer et al. 1995; Bethke et al. 1998; Simpson et al. 2012). However, aphids also severely impair perennial crops such as fruit trees. In horticulture, practices such as pruning or fertilization have been shown to affect aphid infestations. Highly pruned peach trees, with a larger proportion of fast growing shoots were shown to favour aphid populations (Grechi et al. 2008). Sauge *et al.* (2010) obtained on peach trees different leaf nitrogen concentrations by varying levels of nitrogen application and found that aphid abundance was maximum for intermediate concentrations. Irrigation is another factor

Chapitre 5: Nitrogen and water supplies affect peach tree–green peach aphid interactions: the key role played by vegetative growth

controlling plant vigour and possibly aphid abundance. Moreover, investigating the role of irrigation is particularly interesting when considering that drought events are likely to increase in frequency and intensity as a result of climate change (Porter et al. 2014).

The mechanisms underpinning the effect of nitrogen and water supplies on aphid abundance are not straightforward. According to the PVH, increased levels of both resources are expected to increase aphid abundance by boosting shoot growth and hence the quantity of resource for aphids. Yet they are also likely to alter phloem sap accessibility and quality (amino acid profile, sugar concentrations and composition in defensive compounds). Moreover, nitrogen and water interact with each other. Water stress can alter nitrogen assimilation by impairing soil nitrogen availability and also by diminishing photosynthesis (He and Dijkstra 2014). Despite the existence of such interactions between nitrogen and water supplies, to our knowledge, only three studies have analysed both factors simultaneously and their potential interaction on aphid abundance (Archer et al. 1995; Bethke et al. 1998; Matis et al. 2008). Moreover, even if those abiotic factors are linked to plant growth, none of these studies have explicitly considered plant growth at the same time as studying the effects of nitrogen and water on aphid abundance.

Among the 4000 aphid species in the world (Dedryver et al. 2010), the most economically important as a crop pest is the green peach aphid *Myzus persicae* (Sulzer) (Bass et al. 2014), which is a cosmopolitan and highly polyphagous species (Van Emden et al. 1969). Green peach aphid is responsible for leaf damage and reduced vegetative growth of its secondary hosts and peach trees. It is also a vector of the Plum Pox virus, which is the agent of the lethal sharka disease. Green peach aphid eggs hatch in spring on the primary host *Prunus persica* (L.) Batsch and new individuals clonally reproduce on growing shoots with a generation time of 1 week at 20°C. In the second half of June, aphids abandon peach trees to migrate towards summer secondary hosts (e.g. potatoes, brassicas, beans, sugar beets, tobacco) where they continue to clonally reproduce. In autumn, they undergo sexual reproduction and lay overwintering eggs on peach trees. Green peach aphid control mostly relies on chemical pesticides and the identification of alternative methods of management is crucial because of its ability to evolve resistance to insecticides (Bass et al. 2014) and because of human health and environmental issues.

In the present study, the peach tree–green peach aphid system is used as a case study to investigate whether management practices could be used to lower the susceptibility of a perennial fruit crop to aphid infestations through bottom-up processes. Accordingly, we tested whether aphid abundance is affected by the combined effects of nitrogen fertilization and irrigation, and also whether observed effects might be mediated by the modulation of vegetative growth.

5.3. Materials and methods

Experimental design and plants

Experiments were conducted in spring/summer 2013 with peach trees, cultivar Magique® (a commercial variety of white nectarine susceptible to *M. persicae*) grafted in February 2011 on Avimag-Cadaman rootstock. The plants had a mean \pm SD height of approximately 1.30 ± 0.1 m, with a trunk diameter of 21.5 ± 2.0 mm and they were grown in 30-L pots containing a 50% mix of pozzolan and peat. In autumn 2012, nitrogen (N) treatment differentiation started. After this pre-conditioning treatment, whole tree nitrogen concentrations were determined by destructive sampling of 16 trees, low N trees had 1.15 ± 0.10 % N dry mass (mean \pm SD) and high N trees had 1.40 ± 0.14 % N dry mass. Plants were hand-pruned in January 2013 and settled under an insect-proof shelter in March. From the end of April (corresponding to approximately 30 days after bloom) to the end beginning of July (corresponding to the end of the first vegetative growth flush), plants were subjected to four different treatments obtained by combining two levels of nitrogen (N^+ , N^-), carrying on the treatments initiated in autumn 2012, and two levels of water (H^+ and H^-) supplies. Fertilization level N^+ corresponded to 10 applications of calcium nitrate solution, from 25 April 2013 to 26 June 2013, for an overall quantity of 22.2g N per plant. Fertilization level N^- corresponded to two applications of fertilizer, applied on 5 and 19 June 2013, for an overall quantity of 2.0 g N per plant. Differentiation of irrigation treatments started on 3 May 2013. Plants in the H^+ treatment were daily irrigated until run-off and those in the H^- treatment received a halved water supply. The sample of 44 plants was divided as: 10 plants under N^-H^- treatment, 9 under N^-H^+ , 12 under N^+H^- and 13 under N^+H^+ . Two growing leafy shoots (GLS) per plant were selected to monitor aphid abundance and vegetative growth in the 2013 growing season.

Aphid rearing and infestation

The *M. persicae* aphid colony was established from a single clone (Mp06) of a female collected on a peach tree in March 2013 in Avignon to ensure that individuals did not genetically differ with respect to their fitness. Aphids were reared in the laboratory on the susceptible peach cultivar GF305 under parthenogenesis-inducing conditions (between 19–21°C, 60–70% relative humidity and a 16:8h light/dark photocycle). On 2 May 2013, five age-synchronized wingless adult females were placed on each of the two monitored GLS per plant. At the infestation date, the GLS had 9.03 ± 1.28 leaves (mean \pm SD). Aphids were then free to disperse all over the plant.

Chapitre 5: Nitrogen and water supplies affect peach tree–green peach aphid interactions: the key role played by vegetative growth

Data collection

During the study period, leaf samples from plants subjected to the different treatments were taken to measure the leaf nitrogen concentration and water potential with the aim of evaluating the effects of the treatments on plant physiology. The leaf nitrogen concentration was measured for each tree on dry leaf samples on three dates (7 May, 5 June, 9 July). Midday leaf water potential was measured on a subsample of plants for each treatment combination. The measurements were performed with a Scholander pressure bomb in one last fully expanded leaf per sampled plant (provided that it was a sunny day) on seven different dates (14 May, 25 May, 30 May, 7 June, 13 June, 26 June, 1 July).

Vegetative growth and aphid population abundance were weekly measured on monitored GLS between 29 April and 2 July. Time t is expressed as the number of days after infestation (DAI) and ranged between $t=0$ DAI (2 May) and $t=61$ DAI (2 July). Vegetative growth at time t was estimated by counting the number of leaves on GLS (main shoot plus possible axillary shoots, coloured rings were placed every five leaves to prevent underestimation of vegetative growth as a result of fallen leaves), which allowed calculation of both daily vegetative growth (DVG), obtained as the increase in the number of leaves between two sampling dates divided by the number of days between samplings, and cumulative vegetative growth (CVG), obtained as the increase in the number of leaves between $t=0$ and time t .

Aphid abundance, at time t , was estimated *in situ* by assigning one class of infestation to each monitored GLS: C0 (no aphids), C1 (from 1 to 5 individuals), C2 (from 6 to 25 individuals), C3 (from 26 to 125 individuals), C4 (from 126 to 625 individuals) and C5 (more than 625 individuals), which was conducted in accordance with the method proposed by Leclant and Remaudière (1970) and adapted by Grechi *et al.* (2008). *A posteriori*, aphid abundances were estimated by randomly drawing a value from a uniform distribution with boundaries relevant to the different classes. Such a procedure was repeated for every GLS and for every sampling date to reproduce actual variability that cannot be fully appreciated by using categorical variables. For example, for a GLS with a recorded infestation of class C3 at time t , the value of aphid abundance was randomly drawn from a uniform distribution between 26 and 125. Observations permitted instant and cumulative aphid abundance (IAA and CAA, respectively) to be obtained. CAA was calculated by summing up weekly records of aphid abundance. Note that CAA has no biological meaning because it increases with the frequency of observations, although it is a good indicator for comparing variations between trees with respect to overall aphid abundance.

Chapitre 5: Nitrogen and water supplies affect peach tree–green peach aphid interactions: the key role played by vegetative growth

Statistical analysis

Measurements of vegetative growth and aphid abundance, observed over two GLS, were averaged to create an average GLS per plant.

Because measurements of vegetative growth (DVG and CVG) and aphid abundance (IAA and CAA) repeated in time did not meet the assumption of circularity (i.e. the variance of the difference between any pair of times is the same), repeated measurements for each plant were collapsed into single response variables to perform an analysis of variance (anova), as suggested in Gotelli and Ellison (2013). Because temporal variation of CAA and CVG can be well described by a sigmoid curve ($y = \frac{a}{1+e^{b(c-t)}}$, where t is time expressed in DAI and y corresponds to the observed CAA or CVG), the single response variables, for any plant, were computed as the integrals from $t=0$ to $t=61$ DAI, of the sigmoid curves fitted to CAA and CVG, respectively. The parameters a , b and c of the sigmoid curve were found by minimizing the sum of squared errors between observed and predicted CAA and CVG at different t (function ‘nls’ in R). We refer to the single response variables relevant to aphid abundance and vegetative growth, respectively, as CAA_c and CVG_c . For IAA and DVG, single response variables were computed as the observed maximum value during the experimental period for each plant. Two-way anova was performed to test the possible effects of N and H treatments on plant growth (CVG_c and maximum DVG), aphid abundance (CAA_c and maximum IAA) and midday leaf water potential. Kruskal–Wallis tests were used when the data did not meet the assumptions of the anova. Axillary axes at the end of the experiment and leaf nitrogen concentrations were analyzed by Kruskal–Wallis test with the four treatments. The Kruskal–Wallis test statistic is denoted H_{kw} to avoid any confusion with the irrigation treatment H. When significant, the Kruskal–Wallis tests were followed by nonparametric Tukey multiple comparisons (function ‘nparcomp’ in R).

Finally, to test whether the effect of N and H treatments on cumulative aphid abundance could be ascribed to a modification of plant growth, a hierarchical analysis of multiple regression models was performed with plant growth as the continuous variable and N and H treatments as the categorical variables. All possible models were ranked according to second-order Akaike information criterion (AICc). According to Burnham and Anderson (2004), AICc rather than AIC was used because $n/K < 40$, where K is number of estimable parameters and n is the sample size, which are equal to 8 and 44, respectively, in the present study. To assess the stability of the model selection procedure results, a randomization test based on jackknifing was performed: the data were sub-sampled by systematically deleting one plant and then the best model for each sub-sample was selected, hence obtaining the distribution probability of best models.

Chapitre 5: Nitrogen and water supplies affect peach tree–green peach aphid interactions: the key role played by vegetative growth

All data analyses were carried out using *r*, version 3.2.2 (R Core Team 2015) and the additional packages ‘*coin*’, ‘*nparcomp*’ and ‘*AICmodavg*’.

5.4. Results

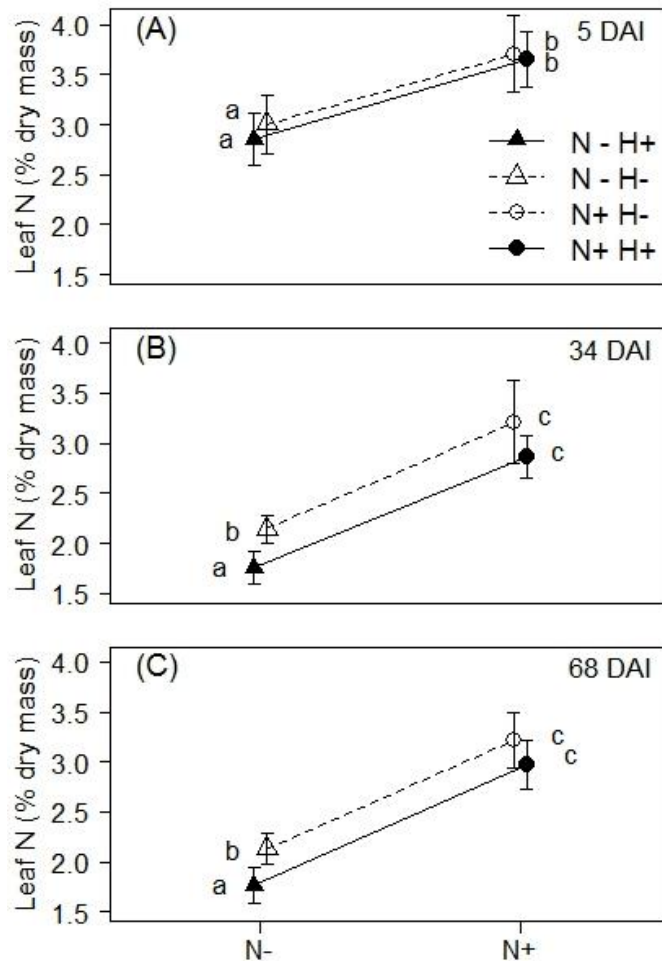


Figure 5-1 Leaf nitrogen concentration (mean \pm SD) for different nitrogen (N) and water (H) supplies at three sampling dates. Results of a Kruskal–Wallis test on the four treatment combinations. (A) Five days after infestation (DAI): $H_{kw} = 23.43$, d.f. = 3, $P < 0.001$. (B) 34 DAI: $H_{kw} = 34.26$, d.f. = 3, $P < 0.001$. (C) 68 DAI: $H_{kw} = 33.69$, d.f. = 3, $P < 0.001$. The different lowercase letters indicate significant differences (nonparametric Turkey multiple comparisons) between treatments for each sampling date.

Nitrogen treatment affected leaf nitrogen concentration, with a significantly higher concentration in N^+ samples for the three sampling dates (Figure 5-1). Under nitrogen restriction, there was a significant effect of water supply on the nitrogen concentration, with a higher nitrogen concentration under water restriction. Regarding water treatment, midday leaf water potential absolute values were generally higher for plants under water restriction

Chapitre 5: Nitrogen and water supplies affect peach tree–green peach aphid interactions: the key role played by vegetative growth

treatment compared with plants under comfort irrigation (Figure 5-2). The effect of irrigation treatment on water potential was significant for three dates out of seven. Neither nitrogen treatment, nor the interaction between nitrogen and water treatments had an effect on water potential (Figure 5-2).

Nitrogen addition increased vegetative growth (Figure 5-3A,B), with a significant effect of factor N on the single response variable CVG_c ($F_{1,40}=18.43$, $P<0.001$) and on the maximum DVG ($F_{1,40}=19.64$, $P<0.001$). Factor H and the interaction N×H had no effect on CVG_c (H: $F_{1,40}=0.28$, $P=0.60$; N×H: $F_{1,40}=2.59$, $P=0.12$), nor on maximum DVG (H: $F_{1,40}=2.00$, $P=0.17$; N×H: $F_{1,40}=2.60$, $P=0.12$). There was a significant effect of the treatment combination on the number of axillary shoots per average GLS ($H_{kw}=15.12$, d.f.=3, $P=0.002$), with the treatment N^+H^+ being significantly different from the two treatments N^- (mean \pm SD: N^+H^+ 2.7 ± 2.7 ; N^+H^- 1.5 ± 2.1 ; N^-H^+ 0.1 ± 0.2 ; N^-H^- 0.3 ± 0.6).

Aphid abundance, in the study period, reached a peak 40days after infestation, 1week after vegetative growth peak, and then sharply decreased, with almost no aphids left 14days later, regardless of the hydromineral treatment (Figure 5-3C). Aphid abundance was highest in the N^+H^+ treatment (Figure 5-3C,D). Maximum IAA (Figure 5-3C) was significantly affected by factors N ($F_{1,40}=15.00$, $P<0.001$), H ($F_{1,40}=14.83$, $P<0.001$) and their interaction ($F_{1,40}=7.14$, $P=0.011$). Single response variable CAA_c (Figure 5-3D) was affected by factor N ($F_{1,40}=11.18$, $P=0.002$), H ($F_{1,40}=5.87$, $P=0.020$) and their interaction ($F_{1,40}=6.17$, $P=0.017$). Cumulative aphid abundance at the end of the experiment was more than two-fold higher in the N^+H^+ treatment (mean: 1336 aphids per shoot) than in any other treatment (N^+H^- : 661, N^-H^+ : 508, N^-H^- : 538).

The best model for explaining CAA variation at the end of the study period included final CVG , water treatment H and their interaction (see Supporting information, Table 5-1). This model was selected as best in 37 jackknife sub-samples out of 44 (i.e. in 84% of cases). Final vegetative growth and water addition had both a positive effect on aphid abundance (Figure 5-4).

Chapitre 5: Nitrogen and water supplies affect peach tree–green peach aphid interactions: the key role played by vegetative growth

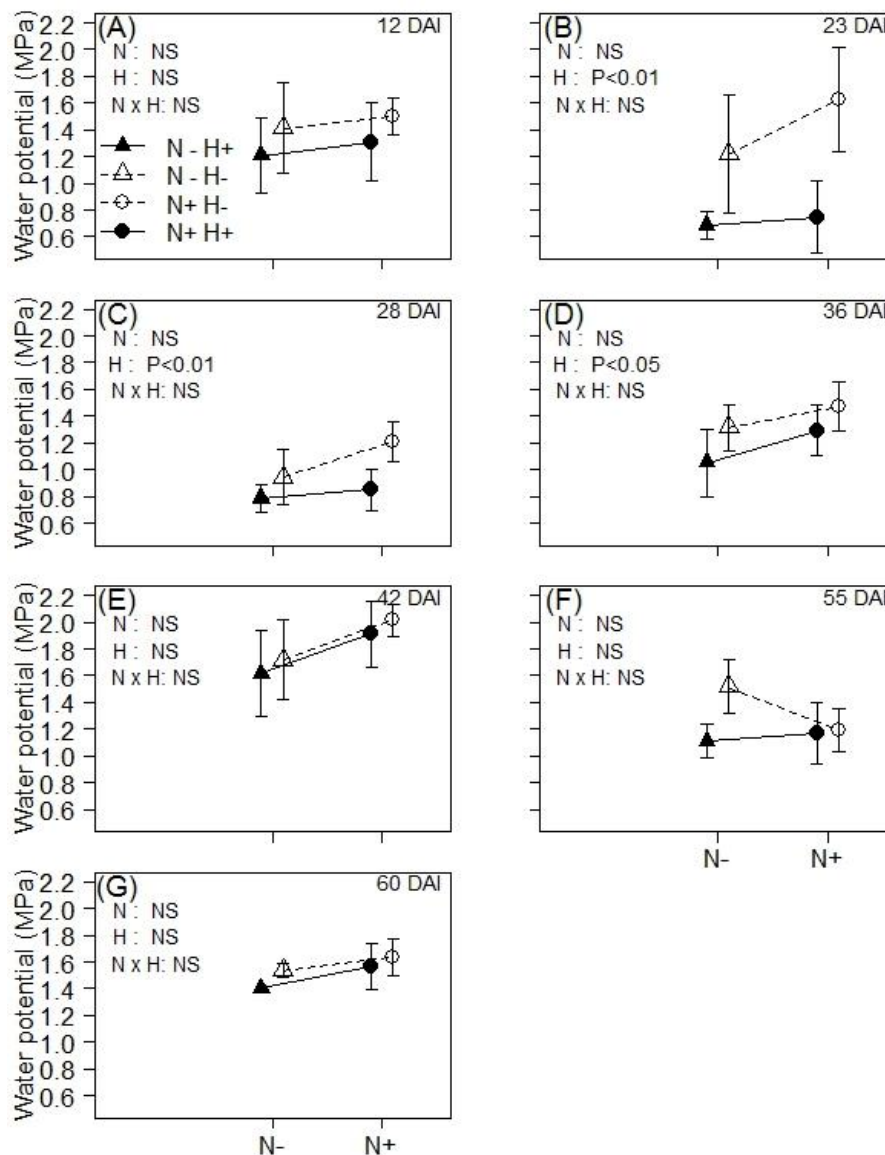


Figure 5-2 Midday leaf water potential in absolute value (mean \pm SD) for different nitrogen (N) and water (H) supplies at seven sampling dates (expressed in days after infestation: DAI). Details of the results of the analysis of variance: (A) N: $F_{1,14} = 0.14$, $P = 0.71$; H: $F_{1,14} = 2.03$, $P = 0.18$; N \times H: $F_{1,14} = 0.00$, $P = 0.97$; (B) N: $F_{1,13} = 0.02$, $P = 0.90$; H: $F_{1,13} = 17.34$, $P = 0.001$; N \times H: $F_{1,13} = 1.04$, $P = 0.33$; (C) N: $F_{1,13} = 1.09$, $P = 0.32$; H: $F_{1,13} = 9.82$, $P = 0.008$; N \times H: $F_{1,13} = 1.48$, $P = 0.25$; (D) N: $F_{1,13} = 2.04$, $P = 0.18$; H: $F_{1,13} = 4.97$, $P = 0.04$; N \times H: $F_{1,13} = 0.18$, $P = 0.68$; (E) N: $F_{1,13} = 4.33$, $P = 0.06$; H: $F_{1,13} = 0.61$, $P = 0.45$; N \times H: $F_{1,13} = 0.00$, $P = 0.99$; (F) N: $F_{1,13} = 3.67$, $P = 0.08$; H: $F_{1,13} = 4.40$, $P = 0.06$; N \times H: $F_{1,13} = 3.85$, $P = 0.07$; (G) N: $F_{1,13} = 3.00$, $P = 0.11$; H: $F_{1,13} = 2.56$, $P = 0.13$; N \times H: $F_{1,13} = 0.22$, $P = 0.65$.

5.5. Discussion

Leaf nitrogen concentration was significantly higher for N⁺ treatments and the peach trees in group N⁻ experienced a nutrient limited growth with a reduction in the number of axillary axes. This is an expected result and consistent with previous studies conducted on the same plant species (Médiène et al. 2002). For N⁻ trees, leaf nitrogen concentration was higher in H⁻ treatment, which is consistent with the study by Tariq *et al.* (2012). By contrast, although water stress in peach is known to reduce shoot growth (Rahmati et al. 2015), vegetative growth was not reduced in the H⁻ group. This suggests that the plants under investigation did not experience a continuous water deficiency period but rather a pulsed stress of mild intensity. Indeed, measurements of leaf water potential in the H⁻ group indicated stressed conditions for only three sampling dates out of seven during the vegetative season (Figure 5-2). Moreover, the plant trait that we chose as a proxy of vegetative growth (i.e. the number of new emitted leaves) may inadequately reflect the impact of water stress on growth, which might be better reflected by a reduction of foliar and axis elongation because of diminution of cell expansion (Mitchell et al. 2013).

In our experiment, aphid abundance was the highest in the N⁺H⁺ group. The results in the literature on the joint effect of fertilization and irrigation are rare and often contrasting. Archer *et al.* (1995) and Matis *et al.* (2008) found no effect of fertilization and a negative effect of irrigation on aphid populations in the wheat – *Diuraphis noxia* system and the cotton plant – *Aphis gossypii* system, respectively. Bethke *et al.* (1998) found no effect of irrigation and highest aphid abundance at intermediate level of nitrogen fertilization in the chrysanthemum – *Aphis gossypii* system. None of these studies found a significant effect of water – nitrogen interaction on aphid performance. However, comparisons among studies are made difficult because the responses to water and nitrogen supplies generally differ amongst plant and aphid species. Moreover, because the responses to water and nitrogen availability might be nonlinear, the same plant – aphid system can generate different results for the different stress ranges tested, hence making the interpretation of factorial analyses possibly misleading. For example, Sauge *et al.* (2010) varied five levels of nitrogen supply and found that green peach aphid abundance on peach tree was maximum at intermediate levels of fertilization. With a factorial design taking into account only a low and a high level of fertilization, no effect of fertilization on aphid abundance would have been detected. Nonlinear responses of insect performance to abiotic stress intensity were also observed for drought. Aphid performance was shown to be maximized at intermediate levels of drought stress on cabbage – *Myzus persicae* and cabbage – *Brevicoryne brassicae* (Tariq et al. 2012), as well as on one of the two tree genotypes tested in the poplar – *Phloemomyzus passerinii* system (Dardeau et al. 2015).

Chapitre 5: Nitrogen and water supplies affect peach tree–green peach aphid interactions: the key role played by vegetative growth

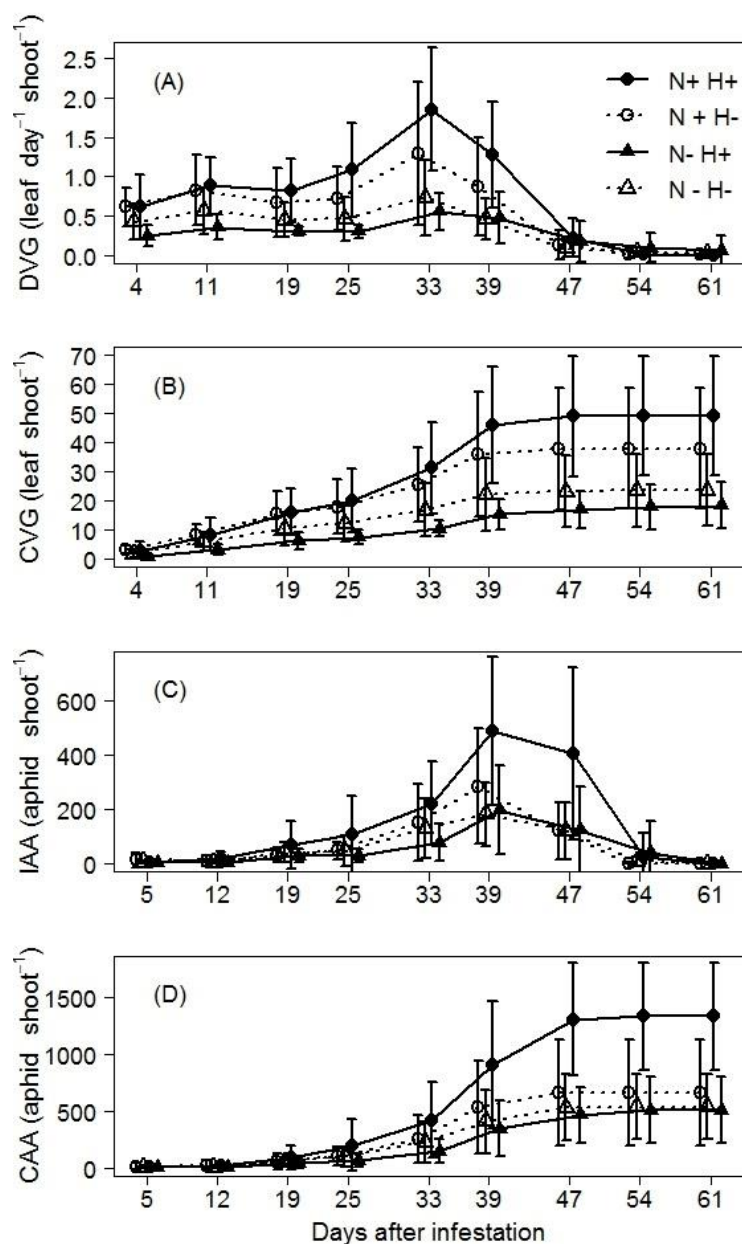


Figure 5-3 Time-course of peach tree *Prunus persica* leaves number and green peach aphid *Myzus persicae* abundance on a growing leafy shoot (2 May 2013 to 2 July 2013), for different nitrogen (N) and water (H) treatments. (A) DVG, daily vegetative growth. (B) CVG, cumulative vegetative growth. (C) IAA, instant aphid abundance. (D) CAA, cumulative aphid abundance. For details, see Materials and methods. Values are averaged over plants subjected to the same treatment; bars represent the SD. The data points are slightly shifted from their x-coordinates, corresponding to the numbered labels, with the aim of achieving a better visualization of the data.

Chapitre 5: Nitrogen and water supplies affect peach tree–green peach aphid interactions: the key role played by vegetative growth

A similar result was found for an intermittent water stress on Sitka spruce – *Elatobium abietum* (Banfield-Zanin and Leather 2015a).

The effect of nitrogen supply on aphid performance might not be straightforward. However, its role becomes clearer when considering fertilization effect on plant growth. The results of the present study suggest that aphid abundance is tightly linked to plant growth, which was not explicitly explored in the previous studies (Archer et al. 1995; Bethke et al. 1998; Matis et al. 2008). The fact that increased fertilization increases aphid abundance via plant growth supports the plant vigour hypothesis PVH (Price 1991) for the peach tree–green peach aphid system (i.e. *M. persicae* preferentially feeds on vigorous plants). As *M. persicae* acts as a flush feeder on its primary host (Grechi et al. 2008), our result is consistent with the study by White (2009) who reported that the PVH applies to flush feeders.

The use of a single aphid clone in the present study may reduce the generality of our findings. However, we are confident of the general validity of our results for the peach tree–green peach aphid system because similar findings were obtained for both younger and older trees, with different aphid genotypes. Grechi *et al.* (2008), when studying both natural and artificial *M. persicae* infestation, found that increased levels of pruning intensity over 8-year-old fruiting trees fostered plant vigour and aphid abundance. Sauge *et al.* (2010) found that fertilization enhanced both shoot growth and aphid density in 1-year-old non fruiting trees. The PVH also has been shown to hold for another fruit crop – aphid system: the apple tree – *Aphis pomi* (Stoeckli et al. 2008a).

When we explicitly considered the plant growth effect in the model, the effect of nitrogen treatment factor became negligible. A possible reason may be that the two levels of nitrogen supply altered the quantity of feeding sites (i.e. nitrogen addition enhanced axillary development and so increased the number of apices that are the suitable sites for *M. persicae* feeding) but not the quality of the phloem sap, despite leaf nitrogen concentrations being significantly different between nitrogen treatments (Figure 5-1). A similar result was reported by Mace and Mills (2015), who showed that *Chromaphis juglandicola* performance was not linked to the soluble nitrogen content of walnut trees. In their study, aphid performance was assessed via aphid density per leaf, and so any analysis could only evaluate the effect of nitrogen content and not the possible effect resulting from vegetative growth enhancement. However, other studies suggest that an increase in the concentration of amino acids in the phloem sap, driven by nitrogen addition, would enhance the intrinsic growth rate of aphids because of better feeding performances (i.e. less time to reach the phloem and less breaks during sap ingestion) (Ponder et al. 2000). Moreover, the relative proportions of some phloem amino acids, namely valine, arginine, glutamine and aspartate, were correlated with aphid abundance by Ryan *et al.* (2014). A close examination of the amino acids profile would deepen our understanding of the

functional interactions between peach tree and *M. persicae* in response to nitrogen input. In the present study, the differences in nitrogen content among groups of plants might not have been sufficiently large to significantly modify the phloem amino acids profile. To fully explore the effect of the nitrogen supply on the plant – aphid system, it is evident that a wider spectrum of nitrogen supply should be considered. In the study by Vince *et al.* (1981) conducted on salt marsh ecosystem, it was found that, under nitrogen limited plant growth, nitrogen addition augmented plant biomass but not leaf nitrogen concentration. This increase of plant biomass resulted in an increase of phytophagous insect abundance. Further nitrogen addition maintained the same quantity of plant mass and increased leaf nitrogen concentration and also resulted in increased phytophagous insect abundance (Vince *et al.* 1981).

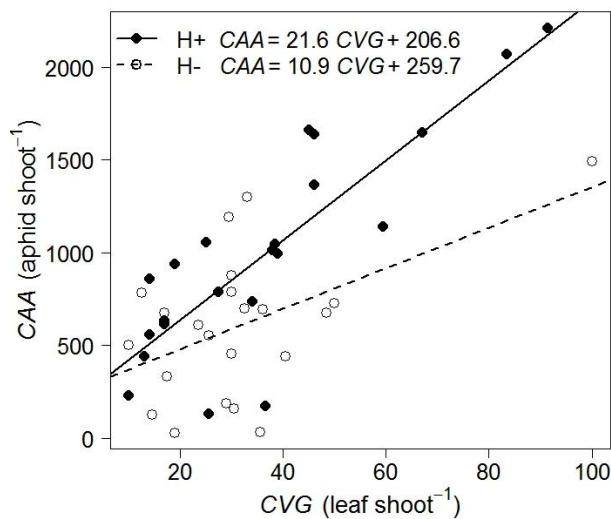


Figure 5-4 Relationship between cumulative aphid abundance (CAA) and cumulative vegetative growth (CVG) at the end of the experiment. Each point represents the value of an average growing leafy shoot of a given plant. The regression lines result from the selected best model (based on second-order Akaike information criterion) including CVG, H and (CVG × H) as explanatory variables and factors.

Aphids performed better on more irrigated plants (group H⁺), although vegetative growth did not differ according to water treatment. The relationship between aphid abundance and plant growth was stronger under the H⁺ condition than under the H⁻ condition (Figure 5-4) as indicated by the presence of the interaction term $CVG \times H$ in the best model. This result suggests that water restriction impairs aphids from taking full advantage of vegetative growth. In our experiment, mild pulsed drought stress negatively impacted *M. persicae* aphid abundance. This result is consistent with a study conducted on the apple tree – *Aphis pomi* system, which showed a negative effect of pulsed drought stress on aphid abundance (Mody *et al.* 2009). These two results are inconsistent with the PPSH, which states that phloem-feeders

Chapitre 5: Nitrogen and water supplies affect peach tree–green peach aphid interactions: the key role played by vegetative growth

are favoured by intermittent drought stress (Huberty and Denno 2004). PPSH has been shown to hold for the Sitka spruce – *Elatobium abietum* system (Banfield-Zanin and Leather 2015b), where the considered pest is a senescence feeder (White 2015).

In a recent study on the peach tree – *M. persicae* system, Verdugo *et al.* (2015) found no effect of plant water stress on aphid performance. There are several possible reasons for the discrepancies with respect to our findings. Because Verdugo *et al.* (2015) did not measure plant growth, they might have operated under conditions of low vegetative growth (corresponding to the left part of our Figure 5-4) and hence their findings would be coherent with ours (i.e. no effect of water treatment in the case of low vegetative growth). Also, Verdugo *et al.* (2015) applied water stress for only 14 days and this short period might have affected plant and aphid physiology in a different way. Finally, Verdugo *et al.* (2015) conducted their experiments indoors and controlled the temperature to make it optimal for aphids (approximately 22°C). Because water comfort allows foliar temperature to be lowered by foliar transpiration (Simpson *et al.* 2012), it is possible that its beneficial effects on aphids become effective when plants are exposed to variable outdoor temperatures, as in our experiment (mean \pm SD daily temperature in the study period was 23.4 \pm 4.6°C, with a maximum of 34.6°C).

Some studies have suggested that water stress might change phloem nutritional quality by increasing the total amino acid concentration and modifying the amino acid profile in the sap (Girousse *et al.* 1996). Moreover, water restriction can also modify the levels of defensive compounds: a decrease of phloridzin concentrations was observed in apple trees under drought stress (Gutbrodt *et al.* 2012). However, water stress can have a detrimental effect on aphids via a diminution of phloem accessibility. Indeed, under water restriction conditions, the phloem solute concentration can increase and result in an increase of sap viscosity (Sevanto 2014). In the interaction between *Rhopalosiphum padi* and four grass species, Hale *et al.* (2003) reported that, for three grass species, water stress had a negative effect on the aphid intrinsic rate of increase. It was claimed that this was the result of a reduction in the rate of sap ingestion, as obtained by electropetrography (Hale *et al.* 2003).

Our findings suggest that the management of nitrogen and water inputs can be an efficient tool for managing aphid populations via the control of plant vigour. However, it is to remember that the final aim of a producer is to increase yield rather than minimize pest abundance and reducing plant vigour by too much could result in a reduced yield in terms of both quantity and quality. It is also worth noting that other practices (e.g. winter pruning, choice of variety, etc.) could be applied for a bottom-up control of aphids. Deficit irrigation appears to be a more promising approach than nitrogen fertilization for controlling an aphid population without lowering plant growth. Controlled irrigation has already been shown to be efficient in controlling pest population in vineyards, where the implementation of regulated deficit

Chapitre 5: Nitrogen and water supplies affect peach tree–green peach aphid interactions: the key role played by vegetative growth

irrigation (RDI) during specific phenological stages reduced the abundance of nymphs and eggs of *Erythroneura* spp. (Costello 2008). In peach orchard, water restriction has already been shown to reduce the incidence of brown rot disease by controlling the fruit growth rate (Mercier et al. 2008). Regulated deficit irrigation is a promising practice in the face of future changes in water availability as a result of climate change. Further research is needed to find an optimal compromise between pest control and quantity and the quality of fruit production because water supply is critical for determining fruit size at harvest (Li et al. 1989) and it also alters fruit quality by modifying sugar contents (Mirás-Avalos et al. 2013). Finally, in the case of perennial woody crops such as peach, the consequences of regulated deficit irrigation should also be evaluated over the entire life span (almost 10years) of the orchard and not just over a single growing season.

5.6. Acknowledgements

This work was funded by the ARIMNET (ANR-12-AGR0001): ‘APMed’ project (Apple and Peach in Mediterranean orchards). The PACA region (Provence-Alpes-Côtes d’Azur) and INRA funded the PhD grant of A. Rousselin. We would like to thank M. Couëllier, J.P. Lacroze and F. Bouvery for their technical help and their contribution to the field measurements; D. Bancel, P. Laugier and E. Rubio for performing the chemical analyses; and R. Senoussi for useful suggestions regarding the statistical analyses. We thank three anonymous reviewers for thoughtful remarks that substantially improved this manuscript. The authors declare that they have no conflicts of interest.

5.7. Supporting information

Table 5-1 Summary of nested models fitting to experimental data. CAA is the cumulative aphid abundance at the end of the experiment ($t = 61$ days after infestation), CVG is the cumulative vegetative growth at the end of the experiment, it is a continuous variable, both H and N are factors, standing for water and nitrogen availabilities respectively. The models are numbered according to their complexity (from the complete to the simplest one).

Model number	Model formula	Adjusted R ²	Number of variables	Δ AICc
Mod10	$CAA = CGV + H + (CGV \times H)$	0.60	3	0.00
Mod4	$CAA = CGV + N + H + (CGV \times N) + (H \times N)$	0.63	5	0.47
Mod8	$CAA = CGV + N + H + (H \times N)$	0.61	4	0.73
Mod14	$CAA = CGV + H$	0.57	2	2.05
Mod1	$CAA = CGV + N + H + (CGV \times N) + (CGV \times H) + (H \times N) + (CGV \times H \times N)$	0.65	7	2.06
Mod7	$CAA = CGV + N + H + (CGV \times H)$	0.60	4	2.06
Mod3	$CAA = CGV + N + H + (CGV \times H) + (H \times N)$	0.61	5	2.67
Mod2	$CAA = CGV + N + H + (CGV \times N) + (CGV \times H) + (H \times N)$	0.62	6	3.03
Mod5	$CAA = CGV + N + H + (CGV \times N) + (CGV \times H)$	0.60	5	3.29
Mod12	$CAA = CGV + N + H$	0.57	3	3.64
Mod6	$CAA = CGV + N + H + (CGV \times N)$	0.58	4	4.40
Mod16	$CAA = CGV$	0.49	1	7.83
Mod9	$CAA = CGV + N + (CGV \times N)$	0.52	3	8.48
Mod13	$CAA = CGV + N$	0.49	2	9.59
Mod11	$CAA = N + H + (H \times N)$	0.41	3	17.05
Mod15	$CAA = N + H$	0.31	2	22.76
Mod17	$CAA = N$	0.20	1	28.08
Mod18	$CAA = H$	0.12	1	32.05
Mod19	$CAA = 1$	0.00	0	36.48

Chapitre 6: Rosy apple aphid abundance is shaped by apple tree vegetative growth and water supply

Chapitre 6 : Rosy apple aphid abundance is shaped by apple tree vegetative growth and water supply



Rosy apple aphid abundance is shaped by apple tree vegetative growth and water supply⁵

Aurélie Rousselin, Daniele Bevacqua, Gilles Vercambre, Marie-Hélène Sauge, Françoise Lescourret, Marie-Odile Jordan

Key message: Rosy apple aphid abundance is positively correlated to plant vegetative growth both at the shoot scale and the tree scale. Water restriction has a negative impact on aphid abundance only at the tree scale.

6.1. Abstract

The regulated deficit irrigation, which is commonly implemented to face water scarcity, can impact plant-aphid interactions, and possibly lead to a reduction in the use of pesticide. To test the possible effect of water restriction on the apple tree-rosy apple aphid (*Malus domestica*-*Dysaphis plantaginea*) system and possible cross-tolerance between abiotic and biotic stresses, we performed a factorial experiment with two levels of water supply and two plant genotypes. We characterized plant growth and aphid abundance during the entire infestation period at the apical shoot and at the entire tree scales, and eventually we performed additional measures to evaluate plant water status. Aphid abundance increased with plant vegetative growth at both scales of analysis, which is consistent with the Plant Vigor Hypothesis. At the tree scale, aphid abundance was lower on water restricted trees, which might result from an increase in leaf temperature. On the other hand, at the shoot scale, aphid abundance differently responded to water restriction for the two plant genotypes. The different patterns at the two scales of analysis highlight the importance of scale choice in the study of plant-insect interactions. Eventually, we discuss how present findings could be employed for aphid management in commercial orchards.

Keywords: *Dysaphis plantaginea*, *Malus domestica*, pest management, drought stress, Plant Vigor Hypothesis

6.2. Introduction

Mediterranean horticulture is facing two main challenges, reduce the use of pesticides and cope with water scarcity. Possible solutions to decrease water use in horticulture include the use of less drought susceptible varieties and the implementation of regulated deficit irrigation. Interestingly, due to cross tolerance mechanisms between abiotic and biotic stresses, the implementation of deficit irrigation can reduce host plant suitability for pests and especially

⁵ This article will soon be submitted to *Trees-Structure and Function*.

Chapitre 6: Rosy apple aphid abundance is shaped by apple tree vegetative growth and water supply

aphids (Foyer et al. 2016). Host plant suitability for aphid encompasses multi-aspects, which can be modulated by plant water status, nutrition (or settlement) site availability, *i.e.* number of growing apices (Forrest and Dixon 1975), phloem nutritional quality, e.g. secondary metabolites (Czerniewicz et al. 2011) and amino acids profile (Ryan et al. 2014), phloem accessibility (Mody et al. 2009) and phyllosphere microenvironment (Pangga et al. 2012). As the effects of water scarcity on host plant characteristics vary with stress intensity, duration (Tariq et al. 2012) and period of application, and can possibly be antagonist, the published results on the effect of host plant water stress on aphid performance, on diverse plant-aphid systems, are often contradictory. Indeed water stress can have a positive (Archer et al. 1995; Mewis et al. 2012), a negative (Agele et al. 2006; King et al. 2006; Simpson et al. 2012) or no effect (Bethke et al. 1998; King et al. 2006; Mewis et al. 2012) on aphid performance. Another aspect likely to influence the outcome of plant-aphid interaction under water restriction is plant genotype. However, to our knowledge, the studies evaluating the effects of drought stress on aphid performance on different plant genotypes generally considered genotypes contrasted for their resistance to insect (Agele et al. 2006; Dardeau et al. 2015; Verdugo et al. 2015) rather than genotypes contrasted for their response to drought stress. As a suggested answer to face water scarcity is the use of less drought susceptible varieties, their impact on aphid performance should be evaluated.

We chose to focus on the apple tree-rosy apple aphid system [*Malus domestica* Borkh. – *Dysaphis plantaginea* (Passerini)], as apple trees are cultivated worldwide under a wide range of climatic conditions and also in semi-arid areas such as the Mediterranean basin. Moreover apple is the major deciduous fruit tree production worldwide (FAO 2016). *Dysaphis plantaginea* is a major apple tree pest (Forrest and Dixon 1975). It causes leaf roll (Forrest and Dixon 1975), shoot and fruit deformations (Marchetti et al. 2009), and resistant populations to pesticides have been observed (Delorme et al. 1999). Two apple genotypes with different drought response mechanisms were identified from a “Starkimson”×”Granny Smith” cross progeny (Lauri et al. 2016). The first genotype (referred to as DAG: Drought Avoidance Genotype) is characterised by drought avoidance strategy, with reduced stomatal conductance and photosynthesis under water deficit. The second one (referred to as GCG: Growth Cessation Genotype) is characterised by a high percentage of shoots experiencing growth cessation under drought stress. Using these two genotypes to study apple tree-*D.plantaginea* interactions under water stress conditions would allow to evaluate the existence of cross tolerance to drought and aphid infestation.

An issue in working on tree-aphids relationships is to choose the scale of analysis, especially because the susceptibility of tree organs to aphids may vary within the tree, between long and short shoots, fruiting and non-fruiting shoots (Simon et al. 2011b). So we may wonder

if the positive correlation between vegetative growth and aphid abundance, which has been demonstrated at the shoot scale (Stoeckli et al. 2008a; Rousselin et al. 2016), still holds at the tree scale. This issue of tree-aphid interactions at different scales has, to our knowledge, never been addressed.

In the present study we intend to determine how far aphid abundance is related to vegetative development and water status in different genotypes. We submitted both apple genotypes to water restriction conditions and monitored the aphid population dynamics after artificial infestation as well as tree growth, leaf gas exchanges and leaf water potential. We also intend to evaluate whether the infestation patterns identified at the apical shoot scale are representative of the system response at the tree scale.

6.3. Material and methods

Experimental design and plants

The scions of two apple tree genotypes DAG and GCG (see supra) were whip grafted on M9 Pajam 2 on March 2014. They were grown under an insect proof shelter in 12L-pot filled with a medium consisting of 1:2 (v:v) perlite and potting soil (Florabella® Klasmann-Deilmann®). After one-year of growth, plants were hand-pruned in February 2015. Only one axis per plant was left with 10 non latent buds. Pruning wounds were protected with Phytopast®-G. Nitrogen fertilisation was supplied through a fertigation system, from 25-April-2014 to 01-July-2015. The resulting mean foliar nitrogen concentrations of 3.4 % \pm 0.4 (mean \pm standard deviation) on 05-May-2015 and 2.4 % \pm 0.4 on 24-June-2015 were satisfactory or even high compared to orchard standards, which are 1.7 to 2.5% for apple trees (Nielsen and Nielsen 2003). From 10-April-2015 until the end of the experiment, temperature under the shelter was recorded every 30 min, thanks to a Hobo® Pro V2 logger (U23-002, Onset®, Bourne, USA).

The differentiation of the irrigation treatments started on 24-Apr-2015. Two sets of 12 plants of each genotype were subjected to two different watering treatments, denoted with H⁺ and H⁻. Plants assigned to the H⁺ treatment were daily irrigated until run-off and the plants assigned to the H⁻ treatment received a halved water supply.

Aphid rearing and infestation

To ensure that individual aphids did not genetically differ in their intrinsic performance, a single clone of *D. plantaginea* (Dp15) was used for the infestation. The aphid colony was established from a single female collected on an apple tree 'Ariane' on 26-March-2015 in Avignon. Aphids were reared in the laboratory on the susceptible apple cultivar M9, under parthenogenesis-inducing conditions (20°C \pm 1°C, 60-70% relative humidity and a 16-h-day

Chapitre 6: Rosy apple aphid abundance is shaped by apple tree vegetative growth and water supply

cycle). Five age-synchronized wingless adult females were settled on one infested axis per plant on 28-April-2015. The chosen axis for infestation was positioned in apical position of the one-year old wood. Aphids were then free to disperse all over the plant. As we did not aim to assess aphid settlement but rather aphid population dynamics, aphid presence during the 9 days following infestation was checked. On the 9 trees were no aphid was found within this period, 5 aphids were added.

Data collection

Measures were taken weekly on the trees between 30-April-2015 and 01-July-2015 for vegetative growth and between 04-May-2015 and 30-June-2015 for aphid population abundance. Thus, as only 3 trees over the 48 experimental trees were still infested on 30-June-2015, aphid total absence from the trees was checked on 07-July-2015. Vegetative growth was computed by counting, within the tree architecture, the number of expanded leaves separately on each developing proleptic bud, or bud whose development is delayed by dormancy or correlative inhibition (Wheat 1980). Two types of vegetative proleptic structures were distinguished: (i) rosettes, which correspond to the expansion of the preformed leaves of the bud, and (ii) shoots, which correspond to a main axis resulting from the activation of the apical meristem (*i.e.* to the transformation of the rosettes into axes) and all its axillary structures. Aphid abundance was estimated by assigning to each proleptic structure (shoot or rosette) one class of infestation among: C0 (no aphid), C1 (1 to 5 individuals), C2 (6 to 25), C3 (26 to 125), C4 (125 to 625) and C5 (more than 625) (Grechi et al. 2008; Rousselin et al. 2016).

During the same period, midday leaf water potentials were measured with a Scholander pressure bomb on 8 sunny dates on a subsample of 3 to 6 trees per treatment, using a non-infested sun-exposed leaf near an apex. Simultaneously, leaf photosynthetic rate, leaf stomatal conductance, leaf transpiration and leaf temperature were measured on a non-infested sun-exposed attached leaf with an open gasometric system LCA-4 (ADC, Hoddesdon, UK).

Data analysis

Hereafter, dates are expressed in days after infestation (DAI). Doing so, 28-April-2015 corresponds to 0 DAI and 01-July-2015 corresponds to 64 DAI. Possible differences in leaf water potential, leaf photosynthetic rate, leaf transpiration rate, leaf stomatal conductance, leaf temperature, percentage of tree leaves on shoot, numbers of developing buds, shoots and rosettes, were analysed with Kruskal-Wallis tests on treatment groups (water \times genotype) and, when significant, they were followed by non-parametric Tukey multiple comparisons (function “nparcomp” in R).

Data were analysed at two different scales: the shoot scale, considering the primarily infested shoot (apical shoot, see above) and the tree scale. The vegetative growth was estimated

Chapitre 6: Rosy apple aphid abundance is shaped by apple tree vegetative growth and water supply

through the increase in number of fully expanded leaves between 2 and 64 DAI, at the shoot scale, considering the apical infested proleptic axis plus all its axillary structures, leading to the final shoot vegetative growth (FSVG) and at the tree scale, considering all types of proleptic structures, *i.e.* rosettes and shoots, leading to final tree vegetative growth (FTVG). Both vegetative growth variables were log transformed. Aphid abundances were estimated *a posteriori* by randomly drawing a value from a uniform distribution with boundaries relevant to the different abundance classes, for each proleptic structure (shoot and rosette) and sampling date. The tree aphid number at a given date was calculated as the sum of the aphid numbers of the constitutive proleptic structures of each tree at this date. The aphid indexes, representative of infestation severity throughout the infestation period, were the sums of the aphid numbers calculated for each notation at shoot and at tree scales. The drawing procedure was repeated 10 000 times. This resulted in 10 000 datasets of aphid abundances and indexes, the median value of which were used for the subsequent analyses.

To test the effects of water treatment H, vegetative growth (FSVG or FTVG) and genotype V on aphid abundance, a hierarchical analysis of multiple regression models was performed, with plant growth as continuous predictor variable and H and V as categorical predictor variables. All possible models were ranked according to AICc (second-order Akaike Information Criterion). According to Burnham and Anderson (2004), AICc rather than AIC was used as $n/K < 40$, where K is number of estimable parameters and n the sample size, respectively equal to 8 and 48 in the present study. As a rule of thumb it is commonly admitted that the models are different if $\Delta AICc > 2$ (Bolker 2008), consequently the models with a value of $\Delta AICc$ of more than 2 from the best models were eliminated. After being run on the median values of aphid indexes, the model selection procedure was also run on the 10 000 datasets issued from the transformation of aphid abundance classes into aphid index in order to estimate possible model selection sensitivity to drawings. This analysis was performed both at the shoot scale (with FSVG and shoot aphid index) and at the tree scale (with FTVG and tree aphid index).

To better understand the relationship between the two scales, analyses were performed to investigate the possible relationship between the different growth variables. First a hierarchical analysis of multiple regression models was performed with final tree vegetative growth (FTVG) as the response variable and final shoot vegetative growth (FSVG) as continuous predictor variable and water treatment H and genotype V as categorical predictor variables. We then performed the same kind of analyses with FSVG or FTVG as the response variable, and the number of proleptic shoots (NbS) as the continuous predictor variable and H and V as categorical predictor variables. To test if the percentage of tree leaves inserted on

Chapitre 6: Rosy apple aphid abundance is shaped by apple tree vegetative growth and water supply

shoots was dependant on FTVG, we performed a hierarchical analysis of multiple regression models, with FTVG as continuous variable and H and V as categorical variables.

All data analyses were carried out using R software version 3.3.1 (R Core Team 2016) and additional packages 'nparcomp' and 'glmulti'.

6.4. Results

Effects of Water and Genotype on plant physiology

H⁻ trees tended to have higher leaf water potential in absolute values than H⁺ trees (Figure 6-1), the differences being significant for DAG on 14 (Figure 6-1c) and 30 DAI (Figure 6-1d) and for GCG on 30 and 58 DAI (Figure 6-1h). Among the same watering treatment there was no significant difference between genotype for leaf water potential, except for 14 and 37 DAI (Figure 6-1e) between H⁺ trees, GCG H⁺ had a higher leaf water potential in absolute values than DAG H⁺.

Chapitre 6: Rosy apple aphid abundance is shaped by apple tree vegetative growth and water supply

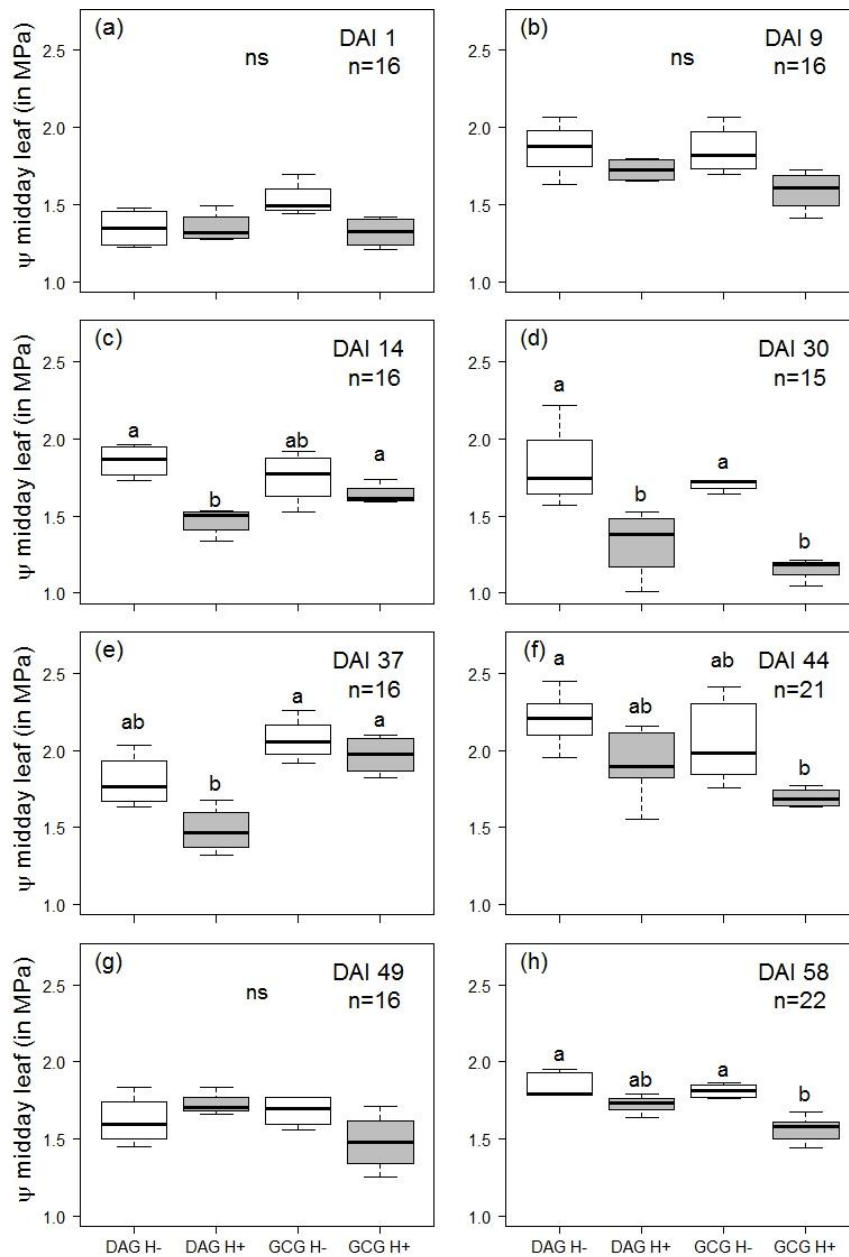


Figure 6-1: Absolute values of midday leaf water potential of subsampled apple trees (sample size indicated within the figure for each date), belonging to four different treatments, combining two levels of water supply (H^+ and H^-) and two tree genotypes (DAG, drought avoidance genotype and GCG, growth cessation genotype). Each panel corresponds to a date expressed in days after infestation (DAI). Different letters indicate significant differences between treatment combinations assessed through Kruskal-Wallis test, followed by non-parametric Tukey multiple comparisons. Analyses were performed day by day.

Chapitre 6: Rosy apple aphid abundance is shaped by apple tree vegetative growth and water supply

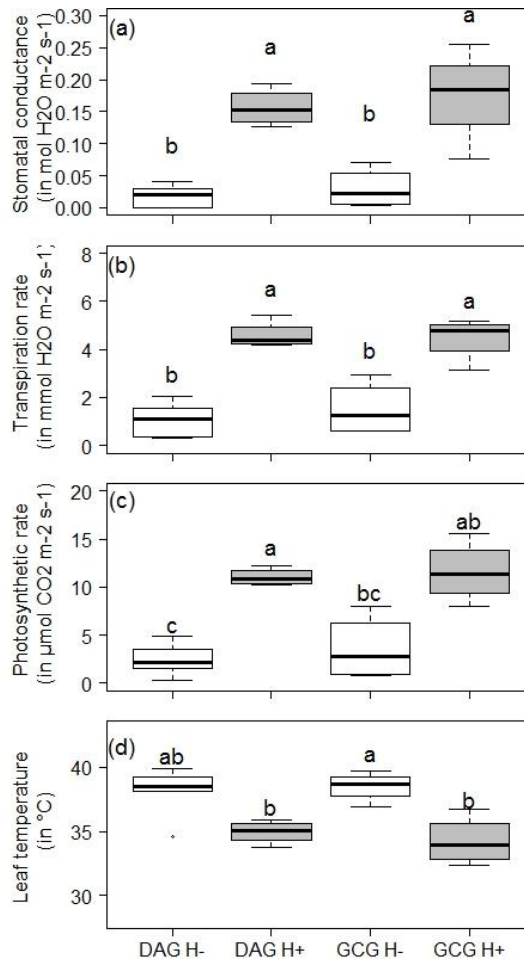


Figure 6-2: Characterization of leaf functioning of 17 subsampled apple trees on 30 DAI (days after infestation) according to the different treatments, combining two tree genotypes: GCG growth cessation genotype and DAG drought avoidance genotype and two levels of water supply: H⁺ and H⁻. (a) Leaf stomatal conductance, (b) Leaf transpiration rate, (c) Leaf photosynthetic rate, (d) Leaf temperature. Different letters indicate significant differences between treatment combinations assessed through Kruskal-Wallis test, followed by non-parametric Tukey multiple comparisons.

Over the 6 measure dates of leaf stomatal conductance, leaf photosynthetic rate, leaf transpiration rate and leaf temperature, the differences were significant between the treatments for only one date. On 30 DAI (Figure 6-2), leaf stomatal conductance (Figure 6-2a) and leaf transpiration rate (Figure 6-2b) were reduced for H⁻ trees compared to H⁺ trees for both genotypes. For DAG, leaf photosynthetic rate (Figure 6-2c) was significantly higher for H⁺ trees than H⁻ trees. For GCG, leaf temperature (Figure 6-2d) was significantly lower for H⁺ than H⁻.

Vegetative growth depended on both water supply and tree genotype

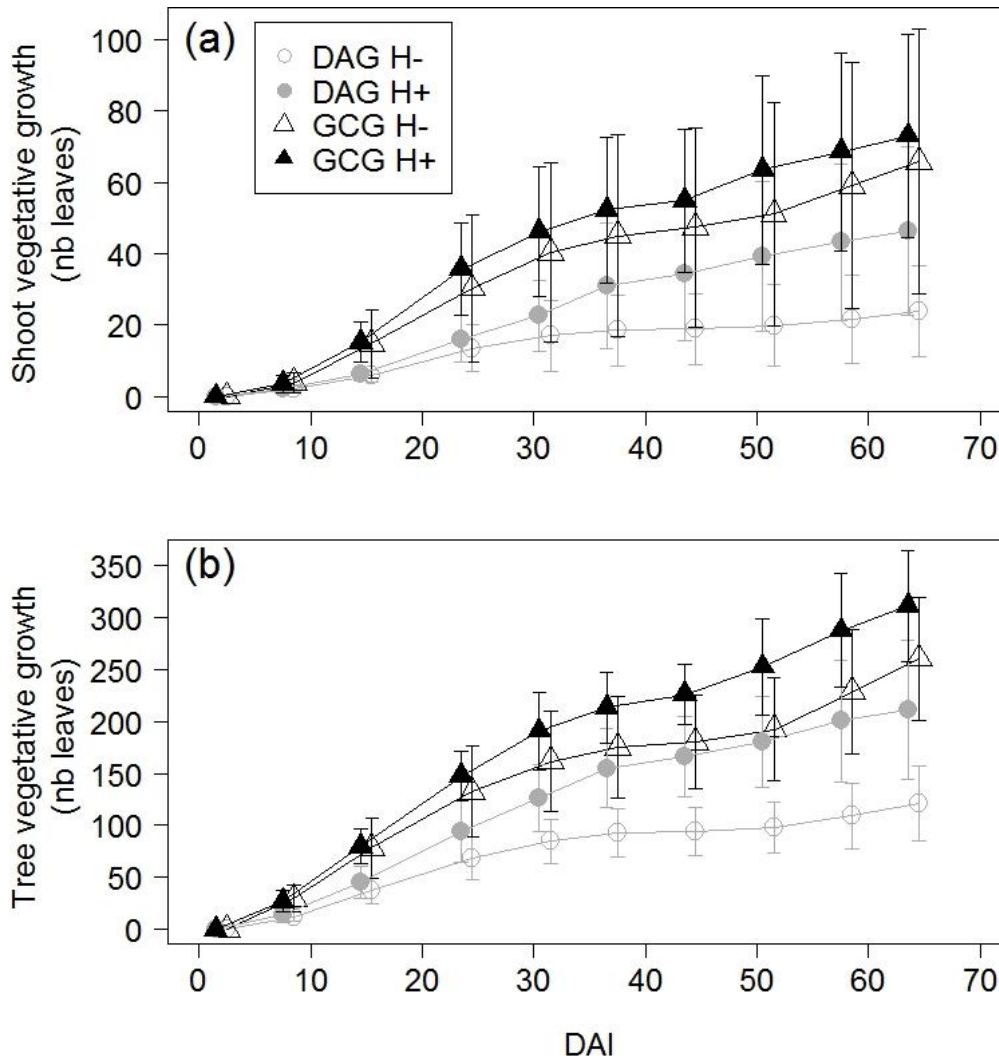


Figure 6-3: Vegetative growth dynamics at both shoot (a) and tree (b) scales as an increase of leaves number from 2 to 64 days after infestation (DAI). Each point represents the mean value for a treatment combination: water supply (H⁺ and H⁻) and tree genotype (DAG, drought avoidance genotype and GCG, growth cessation genotype). Bars stand for standard deviation.

Temporal dynamics of vegetative growth followed similar patterns at the two study scales with a slowdown of growth after 30 DAI (Figure 6-3). The trends of ranking of the different treatments were identical between the two scales, with in decreasing order: the higher vegetative growth for GCG H⁺, followed by GCG H⁻, then DAG H⁺ and the smaller vegetative growth for DAG H⁻. Water restriction decreased vegetative growth for both genotypes.

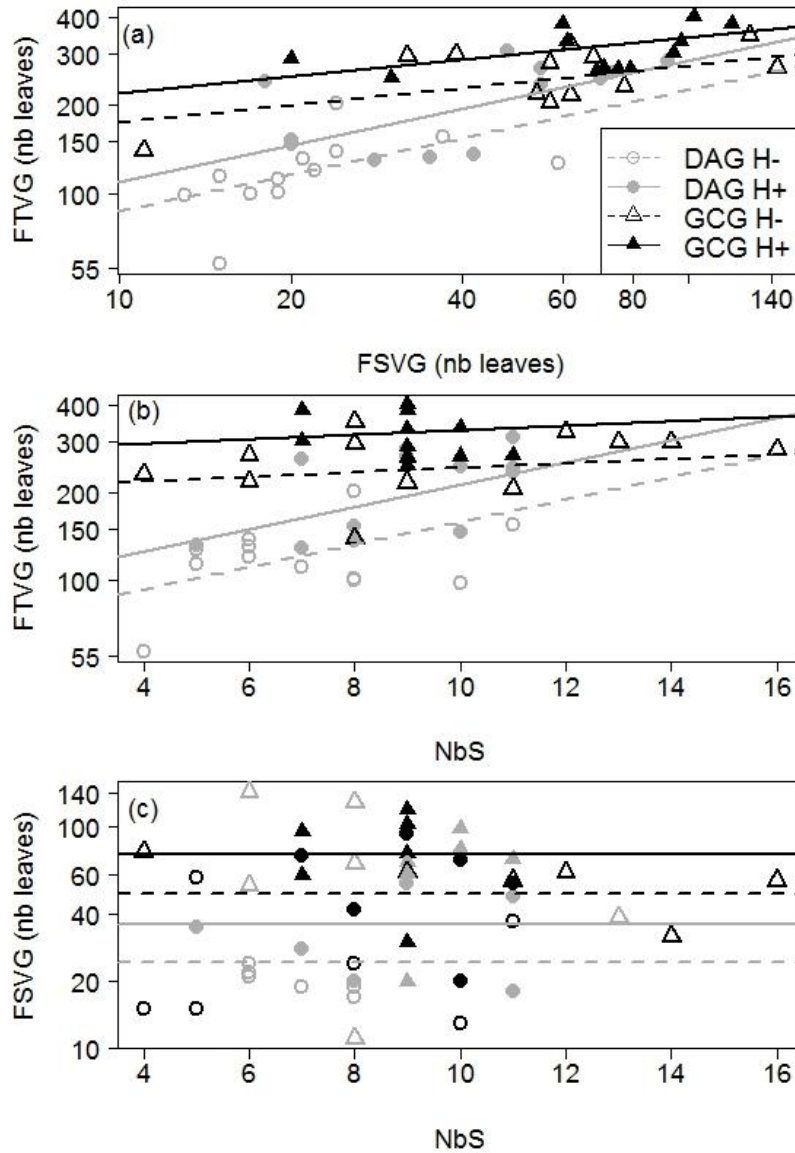


Figure 6-4: Relationship between the number of shoots per tree (NbS) and final vegetative growth variables in increase in number of leaves at tree (FTVG) and shoot (FSVG) scales (see material and methods for details). (a) FTVG as a function of FSVG, the regression lines result from the selected best model (based on AICc) including FSVG, H (water treatment), V (tree genotype) and the interaction FSVG × V ($R^2_{adj}=0.74$). (b) FTVG as a function of NbS: the regression lines result from the selected best model including NbS, H, V and the interaction NbS × V ($R^2_{adj}=0.68$). (c) FSVG as a function of NbS: the regression lines result from the selected best model including H and V ($R^2_{adj}=0.34$).

Final tree vegetative growth FTVG, estimated by the increase of the number of fully expanded leaves during the infestation period was positively correlated to final shoot vegetative growth FSVG, and the relationship was influenced by both water treatment and tree genotype (Figure 6-4a). Additionally FTVG was positively correlated to the number of shoots per tree

Chapitre 6: Rosy apple aphid abundance is shaped by apple tree vegetative growth and water supply

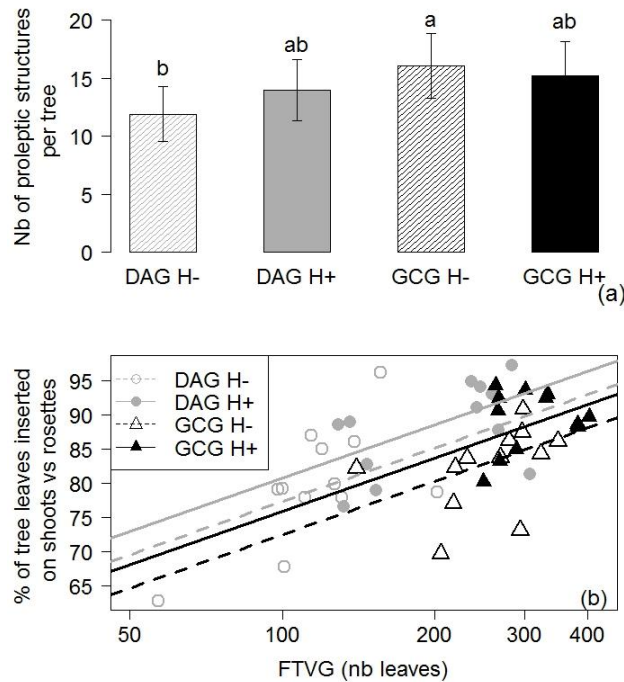


Figure 6-5: Number of proleptic structures and relative importance of the two types of proleptic structures, shoots and rosettes (a) Number of proleptic structures per tree (mean \pm SD). Different letters indicate significant differences based on Kruskal-Wallis test, followed by non parametric Tukey multiple comparison. (b) Percentage of total tree leaves inserted on shoots on 64 DAI as a function of final tree vegetative growth (FTVG) expressed as the increase in number of expanded leaves between 2 and 64 DAI, the regression lines result from the selected best model (based on AICc) including FTVG, water treatment H and tree genotype V ($R^2_{adj}=0.41$).

NbS (Figure 6-4b), whereas FSVG was independent of NbS (Figure 6-4c), which was probably a consequence of tree acrotony, as the infested shoot was in apical position. At shoot and tree scales the ranking of the treatments were consistent. GCG was more vigorous than DAG.

Although the number of proleptic structures per tree was significantly higher for GCG H⁻ than DAG H⁻ (Figure 6-5a), the number of rosettes per tree and the number of shoots per tree were not significantly different between treatments (data not shown). The percentage of tree leaves inserted on shoots vs rosettes was significantly higher from 24 to 58 DAI for GCG H⁺ compared to GCG H⁻, suggesting that GCG H⁺ shoots grew more vigorously than GCG H⁻ shoots. There was a similar trend for DAG, but the differences were not significant. The proportion of tree leaves on shoots increased during the season since axes expanded leaves throughout the infestation period while rosettes stopped growing after expansion of their preformed leaves. The percentage of tree leaves inserted on shoots was positively correlated to FTVG (Figure 6-5b).

Aphid dynamics

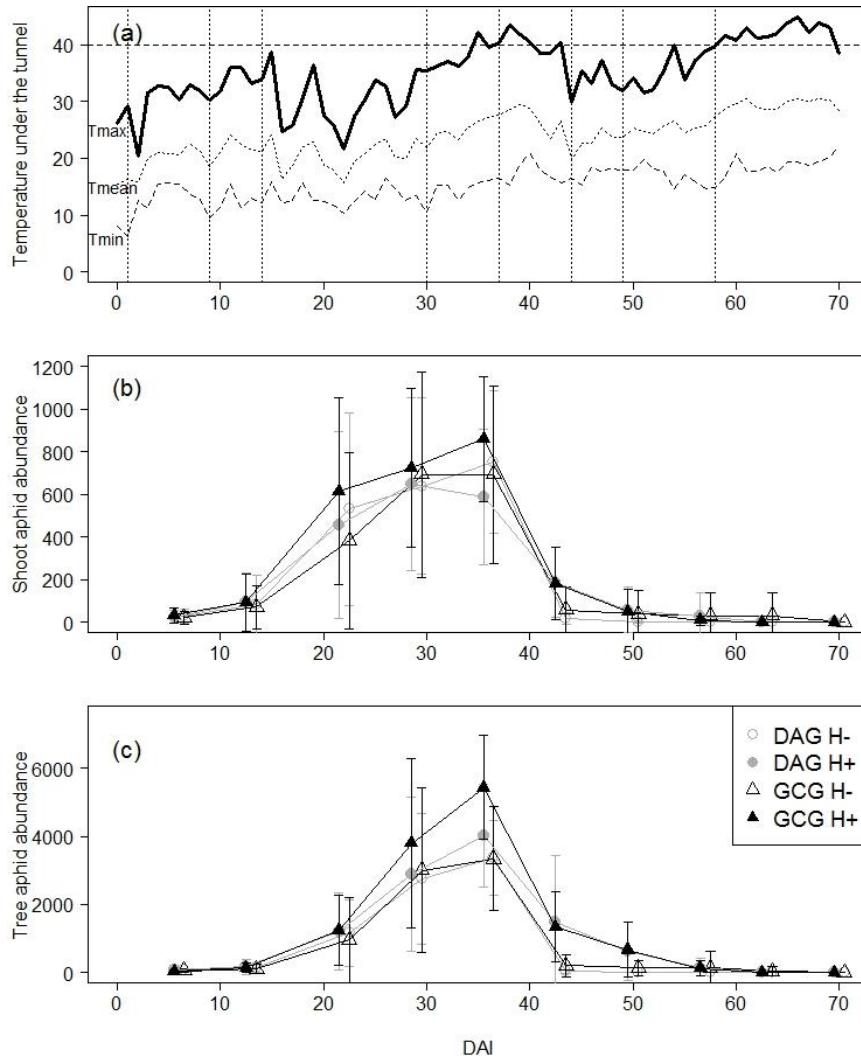


Figure 6-6: (a) Temperatures under the insect-proof tunnel: maximum (T_{max}), average (T_{mean}) and minimum (T_{min}) daily temperatures. Aphid abundance temporal dynamics (mean \pm standard deviation) for each treatment combination at (b) the shoot scale and (c) the tree scale for the different dates (in days after infestation: DAI).

There was a first period of slow increase of abundance between 0 and 13 DAI, then aphid population peaked between 29 and 36 DAI and after there was a quick decrease of aphid abundance at both study scales (Fig. 6bc). Aphid population started to decrease when maximal daily temperatures exceeded 42.5°C and raised up to 43.3°C (Figure 6-6a). The ranking of the mean aphid abundances of the different treatments at the peak was different between the two scales. However, given the size of the standard deviation these rankings were only indicative of trends. At the shoot scale (Figure 6-6b), GCG H⁺ experienced the highest infestation,

Chapitre 6: Rosy apple aphid abundance is shaped by apple tree vegetative growth and water supply

followed by both genotypes under H⁻ and the lowest infestation was on DAG H⁺ whereas at the tree scale (Figure 6-6c), GCG H⁺ still experienced the higher infestation but it was followed by DAG H⁺ and then both genotypes under H⁻.

Positive effect of vegetative growth on aphid abundance and contrasting effects of water supply depending on tree genotype at the shoot scale

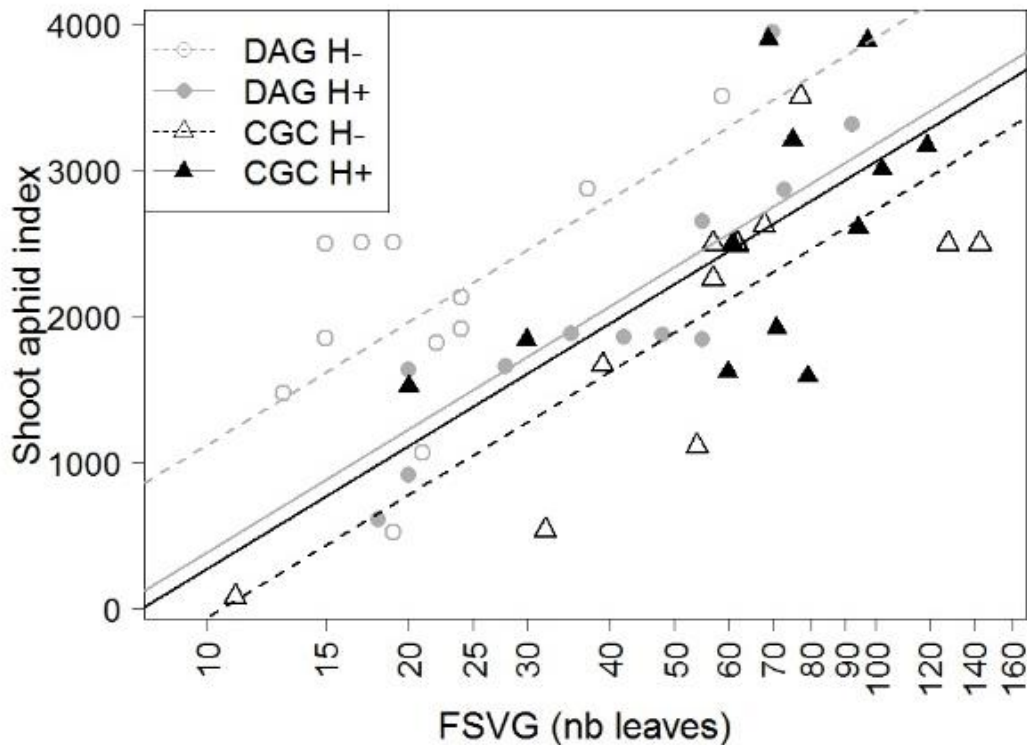


Figure 6-7 : Relationship between final shoot vegetative growth FSVG and shoot aphid index. Each point represents the value of the apical shoot of a tree. The regression lines result from the selected best model (based on AICc) including FSVG, water treatment H, tree genotype V and the interaction term (H × V) as explanatory variables and factors ($R^2_{adj}=0.52$)

The best model to explain shoot aphid index included final shoot vegetative growth FSVG, water treatment H, tree genotype V and the interaction term (H × V) (Figure 6-7). This model was selected as the best one for 82.8% of the 10 000 runs of the transformation of aphid infestation classes into aphid numbers. Vegetative growth had a positive effect on aphid abundance at the shoot scale. At equivalent shoot growth, DAG sustained a more abundant aphid population than GCG. Both genotypes responded oppositely to the water treatment. Thus

Chapitre 6: Rosy apple aphid abundance is shaped by apple tree vegetative growth and water supply

a water restriction enhanced the positive effect of shoot growth on aphid index for DAG, but depleted it for GCG.

Positive effect of vegetative growth on aphid abundance and negative effect of water restriction at the tree scale

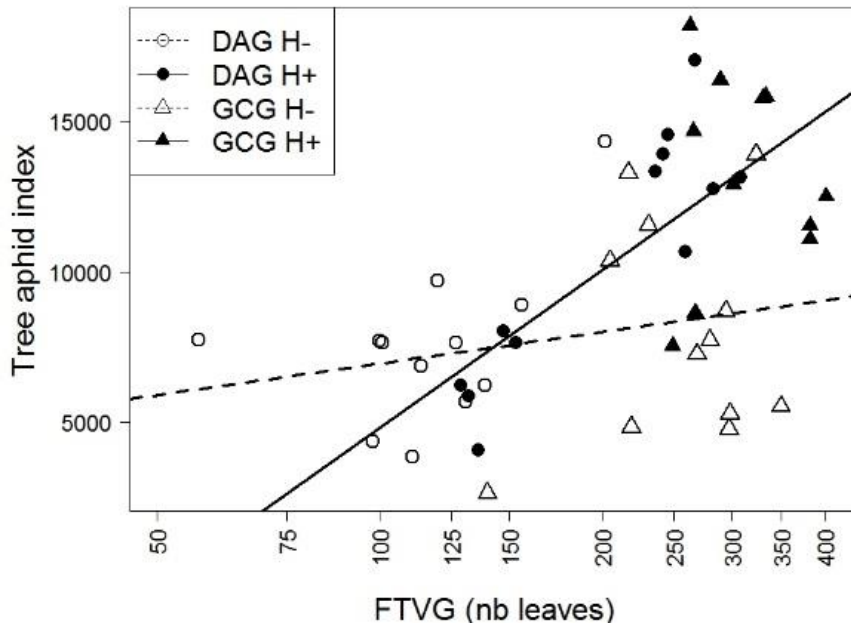


Figure 6-8: Relationship between tree aphid index and final tree vegetative growth FTVG. Each point represents the value of a single tree. The regression lines result from the selected best model (based on AICc) including FTVG, water treatment H and the interaction term $FTVG \times H$, as explanatory variable and factor ($R^2_{adj}=0.42$).

The best model to explain tree aphid index included final tree vegetative growth FTVG, H and the interaction term $FTVG \times H$ (Figure 6-8). This model was selected as the best for 68.5%, of the 10 000 datasets resulting from the transformation of aphid infestation classes into aphid numbers. The second best model had a ΔAIC_c of 0.28, and took into account FTVG, V, H and the interaction term $FTVG \times H$. An effect of tree genotype (V) on tree aphid index can therefore not totally be ruled out, all the more so as this model was selected as the best for 31.4% of the 10 000 runs. At the tree scale, aphid abundance was positively correlated to vegetative growth. The slope of the regression line was smaller for H^- trees compared to H^+ trees.

6.5. Discussion

The present results showed a positive relationship between vegetative growth and aphid abundance whatever the study scale, the genotype and the watering treatment. At the shoot scale, tree genotype played a role on aphid abundance in interaction with water supply. Thus, the effects of water restriction on the two genotypes were opposite, positive on DAG and negative on GCG. At the tree scale, aphid abundance was penalized by water restriction and the effect of genotype on aphid abundance was less clear.

The positive relationship between *D. plantaginea* abundance and both shoot and tree vegetative growths is consistent with the Plant Vigor Hypothesis that predicted a better performance of phytophagous insects on vigorous plants or organs (Price 1991). Our result, at the shoot scale, is consistent with another study conducted on apple tree, evidencing that *Aphis pomi* abundance on the current-year shoot was well correlated to shoot growth but was independent of trunk diameter and median shoot length that are indicators of tree vigour (Stoeckli et al. 2008a). Final tree vegetative growth FTVG was positively correlated to the percentage of tree leaves inserted on shoot and also to the number of shoots. However, there was no relation between final shoot vegetative growth FSVG and the number of shoots per tree, suggesting that due to their apical position and apple tree acrotony the studied infested shoots were favoured for its vegetative growth. As aphids have been shown to be more performant on long versus short shoots of fruit trees (Grechi et al. 2008; Simon et al. 2011b), the strong vigour of the apical shoot is likely to represent highly suitable conditions. Tree genotype influenced vegetative growth variables. Since grafting, GCG was more vigorous than DAG, which could be related either to difference in genotypic vigour or in grafting compatibility. After grafting and throughout 2014, vegetative growth was more important for GCG than for DAG (data not shown). Indeed the dry mass suppressed by winter pruning prior to the experiment was significantly higher for GCG (Kruskal-Wallis test, $p < 0.001$, *i.e.* 41.3 ± 16.5 g (mean \pm SD) for GCG vs 25.2 ± 9.5 g for DAG). It means that in 2014 GCG had not only more functional leaves but, according to the functional equilibrium theory (Brouwer 1983), also more roots than DAG, and therefore probably higher amounts of C and N stored therein (higher reservoir size and higher C and N intake in 2014). Higher vegetative growth of GCG during the first growth flush of 2015, corresponding to the period of aphid population development, could thus result from spring remobilisation (Jordan et al. 2009) or higher pruning intensity (Bevacqua et al. 2012). Other aspects of plant development and architecture have been demonstrated to play a role. At tree level, infestation severity depended not only on the population increase but also on aphid dispersion among the crown. This process of dispersion depended on tree architecture complexity. On apple-*D. plantaginea* system strong branching decreased infestation, as pedestrian aphid colonizing other plant parts are less likely to find suitable feeding sites (Simon

Chapitre 6: Rosy apple aphid abundance is shaped by apple tree vegetative growth and water supply

et al. 2011b). However as architecture of our trees was quite homogeneous in term of branching complexity, this was unlikely to have played a major role in our study. The process of dispersion among the crown might also be dependent on aphid density of the apical shoot and modulated by phloem sap quality. It has been shown that aphid settlement is higher on nitrogen rich plants (Nowak and Komor 2010). Thus if the phloem quality is not sufficient, aphids are more likely to start roaming about to test other feeding sites. It has been shown that aphids preferentially settled on plant stratum with the highest nitrogen availability (Chau et al. 2005). As both aphid population development and aphid dispersion influenced the abundances observed, it might explain the gap between the trends at the two study scales.

Part of the observed effect of water restriction on aphid abundance was mediated by plant growth. Deficit irrigation reduced vegetative growth at shoot and tree scales for both genotypes. In addition to plant growth reduction, water restriction also modified the relationship between aphid and vegetative growth, which might indicate additional physiological consequences of water restriction in terms of host tree suitability for aphid. Thus we evidenced effects of water restriction on both aphid performance and plant growth, but we did not find clear difference in midday leaf water potential. Therefore even if midday leaf water potential is known to be well correlated to predawn leaf water potential, which is considered as the most accurate indicator of plant water stress (Paço et al. 2013), in our experimental design it might not be the most relevant water status indicator. Water restriction induced modifications in other variables related to plant water status, which may have impacted aphid performance. Actually water restriction could increase sap viscosity (Sevanto 2014), due to higher solute concentration, which may impede efficient sap uptake by the aphid. Moreover aphids are affected by phloem carbohydrate concentrations that determine excretion costs (Zehnder and Hunter 2009), by turgor pressure (Mody et al. 2009; Verdugo et al. 2015) and cell wall thickness (Goggin 2007; Foyer et al. 2016) that influence phloem accessibility. Moreover, aphids have been shown to impact their host plant water potential, in ways similar to drought (Cabrera et al. 1995). In our study H^+ trees were also the most infested, so the differences in the severity of aphid infestation between H^+ and H^- might have reduce the difference in leaf water potential observed between the two water treatments. Moreover, since water restriction reduced tree growth, the leaf area transpiring was also reduced and the effect of water restriction might have been less than the one expected.

At the tree scale, water restriction seemed to impair aphid abundance. This negative effect can result from an increased leaf temperature consecutive to a decrease in leaf transpiration after stomata closure. On 30 DAI leaf temperature was significantly higher for GCG H^- compared to GCG H^+ , the difference between mean foliar temperatures was 3.7°C . This hypothesis is reinforced by the quicker decrease of aphid abundance on water restricted

Chapitre 6: Rosy apple aphid abundance is shaped by apple tree vegetative growth and water supply

trees after population peak for both genotypes. The decrease corresponded to a period of a peak of temperature above 42.5°C and up to 43.3°C under the insect-proof shelter. Thus we may have reach aphid lethal temperature, as heat coma temperature ranged between 42.0 and 42.6°C for *Myzus persicae*, the most heat resistant aphid species of the three tested (Hullé et al. 2010).

At the shoot scale, GCG showed a negative influence of water restriction on the relation between vegetative growth and aphid abundance, whereas DAG showed a positive influence. A modulation of the effect of water restriction by tree genotype has been observed on other tree-aphid systems for which tree genotypes tested had different genotypic resistance to aphids. These experiments were performed on young trees. On both poplar-*Phloeomyzus passerinii* (Dardeau et al. 2015) and peach tree-*Myzus persicae* (Verdugo et al. 2015) systems, water stress had no effect on aphid performance on aphid susceptible cultivar, but increased aphid performance on aphid resistant cultivar. Water restriction reduced vegetative growth for both genotypes at the two scales, so on DAG H⁻ apical shoot the negative effect of reduced vegetative growth on aphid abundance was counterbalanced by another characteristic of host plant suitability, which could be shoot N concentration. DAG H⁻ had the lowest number of proleptic structures, the difference being significant between DAG H⁻ and GCG H⁻, so nitrogen resource (mainly amino acids) might have been less diluted in those trees. Decreased C:N ratio or increased amino acids contents have been shown to increase aphid performance (Nowak and Komor 2010; Ryalls et al. 2014). This hypothesis relies furthermore on the assumption that the tree aphids gathered on the apical shoot because of its higher nutritional quality due to its position, as shown on *Dendranthema grandiflora*-*Aphis gossypii* system in which within plant aphid distribution is driven by nutrient availability (Chau et al. 2005). The absence of the expected marked differences in physiological measures of the trees of the two genotypes impair the identification of mechanisms acting differently on aphid performance between the two genotypes. According to Lauri *et al.* (2016), we expected DAG to close its stomata quicker than GCG. Our measured values of stomatal conductance of well-watered trees are halved compared to the values obtained by Lauri et al. (2016), which may result (i) from the high maximum daily temperature under our insect proof shelter: 35.1 ± 5.7 °C (mean \pm SD), which could result in decreased stomatal conductance (Greer 2015). (ii) It could also result from the use of a different rootstock, which influenced the response of the plant to water restriction (Liu et al. 2012). Photosynthetic rate was significantly impacted by watering treatment for only one date and furthermore only for DAG. Photosynthesis measurements taken at midday, could furthermore have been performed after stomatal closure for all treatments, given the high temperatures under the insect proof shelter. In addition, we expected GCG vegetative growth to be more impacted by water restriction than DAG, but we obtained the reverse.

Chapitre 6: Rosy apple aphid abundance is shaped by apple tree vegetative growth and water supply

The different effects of water restriction on aphid performance on DAG at tree and shoot scales underlined if need be the importance of the scale choice for the study of ecological processes. Most studies on tree-aphid interaction focused on a few number of sub-sample shoots (Stoeckli et al. 2008a; Rousselin et al. 2016), or even smaller scale, such as leaf (Mace and Mills 2015). In the present study we demonstrated that the patterns of response to abiotic constraints might be different between apical shoot and tree scales. As far as orchard aphid management is concerned, the patterns at the tree scale seem more representative of overall aphid damage. Thus the reduction of tree vigour can be a lever to control *D. plantaginea* populations. In addition, trees submitted to water restriction were less favourable to aphids than well watered trees, so it may be possible to address at the same time the water scarcity and the chemical use reduction issues, by reducing water supply in apple orchards.

6.6.Acknowledgements:

This work was funded by the ARIMNET (ANR-12-AGR-0001): “APMed” project (Apple and Peach in Mediterranean orchards). The PACA region (Provence-Alpes-Côtes d’Azur) and INRA (Institut National de Recherche Agronomique) founded the PhD grant of A. Rousselin. The GIS-Fruit (Groupement d’Intérêt Scientifique- Fruits) funded the internship grant of A. Sghaier. We would like to thank P.E. Lauri for providing the plant material used in this study and for advice. We would like to thank V. Serra, J.P. Lacroze and F. Bouvery for their technical help. The authors are grateful to A. Sghaier, N. Carles and S. Masson for their contribution to the field measurements.

6.7.Declaration of authorship:

AR, MOJ and MHS conceived the experiments; AR performed the experiments; AR, DB and MOJ analysed the data and conceived the manuscript. All authors contributed in discussing the results and ameliorated the final version of the manuscript.

6.8.Conflict of interest:

The authors declare that they have no conflict of interest.

DISCUSSION



Chapitre 7 : Discussion générale

Dans ce chapitre, nous commençons par exposer les principaux acquis de ce travail de thèse en nous appuyant lorsque cela est possible sur la comparaison des deux systèmes d'étude : pêcher-*Myzus persicae* et pommier-*Dysaphis plantaginea*. Dans un second temps nous abordons les limites de l'approche expérimentale mise en œuvre dans cette thèse. Nous finissons par les perspectives ouvertes par ce travail.

7.1. Principaux acquis du travail de thèse

Acquis relatifs aux deux systèmes d'étude

Corrélation positive entre la croissance végétative et l'abondance de pucerons

Myzus persicae et *Dysaphis plantaginea* ont pour site d'alimentation privilégié les apex en croissance et les jeunes feuilles respectivement, ils peuvent donc être qualifiés de 'flush feeders'. Sur nos deux systèmes d'étude, une forte corrélation positive a été trouvée entre la croissance végétative du rameau en nombre de feuilles et l'abondance des pucerons. Ce résultat est en adéquation avec la 'Plant Vigor Hypothesis' (Price 1991). Cette tendance est cohérente avec diverses études d'ores et déjà publiées sur ces deux systèmes, Grechi *et al.* (2008) et Simon *et al.* (2011b) respectivement.

L'effet de l'irrigation sur l'abondance des pucerons est dépendant du génotype de l'arbre et peut être partiellement médié par la croissance

A l'échelle du rameau, la restriction hydrique a eu un effet négatif sur l'abondance des pucerons sur le couple pêcher - *Myzus persicae* et sur le couple pommier GCG - *Dysaphis plantaginea*. Tandis que sur le couple pommier DAG - *D. plantaginea* la restriction hydrique a eu un effet positif sur l'abondance des pucerons.

Sur pêcher, nous n'avons pas détecté d'effet de la restriction hydrique sur la croissance, l'effet de la restriction hydrique sur la performance des pucerons n'est donc pas médié par la croissance végétative dans nos conditions expérimentales. Sur pommier, lorsque l'on prend en compte l'effet de la croissance sur la performance des pucerons, la restriction hydrique a un effet *per se*. Ainsi sur pommier, comme sur pêcher, la restriction hydrique a affecté d'autres métabolismes que la croissance végétative qui contribuent à la performance des pucerons. Il peut s'agir de la viscosité du phloème, liée au changement de concentration en sucres solubles

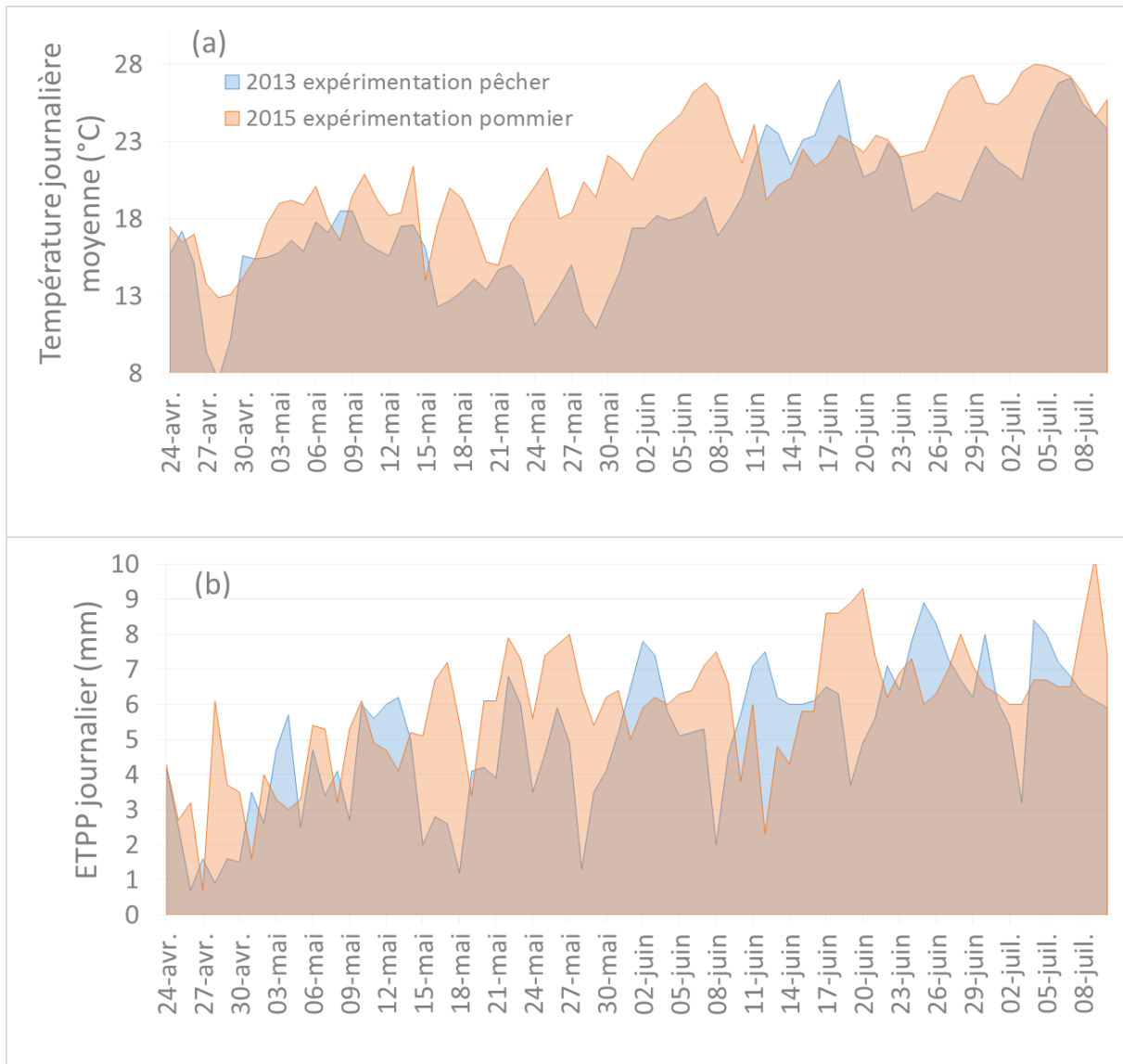


Figure 7-1: Données météorologiques pour la station d'Avignon pour les deux années d'expérimentation : 2013 (expérimentation pêcheur) et 2015 (expérimentation pommier) (a) température moyenne, (b) ETP (évapotranspiration) Penmann (données issues de Database Climatik, US 1116 Agroclim, INRA)

qui pénalise le puceron car (i) elle augmente la pression osmotique et oblige le puceron à prélever également de la sève xylémienne pour se désaltérer (Sun et al. 2016), (ii) le rapport N/C devient moins favorable, or l'excrétion du carbone excédentaire a un coût énergétique (Zehnder and Hunter 2009). L'augmentation des températures foliaires consécutive à la fermeture des stomates et à la réduction subséquente de la transpiration est également à prendre en considération. Nous avons observé cette tendance sur pommier. Une étude sur *Brassica oleracea-Myzus persicae* a montré que l'abondance de pucerons était négativement corrélée à

la température foliaire. La restriction hydrique en augmentant la température foliaire a réduit la fécondité des pucerons (Simpson et al. 2012).

Chez le pommier, la restriction hydrique modifie également la croissance végétative, ce qui peut expliquer une partie de l'effet de la restriction hydrique sur la performance des pucerons. En effet, sur les deux génotypes de pommier la croissance végétative du rameau en accroissement du nombre de feuilles a été impactée négativement par la restriction hydrique. A contrario sur pêcher aucun effet de la restriction hydrique n'a été décelé sur la croissance végétative, bien que cela ait pu l'être dans la littérature (Girona et al. 2003). Différents éléments peuvent expliquer ce résultat. D'une part, le printemps 2013 n'a pas été très favorable à la mise en place d'une restriction hydrique marquée. En effet, les températures moyennes journalières et les ETPP journalières de 2013 (expérimentation pêcher) étaient globalement plus faibles que celles de 2015 (expérimentation pommier) (Figure 7-1). La somme des ETPP journalières entre le 24 avril et le 10 juillet est de 393.7 mm en 2013 et de 456.6 en 2015. La demande climatique ayant été plus faible, la restriction des apports n'a sans doute pas été suffisante pour initier et maintenir un stress hydrique suffisamment important pour pénaliser la croissance. Ceci est d'autant plus vrai que la variable de croissance choisie dans notre étude, l'accroissement du nombre de feuilles, n'est pas la première à être impactée. En effet, le manque d'eau affecte la croissance (soit l'élongation et la croissance radiale des tiges, ainsi que la surface foliaire) avant l'organogénèse (ici l'initiation foliaire par les méristèmes apicaux) (Mitchell et al. 2013).

Généricité partielle des réponses du système arbre fruitier-puceron à la restriction hydrique à l'échelle du rameau

On a obtenu sur les systèmes pommier GCG-*Dysaphis plantaginea* et pêcher-*Myzus persicae* des réponses relativement similaires des pucerons, avec une corrélation positive entre croissance végétative et abondance de puceron et un impact négatif de la restriction hydrique. Cependant la généricité de ces réponses est mise à mal par le comportement du système pommier DAG-*Dysaphis plantaginea*, qui s'il confirme la relation positive entre croissance végétative et abondance de puceron, suggère un impact positif de la restriction hydrique sur la performance des pucerons.

Acquis relatifs au système pêcher-Myzus persicae

L'effet de la fertilisation azotée est médié par la croissance végétative

L'effet de la fertilisation azotée, sur pêcher, semble être médié par l'effet de l'azote sur la croissance, du moins pour les gammes de teneur en azote foliaire dans lesquelles nous avons travaillé. Ceci confirme les résultats de Sauge *et al.* (2010). Ce travail de thèse souligne que l'effet sur la croissance végétative est un élément important à considérer et ce même s'il est

possible que la croissance végétative augmentée aille de pair avec une augmentation de la qualité nutritionnelle. En effet, on ne peut pas exclure que la qualité nutritionnelle de la sève phloémienne soit positivement corrélée à la vigueur de croissance végétative.

L'abondance des pucerons dépend de l'interaction entre apport hydrique et croissance végétative

Le meilleur modèle statistique pour expliquer l'abondance des pucerons sur pêcher prend en compte l'interaction de la croissance végétative, fortement dépendante des apports azotés, et de la restriction hydrique. En condition de restriction hydrique, l'abondance de pucerons est apparue moins fortement favorisée par la croissance de l'arbre.

Acquis relatifs au système pommier-Dysaphis plantaginea

Effet de l'eau à l'échelle de l'arbre

A l'échelle de l'arbre l'abondance des pucerons a semblé limitée par la restriction hydrique. Les deux génotypes se comportaient de façon similaire à cet égard.

Effet du génotype

Les génotypes DAG et GCG n'ayant pas réagi au niveau physiologique à la restriction hydrique selon les mécanismes décrits dans l'étude de Lauri *et al.* (2016), il n'est pas possible de déduire de notre étude des informations sur les mécanismes sous-jacents à la réponse des pucerons.

Généricité des réponses : échelles d'analyse

L'étude sur pommier a permis de souligner l'importance du choix de l'échelle d'analyse dans l'identification des patterns d'interactions plante-insecte. En effet, pour un des deux génotypes (DAG), les réponses du système au stress hydrique sont apparues de sens opposés entre l'échelle du rameau apical et l'échelle de l'arbre. Ceci résulte peut-être d'une répartition hétérogène de la vigueur de croissance. Le choix du rameau apical comme rameau d'étude a été fait pour des raisons méthodologiques afin de maximiser les chances de succès de l'infestation et l'homogénéité de positionnement entre les différents arbres. Comme le montrent les photographies (Figure 7-5), au moment de l'infestation le développement végétatif des arbres était hétérogène. Certains arbres portent déjà des axes, alors que d'autres ont seulement quelques feuilles étalées. Comme pour l'ensemble des plants le bourgeon apical avait des feuilles étalés, il a été choisi de réaliser l'infestation sur cette structure. Notre rameau d'étude étant sur pommier le rameau apical, il est favorisé en terme de croissance par le développement acrotone du pommier, ce qui nuit à la généralité des relations observées sur ce rameau. La

disparité des réponses entre les échelles, constatée dans notre étude, explique peut-être en partie la disparité des résultats des études sur ce sujet.

De même, si à l'échelle de l'arbre les deux génotypes de pommier répondent à la restriction hydrique de la même façon, ce n'est pas le cas à l'échelle du rameau. Ceci tend à confirmer que le génotype de la plante hôte peut être une source importante de disparité des schémas de réponse des systèmes au sein de la littérature, comme suggéré dans le paragraphe 3.1.



Figure 7-2: Photographies de pommiers GCG et DAG le 26 avril 2015, soit deux jours avant l'infestation : forte hétérogénéité de développement

7.2.Limites de l'approche expérimentale

Effets des pucerons sur la plante

Nous n'avons étudié l'interaction que dans un sens, l'effet de la plante sur la performance des pucerons ; mais nous n'avons pas évalué les possibles effets des pucerons sur la croissance et la physiologie de la plante hôte.

L'objectif principal de notre étude était de déterminer si les effets de l'eau et de l'azote sur la performance des pucerons sont médiés par une modulation de la croissance végétative de la plante hôte. Par conséquent, nous avons mis l'accent sur la caractérisation de la croissance végétative de nos arbres pour la mettre en relation avec les abondances de pucerons. Cependant la limite de ce raisonnement est qu'il considère comme négligeable l'impact des pucerons sur la croissance végétative. De fait, l'absence d'arbres non infestés nous prive de la possibilité

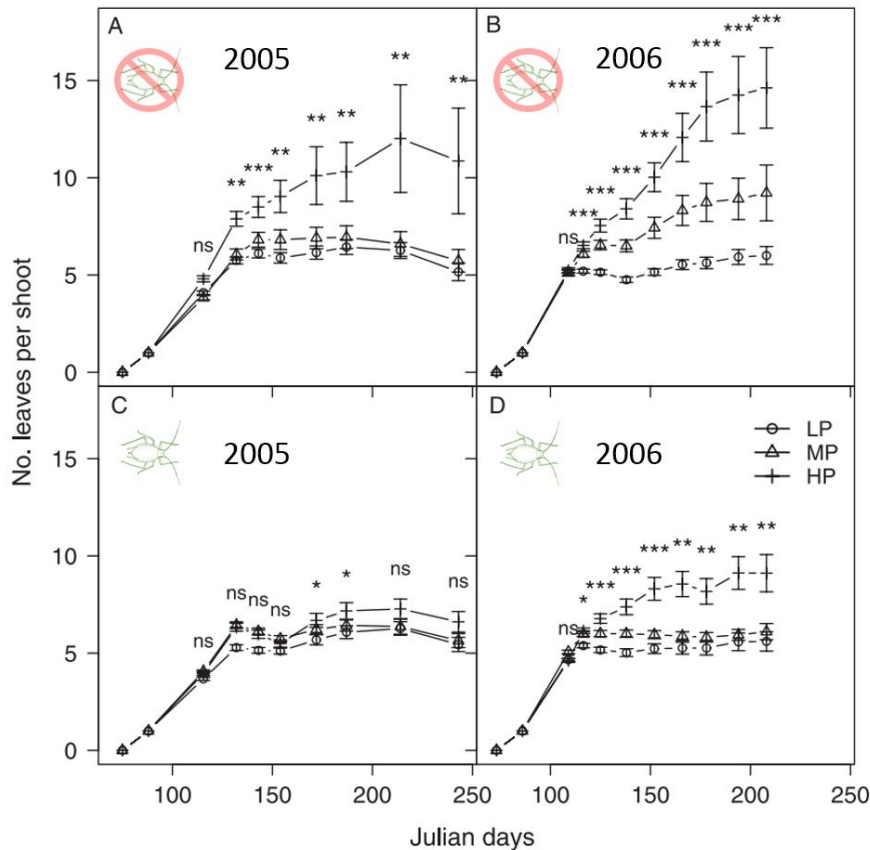


Figure 7-3: Croissance de rameau d'un an de pêcher en fonction de l'intensité de taille d'hiver: LP Low Pruning intensity, MP Moderate Pruning intensity, HP High Pruning intensity. (A) 2005 sans puceron, (B) 2006 sans puceron ; (C) 2005 avec pucerons ; (D) 2006 avec pucerons (Figure extraite de (Grechi et al. 2008))

d'évaluer l'impact des pucerons sur la plante. La croissance végétative que nous avons mesurée est la résultante de la vigueur initiale moins l'impact des pucerons. Or l'étude de Grechi *et al.* (2008) sur pêcher-*M. persicae* a montré que l'infestation par les pucerons réduisait les différences de croissance entre les pêchers subissant différentes modalités de taille hivernale (Figure 7-3). L'infestation cause une réduction moyenne de l'élongation de 18 et 35% en 2005 et 2006 respectivement (Grechi *et al.* 2008). Sur le système pommier - *D. plantaginea* un impact négatif des pucerons sur la surface foliaire a été démontré (De Berardinis *et al.* 1994). Des réductions de croissance liées aux populations de pucerons ont également été mises en évidence sur des systèmes herbacés : *Vigna unguiculata* - *Aphis craccivora* (Agele *et al.* 2006) et *Medicago sativa* - *Acyrtosiphon pisum* (Girousse *et al.* 2003). Zvereva *et al.* (2010) dans leur méta-analyse tendent à confirmer la généralité de ce résultat, puisqu'ils mettent en évidence que les insectes suceurs de sève diminuent en moyenne la croissance de 29%, et provoquent peu de croissance compensatoire, ce qu'ils relient à l'effet négatif de ces phytophages sur la photosynthèse (-27%). Cette conclusion a été confirmée par Simpson *et al.* (2012) sur choux. Pour ces auteurs la présence de *Myzus persicae* réduit la photosynthèse, les teneurs en chlorophylle et augmente le potentiel osmotique. En conséquence la croissance des plantes infestées est plus faible que celle des témoins. De même Cabrera *et al.* (1995) montrent que le potentiel hydrique et la résistance stomatique de plantules d'orge sont modifiés par le stress hydrique, mais également par l'infestation du puceron *Schizaphis graminum*. De plus, l'infestation avec un nombre important de pucerons provoque une augmentation de la concentration en proline et des diminutions de la concentration en chlorophylle (-55%), des concentrations en carbohydrates solubles et des taux d'assimilation du CO₂ (-26%) (Cabrera *et al.* 1995).

Le fait que les pucerons aient un impact fort sur le statut hydrique des plantes (Cabrera *et al.* 1995; Simpson *et al.* 2012) explique peut-être la difficulté de mise en relation des mesures physiologiques du statut hydrique des arbres avec le traitement hydrique dans notre étude. Par ailleurs l'impact des pucerons sur la croissance diminue probablement les écarts de croissance entre traitements (Figure 7-3).

Thigmomorphogénèse

Ce dispositif expérimental interroge sur la pertinence de mesures répétées sur les arbres, ce qui est par ailleurs le cas dans nombre d'études expérimentales. Cette manipulation répétitive non destructive des plantes peut en effet provoquer des réponses face aux stimuli mécaniques, qu'on regroupe sous le terme thigmomorphogénèse. Ainsi la stimulation mécanique a été montrée comme augmentant la ramification chez le rosier, ce qui provoque un port plus compact (Morel *et al.* 2012). Un essai sur les 3 menés dans le cadre d'une étude sur poivron a

montré une diminution de l'élongation de la tige et une augmentation de la concentration en azote (Kläring 1999). Une autre étude a montré que les mesures répétées pouvaient réduire jusqu'à 50% la biomasse des plantes observées et que l'effet était variable selon les espèces (De Boeck et al. 2008). L'étude de Markovic *et al.* (2014) a montré qu'un stimulus mécanique (passage d'un pinceau sur les feuilles) de 1 minute par jour pendant 6 jours réduit significativement l'acceptabilité de plants de maïs et de haricot pour les pucerons, *Rhopalosiphum padi* et *Aphis fabae* respectivement. Le stimulus mécanique modifie non seulement la croissance de la plante hôte, mais également d'autres aspects, puisque les pucerons



Pratiques culturales

Figure 7-4: Système étudié dans le cadre de cette thèse

sont moins attirés par les composés volatils des plantes ayant subi les stimuli (Markovic et al. 2014). Ainsi afin de limiter les interférences avec les processus étudiés, il serait sans doute judicieux d'espacer davantage dans le temps certaines mesures qui impliquent une manipulation forte des plants expérimentaux. Pour exemple, les mesures de croissance pourraient être réalisées toutes les 2 semaines au lieu de toutes les semaines.

Impacts des contraintes abiotiques sur le troisième niveau trophique

Nous n'avons considéré que deux niveaux trophiques : la plante et l'insecte phytophage grâce à la réalisation de l'essai sous tunnel insect-proof (Figure 7-4). Or les contraintes abiotiques subies par la plante hôte peuvent également altérer la performance des espèces des niveaux trophiques supérieurs. Sur coton par exemple, la restriction des apports en eau et des apports non optimum en azote (en excès ou en restriction) altèrent l'attraction du parasitoïde de *Spodoptera exigua* (Lepidoptera), *Microplitis croceipes* via une réduction de l'émission de composés volatils attractifs (Hymenoptera, Braconidae) (Olson et al. 2009). Low *et al.* (2014) ont montré que la disponibilité en nutriments augmentait la qualité nutritionnelle et l'émission d'huiles essentielles volatiles d'*Eucalyptus*

tereticonis. Parmi ces huiles, le 1,8-cinéol augmente la prédation, ce qui peut réduire voire annuler l'effet bénéfique de l'amélioration de la qualité nutritionnelle de l'hôte sur la dynamique de population de lépidoptères (Low et al. 2014). La vigueur de la plante hôte *Typha latifolia* est positivement corrélée à la taille des parasitoïdes de différentes chenilles phytophages : *Nonagria typhae* et *Archanara sparganii* (Teder and Tammaru 2002). Dans un contexte de contrôle de ravageurs en verger, un impact sur la performance des ennemis naturels peut être décisif sur l'efficacité du contrôle.

7.3. Perspectives et questions ouvertes par le travail de thèse

Mécanismes sous-jacents

Cette thèse a mis en évidence que l'impact de la restriction hydrique sur la performance des pucerons n'est pas médié en totalité par une modulation de la croissance végétative. Cet impact peut être lié à l'accessibilité du phloème (pression de turgescence, pression osmotique, viscosité) ou à une différence de qualité nutritionnelle de la sève phloémienne (concentration en acides aminés ou composés de défense). Cet aspect a fait l'objet d'une étude complémentaire menée au sein de notre laboratoire par Sophie Pointeau. Elle a montré que, sur pêcher, un stress hydrique même sévère n'a pas d'impact significatif sur la composition en sucres solubles et en acides aminés de la sève phloémienne prélevée par stylectomie. Néanmoins, la concentration en sucrose de la sève phloémienne est liée négativement au volume exsudé, ce qui tendrait à confirmer que le volume de sève prélevé dépend de la concentration en sucres solubles. Enfin les premiers résultats montrent que la composition de la sève phloémienne en sucres solubles et en acides aminés est indépendante de celles des apex. Ainsi les concentrations dans les apex ne sont pas représentatives des conditions instantanées (*i.e.* au moment du prélèvement de la sève par stylectomie) auxquelles sont soumises le puceron, mais reflète le passé récent (*i.e.* l'état de la plante pendant la formation de ces apex). En effet, la composition de la sève phloémienne subit de fortes variations au cours de la journée (Douglas 2006). Des réplicats de stylectomie ont montré que les concentrations en acides aminés de la sève phloémienne à un instant donné peuvent varier d'un facteur 3 à 5 entre différents tubes criblés (Douglas 2006), ce qui explique peut-être la difficulté de mise en relation des compositions de la sève phloémienne et des apex de la plante.

Ces études pourraient être complétées par des expériences fines en laboratoire de comportement d'alimentation du puceron sur des plants stressés et non stressés en eau, grâce à des techniques d'électropénétrographie, afin de confirmer le rôle de l'accessibilité du phloème, notamment de sa viscosité. Ce type d'étude a été mise en place pour creuser les liens entre fertilisation azotée et comportement alimentaire du puceron (Nowak and Komor 2010).

Ce travail a souligné que l'effet de la fertilisation azotée sur la performance des pucerons peut être médié par l'impact de la fertilisation sur la croissance végétative. Néanmoins d'autres études montrent que l'azote peut également avoir un effet via une modification de la qualité nutritionnelle de la sève phloémienne. Au vu de nos expérimentations, on ne peut pas exclure une amélioration de la qualité nutritionnelle corrélée à l'augmentation de la croissance végétative, puisque nous n'avons pas réalisé de dosages biochimiques de la sève phloémienne. Ainsi des tests de choix (Nowak and Komor 2010) sur feuilles excisées attestent de la préférence des pucerons *Uroleucon tanacetii* et *Macrosiphoniella tanacetaria* pour les feuilles les plus riches en azote. Cette préférence pourrait être la conséquence soit d'une augmentation de la teneur globale en acides aminés, soit uniquement de celles de certains acides aminés avec la fertilisation. La fertilisation (tout comme l'alimentation hydrique) peut également modifier le rapport C/N. Les acides aminés identifiés comme affectant les performances des pucerons varient en fonction des auteurs et des systèmes : alanine, glycine, isoleucine, leucine, phenylalanine, proline, serine, threonine, valine, tyrosine, acide glutamique et lysine (Ryalls et al. 2014), lysine, phenylalanine, tyrosine et histidine (Johnson et al. 2014) sur le système luzerne-*Acyrtosiphon pisum* ; arginine et augmentation globale des acides aminés sur le

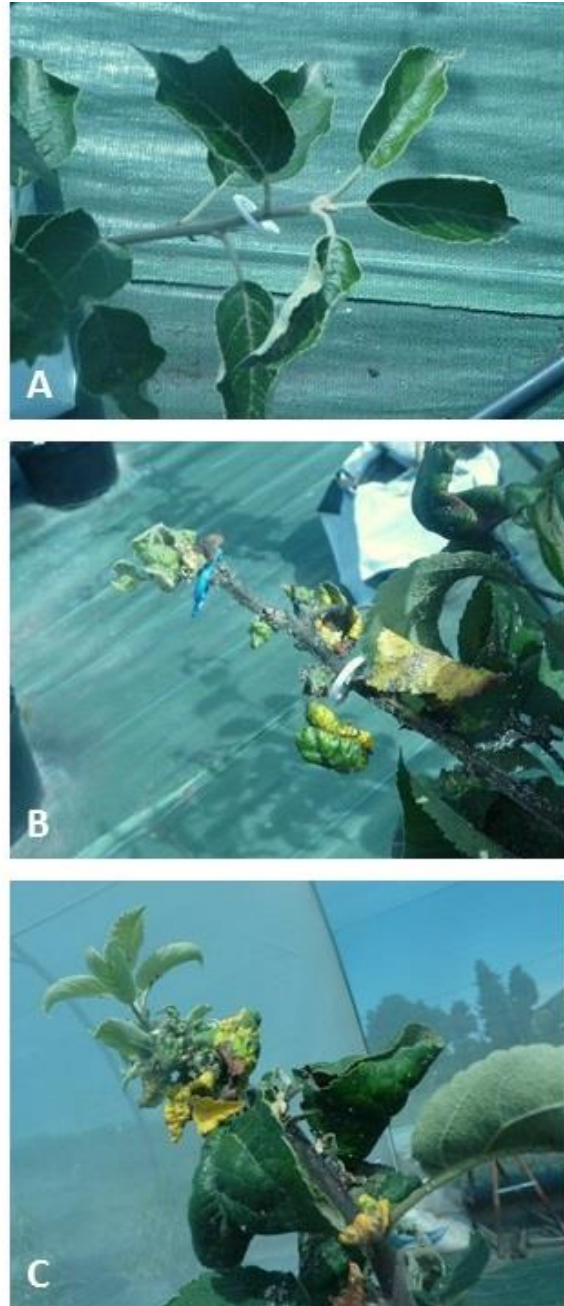


Figure 7-5: Photographies de plants de pommier lors de l'expérimentation de 2015 (19/06/15) (A) Apex en arrêt de croissance (B) Apex en arrêt de croissance avec d'importants dégâts liés aux pucerons (C) Apex en reprise de croissance avec d'importants dégâts liés aux pucerons

système tanaïse - *Uroleucon tanacetii* et *Macrosiphoniella tanacetaria* (Nowak and Komor 2010). Cependant une étude sur un mutant d'*Arabidopsis thaliana* présentant une augmentation de la proportion en acides aminés essentiels au sein de la sève phloémienne a montré peu d'effet sur la performance des pucerons (Hunt et al. 2006). Ainsi, la fertilisation azotée peut impacter simultanément la croissance aérienne et le métabolisme azoté (transport et allocation) et donc la qualité nutritionnelle de la plante pour le puceron. La réalisation de dosages biochimiques de la sève phloémienne par stylectomie entre les plants en confort azoté et en restriction azoté aurait pu nous permettre de trancher sur une possible implication de la modification de la qualité nutritionnelle dans l'effet de la fertilisation azotée sur la performance des pucerons.

Croissance compensatoire et architecture

Suite à une attaque de bioagresseurs, certaines plantes peuvent mettre en place une croissance compensatoire, elles altèrent alors leurs allocations de ressources, leur physiologie (exemple : augmentation des taux de photosynthèse) ou leur phénologie pour réduire l'impact des phytophages sur leur croissance et leur reproduction (Mattson 1980; Hawkes and Sullivan 2001; Savage et al. 2016). Certains auteurs suggèrent que les plantes poussant en conditions de ressources limitées sont plus à même que les plantes en conditions optimales de mettre en place une croissance compensatoire pour pallier les dégâts de la phytophagie (Hawkes and Sullivan 2001). Sur le système peuplier - *Chaitophorus leucomelas* [puceron], une diminution des apports en eau stimule la croissance compensatoire (Ramírez and Verdugo 2008). Cependant, sur notre système pommier-*Dysaphis plantaginea*, bien que différents comportements des apex aient été observés suite au pic d'infestation (Figure 7-5), une rapide analyse (Figure 7-6) n'a pas permis de mettre en évidence d'effet du traitement hydrique sur la croissance végétative (en augmentation du nombre de feuilles étalées) entre le pic d'infestation et

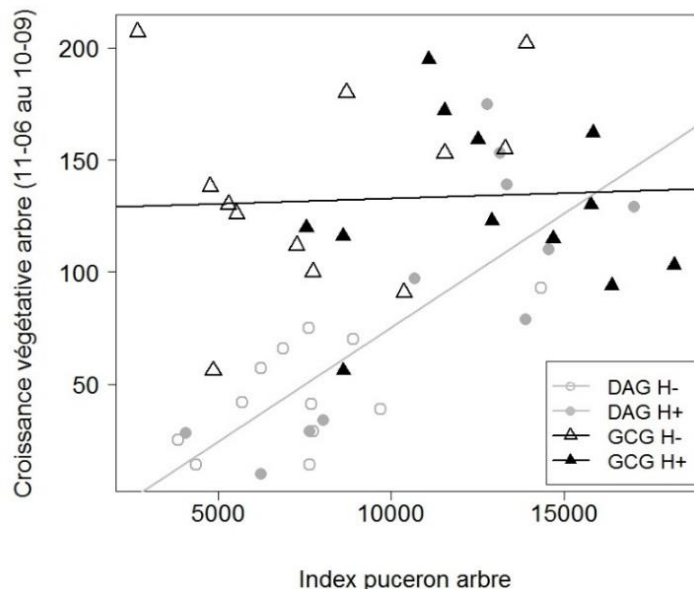


Figure 7-6: Relation entre la croissance végétative (en nombre de feuilles) après le pic d'infestation jusqu'au 10 septembre en relation avec l'abondance de pucerons (données de l'expérimentation pommier 2015)

le 10 septembre (date à laquelle la majorité des apex étaient en arrêt de croissance). Dans notre expérimentation, la croissance végétative après le pic d'infestation est positivement corrélée à l'intensité d'infestation pour le génotype DAG seulement, ce qui suggère que ce génotype est plus à même de compenser les dégâts causés par les pucerons.

Il est possible que sur les arbres ayant une qualité nutritionnelle moindre les pucerons, qui utilisent plusieurs sites d'alimentation au cours de leurs vies (Walling 2008), se déplacent plus afin de trouver les sites les plus favorables. Il a été montré sur chrysanthème, qu'*Aphis gossypii* se répartit dans les différentes strates de la plante pour se positionner dans les zones où la disponibilité en azote est maximale (Chau et al. 2005). Les données collectées, notamment sur pommier, décrivent semaine par semaine la croissance et le niveau d'infestation de chaque pousse. Ces données pourraient être utilisées pour étudier les schémas de dispersion des colonies de pucerons dans la canopée en fonction de variables caractérisant l'architecture de la plante (intensité des ramifications secondaires [voir exemple Fig. 3 Annexe 1], longueur des axes) et pour voir si ces schémas de dispersion sont influencés par le traitement hydrique.

Applicabilité sur plante en production

La réalisation d'expérimentations sur de petits arbres, nous a permis d'évaluer l'importance de la modulation de la croissance végétative pour les effets de l'azote et de l'eau sur la performance des pucerons. Cependant, étant donné que nos arbres expérimentaux ne portent pas de fruits on peut se poser la question de l'applicabilité des réponses observées sur nos arbres à des arbres en production. En effet, les fruits représentent un puits supplémentaire qui peut modifier la croissance et la composition des pousses feuillées. Sur pêcher, la production de fruits correspond à 65-70% de la production annuelle totale de biomasse (Naor et al. 2001). De plus, il a été montré que la présence de fruits impacte le fonctionnement physiologique de la plante hôte avec notamment sur pêcher, une augmentation de la conductance stomatique et des taux de transpiration (Naor et al. 2008). Ces deux aspects du statut hydrique peuvent fortement impacter la performance des pucerons. Par ailleurs, l'effet des pucerons sur le développement des fruits pourrait être une source de disparité entre nos deux systèmes d'études. Sur une variété tardive de pêches, aucun effet de l'abondance de *M. persicae* sur la production de fruits (poids frais) par arbre n'a été mis en évidence ; par contre les pucerons réduisaient l'indice réfractométrique (Grechi et al. 2008). Sur le système pommier - *D. plantaginea* la présence de pucerons réduit fortement la croissance des fruits, même lorsqu'ils sont présents en faible densité (De Berardinis et al. 1994). Comme nous l'avons souligné en analysant les limites de notre approche expérimentale, les niveaux trophiques supérieurs peuvent également être impactés par une modification de la qualité de la plante hôte. Par conséquent, lorsqu'on utilise des pratiques culturales pour favoriser les processus bottom-up pour la régulation des

populations de pucerons en verger, on ne doit pas faire l'impasse sur l'effet ces pratiques sur l'efficacité de régulation des phytophages par les prédateurs et parasitoïdes.

Devant le grand nombre d'interactions à considérer, l'utilisation de modèles mathématiques et de simulation pourrait être pertinente pour poursuivre ce travail de décomposition des mécanismes impliqués dans la régulation des populations de pucerons sur arbres fruitiers. Les données issues de cette thèse pourraient être utilisées pour alimenter des modèles existants, comme celui de Grechi *et al.* (2010), qui n'intègre pas l'effet de l'eau sur les interactions pècheur - *Myzus persicae*. La modélisation pourrait être utilisée pour sélectionner des combinaisons de pratiques pertinentes pour répondre au double objectif de maintenir le rendement et de réduire les intrants (eau, azote et insecticides). Cette pré-sélection permettrait de minimiser le nombre de modalités à tester expérimentalement.

Notre étude tend à montrer que les restrictions hydriques et azotées peuvent permettre de réduire la performance des pucerons, mais pas de rendre la plante complètement inadaptée au développement de ces phytophages. Cela tient aux gammes d'apports choisies qui tentent de concilier croissance végétative et diminution de l'acceptabilité de la plante pour les pucerons. La modulation de l'acceptabilité de la plante hôte via les pratiques culturales ne peut donc pas à elle seule permettre de contrôler les populations de pucerons en verger fruitier. Ces méthodes peuvent cependant participer à une stratégie globale de contrôle des bioagresseurs en étant combinée à d'autres techniques.

RÉFÉRENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

- Abu-Romman S, Ateyyat M (2014) Phenotypic and molecular screening of apple genotypes to woolly apple aphid resistance. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanica Cluj-Napoca* 42:99-103
- ACTA (1977a) Pommier I: aperçu sur les ravageurs et maladies. In: Contrôles périodiques en verger: pommier.
- ACTA (1977b) Pommier II: cycle évolutif des principaux ennemis. In: Contrôles périodiques en verger: pommier.
- ACTA (1979a) Pêcher I: aperçu sur les ravageurs et maladies. In: Contrôles périodiques en verger: pêcher.
- ACTA (1979b) Pêcher II: cycle évolutif des principaux ennemis. In: Contrôles périodiques en verger: pêcher.
- Agele SO, Ofuya TI, James PO (2006) Effects of watering regimes on aphid infestation and performance of selected varieties of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) in a humid rainforest zone of Nigeria. *Crop Protection* 25:73-78 doi:10.1016/j.cropro.2005.03.005
- Agreste (2015) Pratiques culturales en arboriculture. Les traitements phytosanitaires en arboriculture en 2012. Indicateurs de fréquence des traitements (IFT) par fruit et par région. <http://agreste.agriculture.gouv.fr/enquetes/pratiques-culturales/pratiques-culturales-en/>.
- Alford L, Blackburn TM, Bale JS (2012) Effects of acclimation and latitude on the activity thresholds of the aphid *Myzus persicae* in Europe. *Journal of Applied Entomology* 136:332-346 doi:10.1111/j.1439-0418.2011.01658.x
- Alkhedir H, Karlovsky P, Vidal S (2013) Relationship between water soluble carbohydrate content, aphid endosymbionts and clonal performance of *Sitobion avenae* on cocksfoot cultivars. *PLoS ONE* 8:e54327 doi:10.1371/journal.pone.0054327
- Alston FH, Briggs JB (1977) Resistance genes in apple and biotypes of *Dysaphis devecta*. *Annals of Applied Biology* 87:75-81 doi:10.1111/j.1744-7348.1977.tb00661.x
- Andreev R, Kutinkova H, Rasheva D (2012) Non-chemical control of *Aphis spiraeicola* patch and *Dysaphis plantaginea* pass. on apple. *Journal of Biopesticides* 5:239-242
- Angeli G, Simoni S (2006) Apple cultivars acceptance by *Dysaphis plantaginea* Passerini (Homoptera: Aphididae). *Journal of Pest Science* 79:175-179 doi:10.1007/s10340-006-0129-6
- Aqueel MA, Leather SR (2011) Effect of nitrogen fertilizer on the growth and survival of *Rhopalosiphum padi* (L.) and *Sitobion avenae* (F.) (Homoptera: Aphididae) on different wheat cultivars. *Crop Protection* 30:216-221 doi:10.1016/j.cropro.2010.09.013

- Aquilino KM, Cardinale BJ, Ives AR (2005) Reciprocal effects of host plant and natural enemy diversity on herbivore suppression: an empirical study of a model tritrophic system. *Oikos* 108:275-282 doi:10.1111/j.0030-1299.2005.13418.x
- Archer TL, Bynum ED, Onken AB, Wendt CW (1995) Influence of water and nitrogen-fertilizer on biology of the Russian wheat aphid (Homoptera, Aphididae) on wheat. *Crop Protection* 14:165-169 doi:10.1016/0261-2194(95)92872-K
- Archetti M, Leather SR (2005) A test of the coevolution theory of autumn colours: colour preference of *Rhopalosiphum padi* on *Prunus padus*. *Oikos* 110:339-343
- Arnoux M, Audemard H, Aymard J, Belluau E, Broquaire JM, Clanet H, Desvignes JC, Dosba F, Edin M, Faudrin JC, Fauvel G, Gendrier JP, Giauque P, Grassely C, Gorsclaude C, Guillaumin JJ, Hilaire C, Hugard J, Huguet C, Jacoutet I, Jailloux F, Jeay M, Labergere M, Lafuste JP, Laurent L, Luisetti J, Monet Y, Moras P, Morvan G, Panine M, Peyremorte P, Pinet C, Piquemal JP, Rageau R, Salgas C, Saunier R, Scotto C, Soing P, Souty M, Torregrossa JP, Vidaud J, Vigouroux A (1987) *Le pêcher: références et techniques*. CTIFL (Centre Technique Interprofessionnel des Fruits et Légumes), Cahors (France)
- Awmack CS, Leather SR (2002) Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annual Review of Entomology* 47:817-844 doi:10.1146/annurev.ento.47.091201.145300
- Banfield-Zanin JA, Leather SR (2014) Frequency and intensity of drought stress alters the population size and dynamics of *Elatobium abietinum* on Sitka spruce. *Annals of Applied Biology* 165:260-269 doi:10.1111/aab.12133
- Banfield-Zanin JA, Leather SR (2015a) Drought intensity and frequency have contrasting effects on development time and survival of the green spruce aphid. *Agricultural and Forest Entomology* 17:309-316 doi:10.1111/afe.12109
- Banfield-Zanin JA, Leather SR (2015b) Season and drought stress mediate growth and weight of the green spruce aphid on Sitka spruce. *Agricultural and Forest Entomology* 17:48-56 doi:10.1111/afe.12079
- Barbagallo S, Cocuzza G, Cravedi P, Komazaki S (2007) IPM Case studies: Deciduous fruit trees. In: Van Emden HF, Harrington R (eds) *Aphids as crop pests*. CABI, pp 651-661. doi:10.1079/9780851998190.0651
- Bass C, Puinean AM, Zimmer CT, Denholm I, Field LM, Foster SP, Gutbrod O, Nauen R, Slater R, Williamson MS (2014) The evolution of insecticide resistance in the peach potato aphid, *Myzus persicae*. *Insect biochemistry and molecular biology* 51:41-51 doi:10.1016/j.ibmb.2014.05.003
- Berkvens N, Van Vaerenbergh J, Maes M, Beliën T, Viaene N (2014) Entomopathogenic nematodes fail to parasitize the woolly apple aphid *Eriosoma lanigerum* as their symbiotic bacteria are suppressed. *Journal of Applied Entomology* 138:644-655 doi:10.1111/jen.12117
- Bertolino S, Asteggiano L, Saladini MA, Giordani L, Vittone G, Alma A (2014) Environmental factors and agronomic practices associated with Savi's pine vole abundance in Italian apple orchards. *Journal of Pest Science* 88:135-142 doi:10.1007/s10340-014-0581-7
- Bethke JA, Redak RA, Schuch UK (1998) Melon aphid performance on chrysanthemum as mediated by cultivar, and differential levels of fertilization and irrigation. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 88:41-47 doi:10.1046/j.1570-7458.1998.00344.x

- Bevacqua D, Genard M, Lescourret F (2012) A simple model to predict the probability of a peach (*Prunus persicae*) tree bud to develop as a long or short shoot as a consequence of winter pruning intensity and previous year growth. PLoS ONE 7:e52185 doi:10.1371/journal.pone.0052185
- Bevacqua D, Grechi I, Génard M, Lescourret F (2016) The consequences of aphid infestation on fruit production become evident in a multi-year perspective: Insights from a virtual experiment. Ecological Modelling 338:11-16 doi:10.1016/j.ecolmodel.2016.07.022
- Bird AE, Hesketh H, Cross JV, Copland M (2004) The common black ant, *Lasius niger* (Hymenoptera: Formicidae), as a vector of the entomopathogen *Lecanicillium longisporum* to rosy apple aphid, *Dysaphis plantaginea* (Homoptera: Aphididae). Biocontrol Science and Technology 14:757-767 doi:10.1080/09583150410001720716
- Boege K, Marquis RJ (2005) Facing herbivory as you grow up: the ontogeny of resistance in plants. Trends in ecology & evolution 20:441-448 doi:10.1016/j.tree.2005.05.001
- Bolker BM (2008) Ecological Models and Data in R. Princeton,
- Bonnemain JL (2010) Aphids as biological models and agricultural pests. Comptes rendus biologies 333:461-463 doi:10.1016/j.crv.2010.04.002
- Boo KS, Choi MY, Chung IB, Eastop VF, Pickett JA, Wadhams LJ, Woodcock CM (2000) Sex pheromone of the peach aphid *Tuberocephalus momonis*, and optimal blends for trapping males and females in the field. Journal of Chemical Ecology 26:601-609 doi:10.1023/A:1005415919226
- Bréda N, Huc R, Granier A, Dreyer E (2006) Temperate forest trees and stands under severe drought: a review of ecophysiological responses, adaptation processes and long-term consequences. Annals of Forest Science 63:625-644 doi:10.1051/forest:2006042
- Brewer MJ, Webster JA (2001) Probing behavior of *Diuraphis noxia* and *Rhopalosiphum maidis* (Homoptera: Aphididae) affected by barley resistance to *D. noxia* and plant water stress Population Ecology 30:1041-1046 doi:0046-225X/01/1041D1046\$02.00/0
- Brouwer R (1983) Functional equilibrium: sense or nonsense? Netherlands Journal of Agricultural Science 31:335-348
- Brown MW (2008) Sustainable biocontrol of apple insect pests. Pest Technology 2:98-103
- Brown MW, Mathews CR (2007) Conservation biological control of rosy apple aphid, *Dysaphis plantaginea* (Passerini), in Eastern North America. Environmental Entomology 36:1131-1139
- Bryant JP, Chapin FS, Klein DR (1983) Carbon/nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory. Oikos 40:357-368
- Bubier JL, Smith R, Juutinen S, Moore TR, Minocha R, Long S, Minocha S (2011) Effects of nutrient addition on leaf chemistry, morphology, and photosynthetic capacity of three bog shrubs. Oecologia 167:355-368 doi:10.1007/s00442-011-1998-9
- Bürgel K, Daniel C, Wyss E (2005) Effects of autumn kaolin treatments on the rosy apple aphid, *Dysaphis plantaginea* (Pass.) and possible modes of action. Journal of Applied Entomology 129:311-314 doi:10.1111/j.1439-0418.2005.00968.311-314
- Burnham KP, Anderson DR (2004) Multimodel inference: understanding AIC and BIC in model selection. Sociological Methods & Research 33:261-304 doi:10.1177/0049124104268644
- Bus VGM, Chagné D, Bassett HCM, Bowatte D, Calenge F, Celton JM, Durel CE, Malone MT, Patocchi A, Ranatunga AC, Rikkerink EHA, Tustin DS, Zhou J, Gardiner SE

- (2007) Genome mapping of three major resistance genes to woolly apple aphid (*Eriosoma lanigerum* Hausm.). *Tree Genetics & Genomes* 4:223-236 doi:10.1007/s11295-007-0103-3
- Cabrera HM, Argandona VH, Zuniga GE, Corcuera LJ (1995) Effect of infestation by aphids on the water status of barley and insect development. *Phytochemistry* 40:1083-1088 doi:10.1016/0031-9422(95)00325-2
- Cevik V, King J (2002) High-resolution genetic analysis of the Sd-1 aphid resistance locus in *Malus* spp. *Theoretical and Applied Genetics* 105:346-354 doi:10.1007/s00122-002-0904-6
- Chau A, Heinz KM, Davies FT (2005) Influences of fertilization on *Aphis gossypii* and insecticide usage. *Journal of Applied Entomology* 129:89-97 doi:10.1111/j.1439-0418.2005.00943.89-97
- Chenafi A, Monney P, Arrigoni E, Boudoukha A, Carlen C (2016) Influence of irrigation strategies on productivity, fruit quality and soil-plant water status of subsurface drip-irrigated apple trees. *Fruits* 71:69-78 doi:10.1051/fruits/2015048
- Coley PD, Bryant JP, Chapin FS (1985) Resource availability and plant antiherbivore defense. *Science* 230:895-899 doi:10.1126/science.230.4728.895
- Costello MJ (2008) Regulated deficit irrigation and density of *Erythroneura* spp. (Hemiptera: Cicadellidae) on grape. *Journal of Economic Entomology* 101:1287-1294 doi:10.1603/0022-0493(2008)101[1287:RDIADO]2.0.CO;2
- Cramer MD, Hawkins HJ, Verboom GA (2009) The importance of nutritional regulation of plant water flux. *Oecologia* 161:15-24 doi:10.1007/s00442-009-1364-3
- Czerniewicz P, Leszczynski B, Chrzanowski G, Sempruch C, Sytykiewicz H (2011) Effects of host plant phenolics on spring migration of bird cherry-oat aphid (*Rhopalosiphum padi* L.). *Allelopathy Journal* 27:309-316
- Da Silva D, Qin L, DeBuse C, DeJong TM (2014) Measuring and modelling seasonal patterns of carbohydrate storage and mobilization in the trunks and root crowns of peach trees. *Annals of Botany* 114:643-652 doi:10.1093/aob/mcu033
- Dapena E, Miñarro M (2001) Evaluation of the tolerance to the rosy apple aphid, *Dysaphis plantaginea* (Pass.) in descendants of the crossing 'Raxao' x 'Florina'. *IOBC/wprs Bulletin* 24:247-251
- Dardeau F, Berthier A, Feinard-Duranceau M, Brignolas F, Laurans F, Lieutier F, Sallé A (2015) Tree genotype modulates the effects of water deficit on a plant-manipulating aphid. *Forest Ecology and Management* 353:118-125 doi:10.1016/j.foreco.2015.05.037
- De Berardinis E, Baronio P, Baumgärtner J (1994) The effect of aphid (*Dysaphis plantaginea* Pass., Hom., Aphididae) feeding on apple fruit growth. *Ecological Modelling* 72:115-127
- De Boeck HJ, Liberloo M, Gielen B, Nijs I, Ceulemans R (2008) The observer effect in plant science. *New Phytologist* 177:579-583
- de la Rosa JM, Conesa MR, Domingo R, Pérez-Pastor A (2014) A new approach to ascertain the sensitivity to water stress of different plant water indicators in extra-early nectarine trees. *Scientia Horticulturae* 169:147-153 doi:10.1016/j.scienta.2014.02.021
- Dedryver CA, Le Ralec A, Fabre F (2010) The conflicting relationships between aphids and men: a review of aphid damage and control strategies. *Comptes rendus biologies* 333:539-553 doi:10.1016/j.crv.2010.03.009

- Delorme R, Ayala V, Touton P, Augé D, Vergnet C Le puceron cendré du pommier (*Dysaphis plantaginea*): Etude des mécanismes de résistance à divers insecticides. In: ANPP PF (ed) Cinquième conférence internationale sur les ravageurs, Montpellier (France), 1999. pp 89-97
- Dib H, Jamont M, Sauphanor B, Capowiez Y (2011) Predation potency and intraguild interactions between generalist (*Forficula auricularia*) and specialist (*Episyrphus balteatus*) predators of the rosy apple aphid (*Dysaphis plantaginea*). *Biological Control* 59:90-97 doi:10.1016/j.biocontrol.2011.07.012
- Dib H, Jamont M, Sauphanor B, Capowiez Y (2016a) The feasibility and efficacy of early-season releases of a generalist predator (*Forficula auricularia* L.) to control populations of the RAA (*Dysaphis plantaginea* Passerini) in Southeastern France. *Bulletin of entomological research* 106:233-241 doi:10.1017/S0007485315001042
- Dib H, Sauphanor B, Capowiez Y (2010a) Effect of codling moth exclusion nets on the rosy apple aphid, *Dysaphis plantaginea*, and its control by natural enemies. *Crop Protection* 29:1502-1513 doi:10.1016/j.cropro.2010.08.012
- Dib H, Sauphanor B, Capowiez Y (2016b) Effect of management strategies on arthropod communities in the colonies of rosy apple aphid, *Dysaphis plantaginea* Passerini (Hemiptera: Aphididae) in south-eastern France. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 216:203-206 doi:10.1016/j.agee.2015.10.003
- Dib H, Simon S, Sauphanor B, Capowiez Y (2010b) The role of natural enemies on the population dynamics of the rosy apple aphid, *Dysaphis plantaginea* Passerini (Hemiptera: Aphididae) in organic apple orchards in south-eastern France. *Biological Control* 55:97-109 doi:10.1016/j.biocontrol.2010.07.005
- Douglas AE (2006) Phloem-sap feeding by animals: problems and solutions. *Journal of Experimental Botany* 57:747-754 doi:10.1093/jxb/erj067
- Endara M-J, Coley PD (2011) The resource availability hypothesis revisited: a meta-analysis. *Functional Ecology* 25:389-398 doi:10.1111/j.1365-2435.2010.01803.x
- Falloon P, Betts R (2010) Climate impacts on European agriculture and water management in the context of adaptation and mitigation - the importance of an integrated approach. *The Science of the Total Environment* 408:5667-5687 doi:10.1016/j.scitotenv.2009.05.002
- FAO (2016) FAOstat Crops production data 2013. <http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/E>.
- Farooq M, Wahid A, Kobayashi N, Fujita D, Basra SMA (2009) Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development* 29:185-212 doi:10.1051/agro:2008021
- Fereres E, Evans RG (2005) Irrigation of fruit trees and vines: an introduction. *Irrigation Science* 24:55-57 doi:10.1007/s00271-005-0019-3
- Filajdić N, Sutton TB, Walgenbach JF, Unrath CR (1995) The influence of the apple aphid/spirea aphid complex on intensity of alternaria blotch of apple and fruit characteristics and yield. *Plant Disease* 79:691-694
- Forrest JMS, Dixon AFG (1975) The induction of leaf-roll galls by the apple aphids *Dysaphis devectora* and *D. plantaginea*. *Annals of Applied Biology* 81:281-288 doi:10.1111/j.1744-7348.1975.tb01643.x
- Foyer CH, Rasool B, Davey JW, Hancock RD (2016) Cross-tolerance to biotic and abiotic stresses in plants: a focus on resistance to aphid infestation. *Journal of Experimental Botany* doi:10.1093/jxb/erw079

- France Agrimer (2016) Les filières des fruits et légumes - Chiffres-clés 2014.
- García-Nieto PJ, García-Gonzalo E, Alonso Fernández JR, Díaz Muñoz C (2016) Using evolutionary multivariate adaptive regression splines approach to evaluate the eutrophication in the Pozón de la Dolores lake (Northern Spain). *Ecological Engineering* 94:136-151 doi:10.1016/j.ecoleng.2016.05.047
- Garzón A, Medina P, Amor F, Viñuela E, Budia F (2015) Toxicity and sublethal effects of six insecticides to last instar larvae and adults of the biocontrol agents *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) and *Adalia bipunctata* (L.) (Coleoptera: Coccinellidae). *Chemosphere* 132:87-93 doi:10.1016/j.chemosphere.2015.03.016
- Gentz MC, Murdoch G, King GF (2010) Tandem use of selective insecticides and natural enemies for effective, reduced-risk pest management. *Biological Control* 52:208-215 doi:10.1016/j.biocontrol.2009.07.012
- Giordanengo P, Febvay G, Rahbé Y (2007) Comment les pucerons manipulent les plantes. *Biofutur* 279:35-38
- Girona J, Behboudian MH, Mata M, Del Campo J, Marsal J (2010) Exploring six reduced irrigation options under water shortage for 'Golden Smoothie' apple: Responses of yield components over three years. *Agricultural Water Management* 98:370-375 doi:10.1016/j.agwat.2010.09.011
- Girona J, Mata M, Arbonès A, Alegre S, Rufat J, Marsal J (2003) Peach tree response to single and combined regulated deficit irrigation regimes under shallow soils. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 128:432-440
- Girousse C, Bournoville R, Bonnemain JL (1996) Water deficit-induced changes in concentrations in proline and some other amino acids in the phloem sap of alfalfa. *Plant Physiology* 111:109-103
- Girousse C, Faucher M, Kleinpeter C, Bonnemain J-L (2003) Dissection of the effects of the aphid *Acyrtosiphon pisum* feeding on assimilate partitioning in *Medicago sativa*. *New Phytologist* 157:83-92
- Girousse C, Moulia B, Silk W, Bonnemain JL (2005) Aphid infestation causes different changes in carbon and nitrogen allocation in alfalfa stems as well as different inhibitions of longitudinal and radial expansion. *Plant Physiology* 137:1474-1484 doi:10.1104/pp.104.057430
- Goggin FL (2007) Plant-aphid interactions: molecular and ecological perspectives. *Current Opinion in Plant Biology* 10:399-408 doi:10.1016/j.pbi.2007.06.004
- Gonthier DJ, Dominguez GM, Witter JD, Spongberg AL, Philpott SM (2013) Bottom-up effects of soil quality on a coffee arthropod interaction web. *Ecosphere* 4 doi:10.1890/es13-00072.1
- Gontijo LM, Beers EH, Snyder WE (2013) Flowers promote aphid suppression in apple orchards. *Biological Control* 66:8-15 doi:10.1016/j.biocontrol.2013.03.007
- Gotelli NJ, Ellison AM (2013) A primer of ecological statistics, Second Edition. Sinauer, Sunderland, Massachusetts U.S.A.
- Grechi I, Hilgert N, Sauphanor B, Senoussi R, Lescourret F (2010) Modelling coupled peach tree-aphid population dynamics and their control by winter pruning and nitrogen fertilization. *Ecological Modelling* 221:2363-2373 doi:10.1016/j.ecolmodel.2010.06.015

- Grechi I, Sauge M-H, Sauphanor B, Hilgert N, Senoussi R, Lescourret F (2008) How does winter pruning affect peach tree - *Myzus persicae* interactions? *Entomologia Experimentalis et Applicata* 128:369-379 doi:10.1111/j.1570-7458.2008.00720.x
- Greer DH (2015) Temperature-dependent responses of the photosynthetic and chlorophyll fluorescence attributes of apple (*Malus domestica*) leaves during a sustained high temperature event. *Plant physiology and biochemistry* 97:139-146 doi:10.1016/j.plaphy.2015.10.002
- Gutbrodt B, Dorn S, Mody K (2012) Drought stress affects constitutive but not induced herbivore resistance in apple plants. *Arthropod-Plant Interactions* 6:171-179 doi:10.1007/s11829-011-9173-0
- Hale BK, Bale JS, Pritchard J, Masters GJ, Brown VK (2003) Effects of host plant drought stress on performance of the bird cherry aphid, *Rhopalosiphum padi* (L.): a mechanistic analysis. *Ecological Entomology* 28:666-677 doi:10.1111/j.1365-2311.2003.00563.x
- Hamilton JG, Zangerl AR, DeLucia EH, Berenbaum MR (2001) The carbon-nutrient balance hypothesis: its rise and fall. *Ecology Letters* 4:86-95
- Hardy NB, Peterson DA, von Dohlen CD (2015) The evolution of life cycle complexity in aphids: Ecological optimization or historical constraint? *Evolution; international journal of organic evolution* 69:1423-1432 doi:10.1111/evo.12643
- Hawkes CV, Sullivan JJ (2001) The impact of herbivory on plants in different resource conditions: a meta-analysis. *Ecology* 82:2045-2058
- Hazell SP, Neve BP, Groutides C, Douglas AE, Blackburn TM, Bale JS (2010) Hyperthermic aphids: insights into behaviour and mortality. *Journal of Insect Physiology* 56:123-131 doi:10.1016/j.jinsphys.2009.08.022
- He M, Dijkstra FA (2014) Drought effect on plant nitrogen and phosphorus: a meta-analysis. *The New phytologist* 204:924-931 doi:10.1111/nph.12952
- Herms DA, Mattson WJ (1992) The dilemma of plants: to grow or defend. *The Quarterly Review of Biology* 67:283-335
- Hopper KR (2003) United States Department of Agriculture-Agricultural Research Service research on biological control of arthropods. *Pest management science* 59:643-653 doi:10.1002/ps.707
- Huberty AF, Denno RF (2004) Plant water stress and its consequences for herbivorous insects: a new synthesis. *Ecology* 85:1383-1398 doi:10.1890/03-0352
- Hullé M, Coeur d'Acier A, Bankhead-Dronnet S, Harrington R (2010) Aphids in the face of global changes. *Comptes rendus biologies* 333:497-503 doi:10.1016/j.crv.2010.03.005
- Hullé M, Turpeau E, Chaubet B (2006) Encyclop'aphid. INRA. <https://www6.inra.fr/encyclopedie-pucerons>.
- Hunt EJ, Pritchard J, Bennett MJ, Zhu X, Barrett DA, Allen T, Bale J, Newbury HJ (2006) The *Arabidopsis thaliana/Myzus persicae* model system demonstrates that a single gene can influence the interaction between a plant and a sap-feeding insect. *Molecular ecology* 15:4203-4213 doi:10.1111/j.1365-294X.2006.03090.x
- Hunter MD, Price PW (1992) Playing chutes and ladders: Heterogeneity and the relative roles of bottom-up and top-down forces in natural communities. *Ecology* 73:724-732
- Inbar M, Doostdar H, Mayer RT (2001) Suitability of stressed and vigorous plants to various insect herbivores. *Oikos* 94:228-235

- Jandricic SE, Filotas M, Sanderson JP, Wraight SP (2014) Pathogenicity of conidia-based preparations of entomopathogenic fungi against the greenhouse pest aphids *Myzus persicae*, *Aphis gossypii*, and *Aulacorthum solani* (Hemiptera: Aphididae). *Journal of invertebrate pathology* 118:34-46 doi:10.1016/j.jip.2014.02.003
- Johnson SN, Ryalls JMW, Karley AJ (2014) Global climate change and crop resistance to aphids: contrasting responses of lucerne genotypes to elevated atmospheric carbon dioxide. *Annals of Applied Biology* 165:62-72 doi:10.1111/aab.12115
- Jordan M-O, Wendler R, Millard P (2009) The effect of autumn N supply on the architecture of young peach (*Prunus persica* L.) trees. *Trees* 23:235-245 doi:10.1007/s00468-008-0271-2
- Jordan MO, Vercambre G, Gomez L, Pages L (2013) The early spring N uptake of young peach trees (*Prunus persica*) is affected by past and current fertilizations and levels of C and N stores. *Tree Physiology* doi:10.1093/treephys/tpt109
- Karagounis C, Kourdoumbalos AK, Margaritopoulos JT, Nanos GD, Tsitsipis JA (2006) Organic farming-compatible insecticides against the aphid *Myzus persicae* (Sulzer) in peach orchards. *Journal of Applied Entomology* 130:150-154 doi:10.1111/j.1439-0418.2006.01048.x
- Kehrli P, Wyss E (2001) Effects of augmentative releases of the coccinellid, *Adalia bipunctata*, and the insecticide treatments in autumn on the spring population of aphids of the genus *Dysaphis* in apple orchards. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 99:245-252
- King C, Jacob HS, Berlandier F (2006) The influence of water deficiency on the relationship between canola (*Brassica napus* L.), and two aphid species (Hemiptera: Aphididae), *Lipaphis erysimi* (Kaltenbach) and *Brevicoryne brassicae* (L.). *Australian Journal of Agricultural Research* 57:439-445 doi:10.1071/ar05137
- Kläring HP (1999) Effects of non-destructive mechanical measurements on plant growth: a study with sweet pepper (*Capsicum annum* L.). *Scientia Horticulturae* 81:369-375
- Koricheva J, Larsson S, Haukioja E (1998) Insect performance on experimentally stressed woody plants: a meta-analysis. *Annual Review of Entomology* 43:195-216 doi:10.1146/annurev.ento.43.1.195
- Kühn BF, Bertelsen M, Sørensen L (2011) Optimising quality-parameters of apple cv. 'Pigeon' by adjustment of nitrogen. *Scientia Horticulturae* 129:369-375 doi:10.1016/j.scienta.2011.03.033
- Kyto M, Niemela P, Larsson S (1996) Insects on trees: population and individual response to fertilization. *Oikos* 75:148-159 doi:10.2307/3546238
- Lambert P, Pascal T (2011) Mapping Rm2 gene conferring resistance to the green peach aphid (*Myzus persicae* Sulzer) in the peach cultivar "Rubira®". *Tree Genetics & Genomes* 7:1057-1068 doi:10.1007/s11295-011-0394-2
- Lamichhane JR, Arendse W, Dachbrodt-Saaydeh S, Kudsk P, Roman JC, van Bijsterveldt-Gels JEM, Wick M, Messéan A (2015) Challenges and opportunities for integrated pest management in Europe: A telling example of minor uses. *Crop Protection* 74:42-47 doi:10.1016/j.cropro.2015.04.005
- Larsson S (1989) Stressful times for the plant stress: insect performance hypothesis. *Oikos* 56:227-283 doi:10.2307/3565348
- Lauri P-É, Barigah TS, Lopez G, Martinez S, Losciale P, Zibordi M, Manfrini L, Corelli-Grappadelli L, Costes E, Regnard J-L (2016) Genetic variability and phenotypic

- plasticity of apple morphological responses to soil water restriction in relation with leaf functions and stem xylem conductivity. *Trees-Structure and Function* 30:1893-1908 doi:10.1007/s00468-016-1408-3
- Lawniczak AE, Zbierska J, Nowak B, Achtenberg K, Grzeskowiak A, Kanas K (2016) Impact of agriculture and land use on nitrate contamination in groundwater and running waters in central-west Poland. *Environmental monitoring and assessment* 188:172 doi:10.1007/s10661-016-5167-9
- Leclant F, Remaudière G (1970) Eléments pour la prise en considération des aphides dans la lutte intégrée en vergers de pêchers. *Entomophaga* 15:53-81
- Lee WW, Shin TY, Bae SM, Woo SD (2015) Screening and evaluation of entomopathogenic fungi against the green peach aphid, *Myzus persicae*, using multiple tools. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 18:607-615 doi:10.1016/j.aspen.2015.07.012
- Lerdau MT, Coley PD (2002) Benefits of the carbon-nutrient balance hypothesis. *Oikos* 98:534-536 doi:10.1034/j.1600-0706.2002.980318.x
- Li SH, Huguet JG, Schoch PG, Orlando P (1989) Response of peach tree growth and cropping to soil water deficit at various phenological stages of fruit development. *Journal of Horticultural Science* 64:541-552
- Liu BH, Cheng L, Ma FW, Liang D, Zou YJ (2012) Influence of rootstock on drought response in young 'Gala' apple (*Malus domestica* Borkh.) trees. *Journal of the science of food and agriculture* 92:2421-2427 doi:10.1002/jsfa.5647
- Lordan J, Alegre S, Gatiús F, Sarasua MJ, Alins G (2015) Woolly apple aphid *Eriosoma lanigerum* Hausmann ecology and its relationship with climatic variables and natural enemies in Mediterranean areas. *Bulletin of entomological research* 105:60-69 doi:10.1017/S0007485314000753
- Low PA, McArthur C, Fisher K, Hochuli DF (2014) Elevated volatile concentrations in high-nutrient plants: do insect herbivores pay a high price for good food? *Ecological Entomology* 39:480-491 doi:10.1111/een.12124
- MAAF, MEDDE (2015) Plan Ecophyto II. http://agriculture.gouv.fr/sites/minagri/files/151022_ecophyto.pdf.
- MAAF, MEDDE, OIEau (2015) Evaluation environnementale du projet d'arrêté modifiant le programme d'action national relatif à l'application de la directive 91/676 CEE dite directive "nitrates".
- Mace KC, Mills NJ (2015) Response of walnut aphid populations to increasing foliar nitrogen content. *Agricultural and Forest Entomology* 17:277-284 doi:10.1111/afe.12103
- Malagnoux L, Capowiez Y, Rault M (2015a) Impact of insecticide exposure on the predation activity of the European earwig *Forficula auricularia*. *Environmental science and pollution research international* 22:14116-14126 doi:10.1007/s11356-015-4520-9
- Malagnoux L, Marliac G, Simon S, Rault M, Capowiez Y (2015b) Management strategies in apple orchards influence earwig community. *Chemosphere* 124:156-162 doi:10.1016/j.chemosphere.2014.12.024
- Marannino P, De Lillo E (2007) *Capnodis tenebrionis* (L. 1758) (Coleoptera: Buprestidae): Morphology and behaviour of the neonate larvae, and soil humidity effects on the egg eclosion. *Annales de la Société Entomologique de France* 43:145-154 doi:10.1080/00379271.2007.10697504

- Marchetti E, Civolani S, Leis M, Chicca M, Tjallingii WF, Pasqualini E, Baronio P (2009) Tissue location of resistance in apple to the rosy apple aphid established by electrical penetration graphs. *Bulletin of insectology* 62:203-208
- Marette S, Messéan A, Millet G (2012) Consumers' willingness to pay for eco-friendly apples under different labels: Evidences from a lab experiment. *Food Policy* 37:151-161 doi:10.1016/j.foodpol.2011.12.001
- Markó V, Keresztes B (2014) Flowers for better pest control? Ground cover plants enhance apple orchard spiders (Araneae), but not necessarily their impact on pests. *Biocontrol Science and Technology* 24:574-596 doi:10.1080/09583157.2014.881981
- Markovic D, Glinwood R, Olsson U, Ninkovic V (2014) Plant response to touch affects the behaviour of aphids and ladybirds. *Arthropod-Plant Interactions* 8:171-181 doi:10.1007/s11829-014-9303-6
- Marliac G, Mazzia C, Pasquet A, Cornic J-F, Hedde M, Capowiez Y (2016) Management diversity within organic production influences epigeal spider communities in apple orchards. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 216:73-81 doi:10.1016/j.agee.2015.09.026
- Matis TI, Parajulee MN, Matis JH, Shrestha RB (2008) A mechanistic model based analysis of cotton aphid population dynamics data. *Agricultural and Forest Entomology* 10:355-362 doi:10.1111/j.1461-9563.2008.00389.x
- Mattson WJ (1980) Herbivory in relation to plant nitrogen content. *Annual Review of Ecology and Systematics* 11:119-161
- Médiène S, Pagès L, Jordan M-O, Le Bot J, Adamowicz S (2002) Influence of nitrogen availability on shoot development in young peach trees [*Prunus persica* (L.) Batsch]. *Trees* 16:547-554 doi:10.1007/s00468-002-0204-4
- Mercier V, Bussi C, Plenet D, Lescouret F (2008) Effects of limiting irrigation and of manual pruning on brown rot incidence in peach. *Crop Protection* 27:678-688 doi:10.1016/j.cropro.2007.09.013
- Mewis I, Khan MAM, Glawischnig E, Schreiner M, Ulrichs C (2012) Water stress and aphid feeding differentially influence metabolite composition in *Arabidopsis thaliana* (L.). *PLoS ONE* 7:e48661 doi:10.1371/journal.pone.0048661
- Millard P, Neilsen GH (1989) The influence of nitrogen supply on the uptake and remobilization of stored N for the seasonal growth of apple trees. *Annals of Botany* 63:301-309
- Miñarro M, Dapena E (2007) Resistance of apple cultivars to *Dysaphis plantaginea* (Hemiptera: Aphididae): Role of tree phenology in infestation avoidance. *Environmental Entomology* 36:1206-1211 doi:10.1603/0046-225X(2007)36[1206:ROACTD]2.0.CO;2
- Miñarro M, Dapena E (2008) Tolerance of some scab-resistant apple cultivars to the rosy apple aphid, *Dysaphis plantaginea*. *Crop Protection* 27:391-395 doi:10.1016/j.cropro.2007.07.003
- Mirás-Avalos JM, Alcobendas R, Alarcón JJ, Valsesia P, Génard M, Nicolás E (2013) Assessment of the water stress effects on peach fruit quality and size using a fruit tree model, QualiTree. *Agricultural Water Management* 128:1-12 doi:10.1016/j.agwat.2013.06.008

- Mitchell PJ, Battaglia M, Pinkard EA (2013) Counting the costs of multiple stressors: is the whole greater than the sum of the parts? *Tree Physiology* 33:447-450 doi:10.1093/treephys/tpt031
- Mody K, Eichenberger D, Dorn S (2009) Stress magnitude matters: different intensities of pulsed water stress produce non-monotonic resistance responses of host plants to insect herbivores. *Ecological Entomology* 34:133-143 doi:10.1111/j.1365-2311.2008.01053.x
- Moran NA (1992) The evolution of aphid life cycles. *Annual Review of Entomology* 37:321-348 doi:10.1146/annurev.en.37.010192.001541
- Morel P, Crespel L, Galopin G, Mouliat B (2012) Effect of mechanical stimulation on the growth and branching of garden rose. *Scientia Horticulturae* 135:59-64 doi:10.1016/j.scienta.2011.12.007
- Nagy C, Cross JV, Markó V (2013) Sugar feeding of the common black ant, *Lasius niger* (L.), as a possible indirect method for reducing aphid populations on apple by disturbing ant-aphid mutualism. *Biological Control* 65:24-36 doi:10.1016/j.biocontrol.2013.01.005
- Nagy C, Cross JV, Markó V (2015) Can artificial nectaries outcompete aphids in ant-aphid mutualism? Applying artificial sugar sources for ants to support better biological control of rosy apple aphid, *Dysaphis plantaginea* Passerini in apple orchards. *Crop Protection* 77:127-138 doi:10.1016/j.cropro.2015.07.015
- Naor A, Hupert H, Greenblat Y, Peres M, Kaufman A, Klein I (2001) The response of nectarine fruit size and midday stem water potential to irrigation level in stage III and crop load. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 126:140-143
- Naor A, Klein I, Hupert H, Grinblat Y, Peres M, Kaufman A (1999) Water stress and crop level interactions in relation to nectarine yield, fruit size distribution, and water potentials. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 124:189-193
- Naor A, Naschitz S, Peres M, Gal Y (2008) Responses of apple fruit size to tree water status and crop load. *Tree Physiology* 28:1255-1261
- Naschitz S, Naor A, Wolf S, Goldschmidt EE (2014) The effects of temperature and drought on autumnal senescence and leaf shed in apple under warm, east mediterranean climate. *Trees* 28:879-890 doi:10.1007/s00468-014-1001-6
- Neilsen GH, Neilsen D (2003) Nutritional requirements of apple. In: Ferree DC, Warrington IJ (eds) *Apples: Botany, production and uses*. CABI Publ, Wallingford, UK, pp 267-302. doi:10.1079/9780851995922.0000
- Nowak H, Komor E (2010) How aphids decide what is good for them: experiments to test aphid feeding behaviour on *Tanacetum vulgare* (L.) using different nitrogen regimes. *Oecologia* 163:973-984 doi:10.1007/s00442-010-1652-y
- Olesen JE, Trnka M, Kersebaum KC, Skjelvåg AO, Seguin B, Peltonen-Sainio P, Rossi F, Kozyra J, Micale F (2011) Impacts and adaptation of European crop production systems to climate change. *European Journal of Agronomy* 34:96-112 doi:10.1016/j.eja.2010.11.003
- Oliveira MD, Barbosa PRR, Silva-Torres CSA, Silva RR, Barros E, Torres JB (2014) Reproductive performance of striped mealybug *Ferrisia virgata* Cockerell (Hemiptera: Pseudococcidae) on water-stressed cotton plants subjected to nitrogen fertilisation. *Arthropod-Plant Interactions* 8:461-468 doi:10.1007/s11829-014-9320-5

- Olson DM, Cortesero AM, Rains GC, Potter T, Lewis WJ (2009) Nitrogen and water affect direct and indirect plant systemic induced defense in cotton. *Biological Control* 49:239-244 doi:10.1016/j.biocontrol.2009.02.011
- Paço TAd, Ferreira MI, Pacheco CA (2013) Scheduling peach orchard irrigation in water stress conditions: use of relative transpiration and predawn leaf water potential. *Fruits* 68:147-158 doi:10.1051/fruits/2013061
- Pallas B, Da Silva D, Valsesia P, Yang W, Guillaume O, Lauri PE, Vercambre G, Genard M, Costes E (2016) Simulation of carbon allocation and organ growth variability in apple tree by connecting architectural and source-sink models. *Annals of Botany* 118:317-330 doi:10.1093/aob/mcw085
- Pangga IB, Hanan J, Chakraborty S (2012) Climate change impacts on plant canopy architecture: implications for pest and pathogen management. *European Journal of Plant Pathology* 135:595-610 doi:10.1007/s10658-012-0118-y
- Parisi L, Gros C, Combe F, Parveaud C-E, Gomez C, Brun L (2013) Impact of a cultivar mixture on scab, powdery mildew and rosy aphid in an organic apple orchard. *Crop Protection* 43:207-212 doi:10.1016/j.cropro.2012.09.014
- Park HW, Kim HH, Cho MR, Kang TJ, Ahn S-J, Jeon SW, Choo HY (2013) Infectivity of entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* Pocheon strain (Nematoda: Steinernematidae) on the green peach aphid *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) and its parasitoids. *Biocontrol Science and Technology* 23:637-645 doi:10.1080/09583157.2013.786022
- Pascal T, Pfeiffer F, Kervella J, Lacroze J-P, Sauge MH (2002) Inheritance of green peach aphid resistance in the peach cultivar 'Rubira'. *Plant Breeding* 121:459-461 doi:10.1046/j.1439-0523.2002.734333.x
- Penvern S, Bellon S, Fauriel J, Sauphanor B (2010) Peach orchard protection strategies and aphid communities: Towards an integrated agroecosystem approach. *Crop Protection* 29:1148-1156 doi:10.1016/j.cropro.2010.06.010
- Pompon J, Quiring D, Goyer C, Giordanengo P, Pelletier Y (2011) A phloem-sap feeder mixes phloem and xylem sap to regulate osmotic potential. *Journal of Insect Physiology* 57:1317-1322 doi:10.1016/j.jinsphys.2011.06.007
- Ponder KL, Pritchard J, Harrington R, Bale JS (2000) Difficulties in location and acceptance of phloem sap combined with reduced concentration of phloem amino acids explain lowered performance of the aphid *Rhopalosiphum padi* on nitrogen deficient barley (*Hordeum vulgare*) seedlings. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 97:203-210 doi:10.1046/j.1570-7458.2000.00731.x
- Porter JR, Xie L, Challinor AJ, Cochrane K, Howden SM, Iqbal MM, Lobell DB, Travasso MI (2014) Food security and food production systems. In: Field CB et al. (eds) *Climate change 2014: impacts, adaptation, and vulnerability. Part A: Global and sectoral aspects. Contribution of working group II to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, pp 485-533
- Power ME (1992) Top-Down and Bottom-Up Forces in Food Webs: Do Plants Have Primacy? *Ecology* 73:733-746 doi:10.2307/1940153
- Price PW (1991) The plant vigor hypothesis and herbivore attack. *Oikos* 62:244-251 doi:10.2307/3545270

- Price PW (2002) Resource-driven terrestrial interaction webs. *Ecological Research* 17:241-247 doi:10.1046/j.1440-1703.2002.00483.x
- Pujol J (2014) Enquête Pratiques phytosanitaires en arboriculture 2012: Nombre de traitements. *Agreste Les Dossiers* 22
- Qubbaj T, Reineke A, Zebitz CPW (2005) Molecular interactions between rosy apple aphids, *Dysaphis plantaginea*, and resistant and susceptible cultivars of its primary host *Malus domestica*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 115:145-152 doi:10.1111/j.1570-7458.2005.00255.x
- R Core Team (2015) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria
- R Core Team (2016) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria
- Rahbé Y, Charles H, Calevro F, Simon J-C, Rispe C (2007) Unis pour survivre : les pucerons et leurs bactéries symbiotiques. *Biofutur* 279:49-52
- Rahmati M, Davarynejad GH, Genard M, Bannayan M, Azizi M, Vercambre G (2015) Peach water relations, gas exchange, growth and shoot mortality under water deficit in semi-arid weather conditions. *PLoS ONE* 10:1-19 doi:10.1371/journal.pone.0120246
- Ramírez CC, Verdugo JA (2008) Water availability affects tolerance and resistance to aphids but not the trade-off between the two. *Ecological Research* 24:881-888 doi:10.1007/s11284-008-0565-2
- Rimbaud L, Dallot S, Gottwald T, Decroocq V, Jacquot E, Soubeyrand S, Thebaud G (2015) Sharka epidemiology and worldwide management strategies: learning lessons to optimize disease control in perennial plants. *Annual review of phytopathology* 53:357-378 doi:10.1146/annurev-phyto-080614-120140
- Ro TH, Long GE (1999) GPA-Phenodynamics, a simulation model of the population dynamics and phenology of green peach aphid in potato: formulation validation, and analysis. *Ecological Modelling* 119:197-209
- Rousselin A, Sauge MH, Jordan MO, Vercambre G, Lescourret F, Bevacqua D (2016) Nitrogen and water supplies affect peach tree-green peach aphid interactions: the key role played by vegetative growth. *Agricultural and Forest Entomology* 18:367-375 doi:10.1111/afe.12168
- Ruiz-Sánchez MC, Domingo R, Castel JR (2010) Review. Deficit irrigation in fruit trees and vines in Spain. *Spanish Journal of Agricultural Research* 8:5-20
- Ryalls JM, Moore BD, Riegler M, Gherlenda AN, Johnson SN (2014) Amino acid-mediated impacts of elevated carbon dioxide and simulated root herbivory on aphids are neutralized by increased air temperatures. *Journal of Experimental Botany* 66:613-623 doi:10.1093/jxb/eru439
- Ryan GD, Shukla K, Rasmussen S, Shelp BJ, Newman JA (2014) Phloem phytochemistry and aphid responses to elevated CO₂, nitrogen fertilization and endophyte infection. *Agricultural and Forest Entomology* 16:273-283 doi:10.1111/afe.12055
- Ryan GD, Sylvester EVA, Shelp BJ, Newman JA (2015) Towards an understanding of how phloem amino acid composition shapes elevated CO₂ - induced changes in aphid population dynamics. *Ecological Entomology* 40:247-257 doi:10.1111/een.12181
- Ryan MG, Asao S (2014) Phloem transport in trees. *Tree Physiology* 34:1-4 doi:10.1093/treephys/tpt123

- Sauge M-H, Grechi I, Poëssel J-L (2010) Nitrogen fertilization effects on *Myzus persicae* aphid dynamics on peach: vegetative growth allocation or chemical defence? *Entomologia Experimentalis et Applicata* 136:123-133 doi:10.1111/j.1570-7458.2010.01008.x
- Sauge M-H, Mus F, Lacroze J-P, Pascal T, Kervella J, Poëssel J-L (2006) Genotypic variation in induced resistance and induced susceptibility in the peach-*Myzus persicae* aphid system. *Oikos* 113:305-313 doi:10.1111/j.2006.0030-1299.14250.x
- Sauge MH, Kervella J, Pascal T (1998) Settling behaviour and reproductive potential of the green peach aphid *Myzus persicae* on peach varieties and a related wild *Prunus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 89:233-242 doi:10.1046/j.1570-7458.1998.00404.x
- Sauge MH, Lacroze J-P, Poëssel J-L, Pascal T, Kervella J (2002) Induced resistance by *Myzus persicae* in the peach cultivar 'Rubira'. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 102:29-37 doi:10.1046/j.1570-7458.2002.00922.x
- Sauge MH, Lambert P, Pascal T (2011) Co-localisation of host plant resistance QTLs affecting the performance and feeding behaviour of the aphid *Myzus persicae* in the peach tree. *Heredity* 108:292-301 doi:10.1038/hdy.2011.74
- Savage JA, Clearwater MJ, Haines DF, Klein T, Mencuccini M, Sevanto S, Turgeon R, Zhang C (2016) Allocation, stress tolerance and carbon transport in plants: how does phloem physiology affect plant ecology? *Plant, cell & environment* 39:709-725 doi:10.1111/pce.12602
- Sevanto S (2014) Phloem transport and drought. *Journal of Experimental Botany* 65:1751-1759 doi:10.1093/jxb/ert467
- Shan LT, Feng MG (2010) Evaluation of the biocontrol potential of various *Metarhizium* isolates against green peach aphid *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae). *Pest management science* 66:669-675 doi:10.1002/ps.1928
- Shibata H, Branquinho C, McDowell WH, Mitchell MJ, Monteith DT, Tang J, Arvola L, Cruz C, Cusack DF, Halada L, Kopacek J, Maguas C, Sajidu S, Schubert H, Tokuchi N, Zahora J (2015) Consequence of altered nitrogen cycles in the coupled human and ecological system under changing climate: The need for long-term and site-based research. *Ambio* 44:178-193 doi:10.1007/s13280-014-0545-4
- Silfver T, Sinkkonen A, Oksanen E, Rousi M (2014) Early shoot growth termination in *Betula pendula* is associated with the number of overwintering aphid eggs on boreal birches. *Evolutionary Ecology* 29:157-167 doi:10.1007/s10682-014-9741-8
- Simon S, Bouvier J-C, Debras J-F, Sauphanor B (2010) Biodiversity and pest management in orchard systems. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 30:139-152 doi:10.1051/agro/2009013
- Simon S, Brun L, Guinaudeau J, Sauphanor B (2011a) Pesticide use in current and innovative apple orchard systems. *Agronomy for Sustainable Development* 31:541-555 doi:10.1007/s13593-011-0003-7
- Simon S, Morel K, Durand E, Brevalle G, Girard T, Lauri P-É (2011b) Aphids at crossroads: when branch architecture alters aphid infestation patterns in the apple tree. *Trees* 26:273-282 doi:10.1007/s00468-011-0629-8
- Simpson KLS, Jackson GE, Grace J (2012) The response of aphids to plant water stress - the case of *Myzus persicae* and *Brassica oleracea* var. *capitata*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 142:191-202 doi:10.1111/j.1570-7458.2011.01216.x

- Smith CM, Chuang WP (2014) Plant resistance to aphid feeding: behavioral, physiological, genetic and molecular cues regulate aphid host selection and feeding. *Pest management science* 70:528-540 doi:10.1002/ps.3689
- Snyder WE, Snyder GB, Finke DL, Straub CS (2006) Predator biodiversity strengthens herbivore suppression. *Ecology Letters* 9:789-796 doi:10.1111/j.1461-0248.2006.00922.x
- Spellman B, Brown MW, Mathews CR (2006) Effect of floral and extrafloral resources on predation of *Aphis spiraecola* by *Harmonia axyridis* on apple. *Biocontrol* 51:715-724 doi:10.1007/s10526-005-5252-4
- Stafford DB, Tariq M, Wright DJ, Rossiter JT, Kazana E, Leather SR, Ali M, Staley JT (2012) Opposing effects of organic and conventional fertilizers on the performance of a generalist and a specialist aphid species. *Agricultural and Forest Entomology* 14:270-275 doi:10.1111/j.1461-9563.2011.00565.x
- Stewart-Jones A, Pope TW, Fitzgerald JD, Poppy GM (2008) The effect of ant attendance on the success of rosy apple aphid populations, natural enemy abundance and apple damage in orchards. *Agricultural and Forest Entomology* 10:37-43 doi:10.1111/j.1461-9563.2007.00353.x
- Stoeckli S, Mody K, Dorn S (2008a) *Aphis pomi* (Hemiptera: Aphididae) population development, shoot characteristics, and antibiosis resistance in different apple genotypes. *Journal of Economic Entomology* 101:1341-1348 doi:10.1603/0022-0493(2008)101[1341:APHAPD]2.0.CO;2
- Stoeckli S, Mody K, Gessler C, Patocchi A, Jermini M, Dorn S (2008b) QTL analysis for aphid resistance and growth traits in apple. *Tree Genetics & Genomes* 4:833-847 doi:10.1007/s11295-008-0156-y
- Strauss SY (1987) Direct and indirect effects of host-plant fertilization on an insect community. *Ecology* 68:1670-1678 doi:10.2307/1939859
- Sun Y, Guo H, Ge F (2016) Plant-Aphid Interactions Under Elevated CO₂: Some Cues from Aphid Feeding Behavior. *Frontiers in plant science* 7:502 doi:10.3389/fpls.2016.00502
- Symmes EJ, Dewhurst SY, Birkett MA, Campbell CA, Chamberlain K, Pickett JA, Zalom FG (2012) The sex pheromones of mealy plum (*Hyalopterus pruni*) and leaf-curl plum (*Brachycaudus helichrysi*) aphids: identification and field trapping of male and gynoparous aphids in prune orchards. *Journal of Chemical Ecology* 38:576-583 doi:10.1007/s10886-012-0121-y
- Tariq M, Wright DJ, Rossiter JT, Staley JT (2012) Aphids in a changing world: testing the plant stress, plant vigour and pulsed stress hypotheses. *Agricultural and Forest Entomology* 14:177-185 doi:10.1111/j.1461-9563.2011.00557.x
- Teder T, Tammaru T (2002) Cascading effects of variation in plant vigour on the relative performance of insect herbivores and their parasitoids. *Ecological Entomology* 27:94-104
- Timilsena YP, Adhikari R, Casey P, Muster T, Gill H, Adhikari B (2015) Enhanced efficiency fertilisers: a review of formulation and nutrient release patterns. *Journal of the science of food and agriculture* 95:1131-1142 doi:10.1002/jsfa.6812
- Van Emden HF, Eastop VF, Hughes RD, Way MJ (1969) The ecology of *Myzus persicae*. *Annual Review of Entomology* 14:197-270 doi:10.1146/annurev.en.14.010169.001213

- VanWoerkom AH, Acimović SG, Sundin GW, Cregg BM, Mota-Sanchez D, Vandervoort C, Wise JC (2014) Trunk injection: An alternative technique for pesticide delivery in apples. *Crop Protection* 65:173-185 doi:10.1016/j.cropro.2014.05.017
- Verdugo JA, Francis F, Ramírez CC (2016) A review on the complexity of insect-plant interactions under varying levels of resources and host resistance: the case of *Myzus persicae*-*Prunus persica*. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement* 20
- Verdugo JA, Sauge M-H, Lacroze J-P, Francis F, Ramirez CC (2015) Drought-stress and plant resistance affect herbivore performance and proteome: the case of the green peach aphid *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). *Physiological Entomology* 40:265-276 doi:10.1111/phen.12111
- Vince SW, Valiela I, Teal JM (1981) An experimental study of the structure of herbivorous insect communities in a salt marsh. *Ecology* 62:1662-1678 doi:10.2307/1941520
- Walling LL (2008) Avoiding Effective Defenses: Strategies Employed by Phloem-Feeding Insects. *Plant Physiology* 146:859-866 doi:10.1104/pp.107.113142
- Wheat D (1980) Syllaptic branching in *Myrsine floridana* (Myrsinaceae). *American journal of botany* 67:490-499 doi:10.2307/2442288
- White TCR (1974) A Hypothesis to Explain Outbreaks of Looper Caterpillars, with Special Reference to Populations of *Selidosema suavis* in a Plantation of *Pinus radiata* in New Zealand. *Oecologia* 16:279-301
- White TCR (1984) The abundance of invertebrate herbivores in relation to the availability of nitrogen in stressed food plants. *Oecologia* 63:90-105 doi:10.1007/BF00379790
- White TCR (2009) Plant vigour versus plant stress: a false dichotomy. *Oikos* 118:807-808 doi:10.1111/j.1600-0706.2009.17495.x
- White TCR (2015) Senescence-feeders: a new trophic sub-guild of insect herbivores. *Journal of Applied Entomology* 139:11-22 doi:10.1111/jen.12147
- Wyss E (1995) The effects of weed strips on aphids and aphidophagous predators in an apple orchard. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 75:43-49 doi:10.1111/j.1570-7458.1995.tb01908.x
- Wyss E, Niggli U, Nentwig W (1995) The impact of spiders on aphid populations in a strip-managed apple orchard. *Journal of Applied Entomology* 119:473-478 doi:10.1111/j.1439-0418.1995.tb01320.x
- Wyss E, Villiger M, Hemptinne J-L, Müller-Schärer H (1999a) Effects of augmentative releases of eggs and larvae of the ladybird beetle, *Adalia bipunctata*, on the abundance of the rosy apple aphid, *Dysaphis plantaginea*, in organic apple orchards. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 90:167-173 doi:10.1046/j.1570-7458.1999.00435.x
- Wyss E, Villiger M, Müller-Schärer H (1999b) The potential of three native insect predators to control the rosy apple aphid, *Dysaphis plantaginea*. *Biocontrol* 44:171-182
- Zapata N, Nerilli E, Martinez-Cob A, Chalghaf I, Chalghaf B, Fliman D, Playan E (2013) Limitations to adopting regulated deficit irrigation in stone fruit orchards: a case study. *Spanish Journal of Agricultural Research* 11:529 doi:10.5424/sjar/2013112-2902
- Zehnder CB, Hunter MD (2009) More is not necessarily better: the impact of limiting and excessive nutrients on herbivore population growth rates. *Ecological Entomology* 34:535-543 doi:10.1111/j.1365-2311.2009.01101.x

- Zhou X, Feng M-G (2010) Improved sporulation of alginate pellets entrapping *Pandora nouryi* and millet powder and their potential to induce an aphid epizootic in field cages after release. *Biological Control* 54:153-158 doi:10.1016/j.biocontrol.2010.04.007
- Zvereva EL, Lanta V, Kozlov MV (2010) Effects of sap-feeding insect herbivores on growth and reproduction of woody plants: a meta-analysis of experimental studies. *Oecologia* 163:949-960 doi:10.1007/s00442-010-1633-1

ANNEXES

ANNEXE 1 : Proceeding paper Innohort ISHS International Symposium
(Avignon, June 8-12 2015)

Effects of nitrogen fertilisation and vegetative growth on the population dynamics of the aphid *Myzus persicae* in peach tree *Prunus persica*⁶

Aurélie Rousselin, Marie-Hélène Sauge, Gilles Vercambre, Daniele Bevacqua, Françoise Lescourret and Marie-Odile Jordan

UR 1115 Plantes et Systèmes de culture Horticoles (PSH), Domaine Saint Paul, INRA, 228 route de l'aérodrome, CS 40509, F-84914 Avignon Cedex 9, France

Keywords: pest management, phloem-feeder, nutrient availability, plant vigor hypothesis, bottom-up

Abstract

The green peach aphid, *Myzus persicae*, is a major pest in peach orchards. In order to find alternatives to the use of chemicals for aphid control, it is crucial to better understand the interactions between aphid population dynamics and tree status, i.e. growth and nutrient composition of the plant tissues. *M. persicae* acts as a flush feeder on peach tree. Aphid abundance is expected to be maximized on vigorous non-stressed plants, in concordance with the plant vigour hypothesis. How far cultural practices could be used to control plant vigour and in turn aphid population was tested on potted trees submitted to 2 levels of nitrogen supply (N+/N-), and artificially infested. We described shoot growth, leaf nitrogen concentration and aphid population levels during the entire infestation period (two months). When separately considering shoot growth and nitrogen treatment, we evidenced a positive effect of both factors on aphid population dynamics. However, when testing for the concurrent effects of both shoot growth and nitrogen treatment, only shoot growth had significant positive effect over aphid population dynamics. These results suggest that the observed effect of nitrogen treatment on aphid population dynamics may be an indirect one, mediated by a modification of plant growth.

INTRODUCTION

Abiotic factors such as temperature, nutrient availability and drought can have a strong impact on herbivores either directly or through their effects on plant (Evans *et al.*, 2012). Many ecological studies have been conducted in order to determine the outcome of the plant-insect

⁶ Article published in Acta Horticulturae, accepted 1 October 2015, published August 2016

interaction under stressful conditions. Two main concepts have been proposed: the Plant Vigour Hypothesis (PVH) states that insect performance is maximised on fast growing plant or organ (Price, 1991) whereas the Plant Stress Hypothesis (PSH) states that insect performance is maximised on stressed plants (White, 1984; Larsson, 1989). The PVH assumes that vigorous plants are more suitable hosts for phytophagous insects because of a higher availability of nutrients, lower abscission rates and higher osmotic potentials than stressed plants (Tariq *et al.*, 2012). The PSH is based on the occurrence of biochemical changes in plants under stress, such as increased level of soluble amino acids which are supposed to increase insect performance (Larsson, 1989). The Insect Performance Hypothesis, derived from the PSH, states that insects are favoured by intermediate levels of stress. Thus, at high stress levels, plants are no longer suitable hosts, because they are either dead, or do not provide an appropriate diet (Larsson, 1989).

Among the set of possible environmental constraints, the effect of nitrogen (N) availability on the outcome of the plant-pest interaction has been intensively studied with contrasted results. Some found a positive impact of N addition on insect performance (Glynn *et al.*, 2003; Chau *et al.*, 2005; Aqueel and Leather, 2011), while others found a negative impact (Bethke *et al.*, 1998). Some studies even showed a positive effect of N addition up to a point and a negative effect beyond (Zehner and Hunter, 2009; Sauge *et al.*, 2010). N addition can affect various characteristics of the host plant impacting phytophagous performance. It can have an impact on plant growth, it can modify biochemical source-sink relationship and so alter the biochemical composition of plant organ and phloem sap. Thus the goal of the present study is to evaluate if once vegetative growth is set aside there is still an effect of N addition on insect performance. The role of growth enhancement in the overall effect of N addition on phytophagous insect performance is rarely addressed in the literature.

We chose the peach tree (*Prunus persica*) – green peach aphid (*Myzus persicae*) system. Indeed, according to previous works, *M. persicae* behaves on peach tree according to the PVH (Grechi *et al.*, 2008), feeding preferentially on growing shoot apices (Sauge *et al.*, 1998). Moreover, the green peach aphid is a major agricultural pest, on its primary (peach tree) and some of its secondary hosts. On peach, it provokes leaf curling, leaf fall and meristem destruction. The present study aimed at testing whether the impact of nitrogen addition is mediated by a modification of plant growth, or if an effect of nitrogen addition *per se* is distinguishable. We set a factorial experiment in which we submitted different peach trees to two contrasting levels of nitrogen supply before artificial infestation. *In situ* monitoring of aphid performance and plant vegetative development were performed. In order to evaluate the relative part of N treatment and shoot growth on aphid population dynamics we chose a statistical approach: analysis of covariance (ANCOVA).

MATERIALS AND METHODS

Plant material and nitrogen treatment

Experiments were conducted on three-year-old peach trees [*Prunus persica* (L.) Batsch]. We used the cultivar ‘Magique’, a commercial variety susceptible to the green peach aphid, grafted on ‘Avimag-Cadaman’. The trees grew in 30L-pot containing a 50% mix of pozzolan and peat. During the autumn 2012, nitrogen fertilizer was added in the form of calcium nitrate and the supplies ranged between 7.2 g and 50.4 g N tree⁻¹. Trees were hand-pruned in January 2013 and settled under an insect-proof shelter on March 18 2013. During spring, the trees assigned to N+ level of N supply received 10 applications of calcium nitrate solution for a total of 22.2 g N tree⁻¹ and the trees assigned to N- level received 2 applications of fertilizer for a total of 2.0 g N tree⁻¹. Two shoots per tree directly inserted on one-year old wood were selected for infestation and *in situ* measurements. These studied shoots were composed of a main axis and potential secondary axes.

Aphid rearing and infestation

To ensure that aphids didn't differ in their intrinsic natural rate of increase, a single clone of *M. persicae* (Mp06) was used in this experiment. Mp06 was collected on a peach tree in 2013 in Avignon. Aphids were reared under parthenogenesis-inducing conditions in a laboratory 20°C (+/- 1°C), relative humidity 60-70%, under a 16-h-day cycle on the susceptible peach cultivar GF305. Five adult females were settled on each of the 2 studied shoots per tree on May 2 2013.

Data collection and biochemical determination

Nineteen trees were assessed to the N- treatment and 25 trees to the N+ treatment. The studied shoots were checked weekly between April 29 and July 2 for vegetative growth and between May 2 and June 25 for aphid population. Vegetative growth was evaluated by counting the number of newly expanded leaves (referred to as leaf expansion rate) on the studied shoots and noting the emergence (position: rank of its father growth unit (GU)), the type (developing buds, rosettes and long shoots as defined by Jordan *et al.*, 2009) and the growth (number of expanded leaves) of each single secondary shoot. Aphid population was assessed by assigning to each studied shoot one of the 6 classes: C0 (no aphid), C1 (1 to 5 aphids), 2 (6 to 25), C3 (26 to 125), C4 (125 to 625) and C5 (more than 625).

Leaf samples were taken periodically (04-29, 05-07, 05-22, 06-05, 06-20). Leaf nitrogen was measured on dry and grounded (MM301 Retsch, Germany) samples using an elemental analyser (Flash EA 1112, Thermo Finnigan Milan, Italy). The N treatment induced significant

differences in leaf nitrogen concentrations throughout the infestation period, with mean values of 2.37 ± 0.05 % and 3.21 ± 0.08 % for N- and N+ trees respectively.

Statistical analysis

For each tree, the data of the two studied shoots were averaged to create one mean shoot. To do so, the aphid infestation class of each individual shoot was transformed in aphid number by random drawing of a value between the class boundaries. Then we evaluated the effect of the N treatment on the numbers of aphids, of new expanded leaves and of secondary axes using the non-parametric Kruskal-Wallis test ($\alpha = 0.05$) (R 2.12.2 software, packages: MASS and coin). The mean shoots were divided into low (LI) and high infested (HI) shoots, depending on whether they hosted at the peak less or more than 125 aphids, which is the threshold for (i) exponential increase of the aphid population and (ii) apparition of significant damage on the shoot apices (Grechi *et al.*, 2008).

To disentangle the effects of plant growth and N treatment on infestation dynamics synthetic variables were built for each tree.

- Y (index of aphid infestation) is the sum of the aphid abundance from infestation to peak date (counting date at which the highest level of aphid population was recorded).

- G (plant growth index) is the number of leaves of the mean shoot (main and secondary axes) at peak date, minus the number at infestation (May 2).

An ANCOVA with Y as the explained variable, G as a continuous variable and nitrogen treatment (N) considered as a factorial variable was realised. We then used a forward stepwise procedure to select the best model based on Akaike information criterion (AIC), starting from the simplest model $Y = a$ to the more complex one: $Y = a + bG + cN + d(G \times N)$. We verified that the same model is selected with a backward stepwise procedure.

RESULTS

Nitrogen addition favoured aphid infestation

Aphid development was favoured by N supply (Fig. 1). There was a significant impact of the N treatment on aphid abundance at the peak and the first two counting dates.

Nitrogen had a significant effect on tree growth

N addition increased leaf expansion rate of the main axis and the emission rate of secondary axes (Fig. 2 (A)). The differences were significant between 12 and 54 days after

infestation (DAI) for the leaf expansion rate, that is to say that the number of newly expanded leaves was higher for the N+ trees quickly after infestation and remained higher till the end of the infestation (54 DAI). The absence of difference in leaf expansion rate 61 DAI between the N treatments shows that even if the growth of the main axis is faster for the N+ trees, it is slowed down earlier, maybe because of the development of secondary axes. Indeed the secondary ramification was significantly different between the two N treatments from 12 DAI onwards. The N+ trees had a final number of 2.10 ± 0.48 secondary axes, compared to 0.16 ± 0.11 for the N- trees.

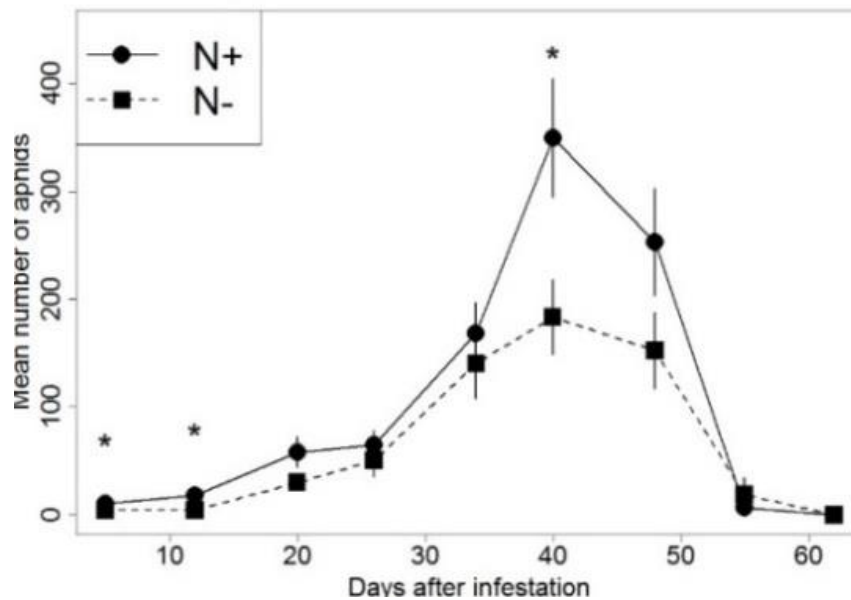


Figure 1: Mean number of aphids per shoot for the two levels of nitrogen supply at each date of notation. Asterisks indicate significant differences (test Kruskal-Wallis, $\alpha=0.05$). Vertical bars represent standard errors. Sample sizes: $n(N^-) = 19$; $n(N^+) = 25$

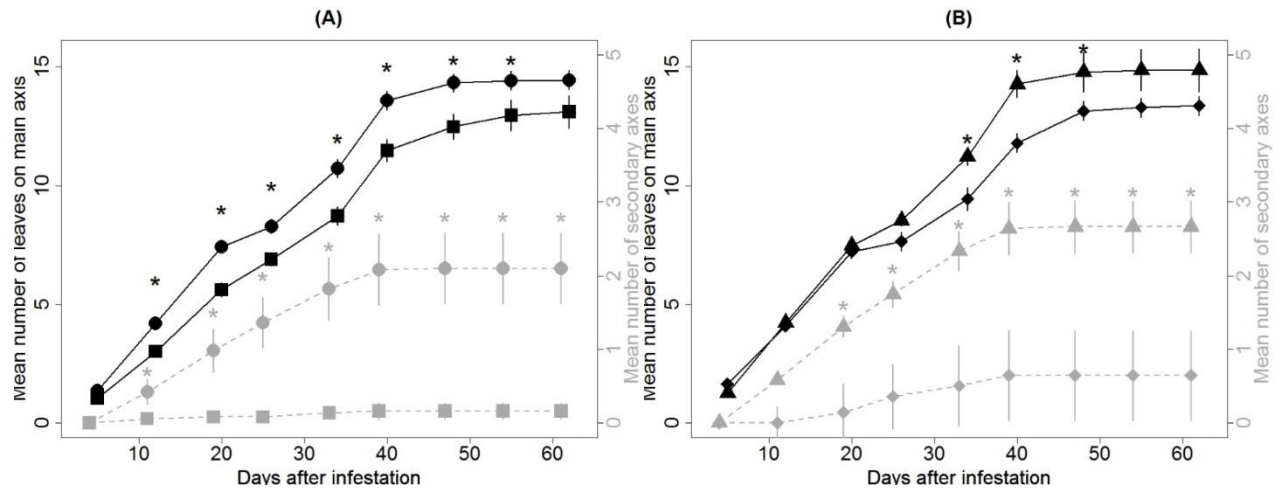


Figure 2:

(A) Nitrogen treatment effect on two components of tree growth: Circle symbols represent N+, square symbols represent N-. Sample sizes: $n(N^-) = 19$; $n(N^+) = 25$.

(B) Level of aphid infestation in the N+ treatment and two components of shoot growth. Two categories of shoots are defined: low aphid-infested shoots (diamond symbols) and high aphid-infested shoots (triangle symbols). ($n(N^+) = 25$)

On both graphs: black symbols and solid lines represent the mean number of leaves on main axis (as a sum of the new fully expanded leaves since infestation), grey symbols and dashed lines represent the mean number of secondary axes per main axis. Asterisks indicate significant differences (test Kruskal-Wallis, $\alpha=0.05$). Vertical bars indicate

Tree development was correlated to aphid infestation level

In the N+ trees, the infestation severity varied with leaf expansion rate and secondary axes emission (Fig. 2 (B)). The differences between HI (high infested) and LI (low infested) shoots were significant between 33 and 47 DAI for leaf expansion and from 19 DAI onwards for secondary emission. No significant difference of mean shoot development was evidenced for the N- trees between LI and HI shoots (data not shown).

Axillary buds developed in a greater extent in HI shoots. Thus, according to its position along the parent axis, the probability of a bud to break could reach 69%, compared to 31% for LI shoots (Fig. 3). On the HI shoots the proportion of long axes was also higher. Moreover the repartition of the axillary axes was more uniform for the HI shoots, with axillary axes development on GU 6 to 24 compared to GU 8 to 17 for LI shoots. Finally secondary axes growth (results not shown) depended mainly on their position along the parent shoot, the impact of infestation severity being almost nil. Ramification was strictly acrotonic for LI shoots but some buds developed late in the season (after 47 DAI) on basal positions (GU 9 to 11) on HI (results not detailed here).

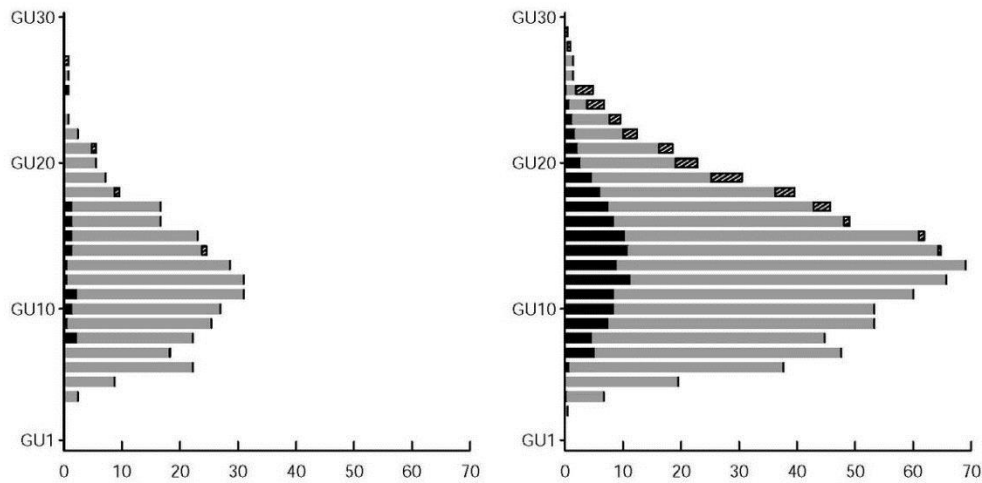


Figure 3: Proportion of emission and type of secondary shoots for the low aphid-infested shoot (left) and high aphid-infested shoot (right) along the parent axis (y axis representing the rank of insertion on the parent axis, GU meaning growth unit) on June 25 (54 days after infestation). Black stands for the proportion of long axes, grey for the proportion of rosettes and hatched for the proportion of developing buds (buds for which none of the leaves was fully expanded)

Model selection suggested that nitrogen effect on aphid population was mediated by growth

Both methods (backward and forward) of model selection gave $Y = a + bG$ as the best model, with a ΔAIC of 1.99 with the second model, that is to say that the variability in index of aphid infestation was better explained by a linear regression of plant growth index than by a more complex model integrating also N factor. The analysis of the model $Y = a + bG$ showed a significant effect of G (p-value < 0.001), the adjusted- R^2 was 0.4523 and the p-value was inferior to 0.001.

DISCUSSION

The model selection procedure suggests that the cumulative aphid population size at peak is better explained by vegetative growth (expressed as the number of new expanded leaves at peak infestation) alone, than by a more complex model taking into account nitrogen fertilisation level and the interaction between the two. *M. persicae* population size increased with enhanced tree vegetative growth. Our results are consistent with the Plant Vigour Hypothesis and corroborate previous findings by Grechi *et al.* (2008) on the same plant-aphid system. The positive response of the green peach aphid to peach tree vigour may be generic across various susceptible cultivars, namely Magique (this study) and Suncrest (Grechi *et al.*, 2008) and for different tree ages, i.e. 3 year-old trees (this study), adult trees of 7 and 8 years

old (Grechi *et al.*, 2008). No study has been conducted on the effect of N addition on peach tree non susceptible cultivars (both R-gene and QTL sources of resistance to *M. persicae* have been identified in *Prunus* (Pascal *et al.*, 2002)). It is difficult to make a prediction as there might be an effect of the interaction between genotype and N addition, as observed on barley-*Sitobion avenae* (F.) (Rowntree *et al.*, 2010).

Shoot axillary growth may be a key factor in determining the maximum size of the aphid colonies. Indeed, the intensity of secondary axes emission defines the number of feeding sites available for aphid population development. This hypothesis is reinforced by the positive correlation between the intensity of aphid infestation and the proportion of secondary shoots (Fig. 3). The N- shoots displayed nearly no secondary axis (in accordance with the results of Médiène *et al.*, 2002), which may explain a part of the vegetative growth mediated effect of N on aphids. Aphids modified secondary shoots growth only late in the season. Until near the infestation peak they seemed to have no impact on leaf emission rate which stayed mainly position dependant (according to Jordan *et al.*, 2009). But once the apical meristems had been destroyed on the main shoots and the upper secondary axes, compensatory axillary bud development started on basal positions. This plant response needs to be confirmed by further experiments.

We should be cautious with the conclusion provided by the model selection, because our statistical approach might hide the underlying mechanisms. For instance, the nutritional quality of the plant tissue may be correlated to vegetative growth and so we can have a qualitative impact of N addition on aphid diet that is not evidenced by our methodology. According to the Growth-Differentiation Balance Hypothesis, any environmental factor that decreases growth more than photosynthesis can increase the resource pool available for allocation to secondary metabolism (Herms and Mattson, 1992; Gutbrodt *et al.*, 2012). Trees that exhibit reduced growth due to N limitation may be able to invest more carbohydrates in secondary metabolism, and so in defence compounds.

Total N concentration, and a fortiori level of N addition used in the statistical analysis, are only rough estimations of the nutrient availability and quality for aphids as demonstrated by the comparisons of the N concentrations in leaves and in phloem sap collected by stylectomy (S. Pointeau, M.H. Sauge and G. Vercambre, pers. commun.). Further experimentations are still running to evaluate precisely the composition of the N pool (namely amino acid profiles) in relation with non-structural carbon availability. Indeed, the composition of the amino acid pool varies with plant N status (M.O. Jordan, pers. commun.) and can affect plant resistance (Johnson *et al.*, 2014).

Moreover our results might hold true only within the range of leaf nitrogen concentrations covered by this experiment. Other studies accounted for higher levels of nitrogen

additions. They found that aphid abundance was positively correlated with leaf N concentration up to an intermediate N level, whereas it was negatively correlated with leaf N concentration above this level (Zehnder and Hunter 2009; Sauge *et al.*, 2010). The study of Sauge *et al.* (2010) on peach tree placed this threshold at 3.3% N (dry weight). From the dosage of May 22, every tree of our experiment had a value of leaf nitrogen concentration lower than this threshold so that our results are consistent with those of Sauge *et al.* (2010).

Finally, other factors not taken into account in this study may play an important role, such as plant water status for example, which has been shown to have an impact on the outcome of insect-plant interactions (Tariq *et al.*, 2012; Grinnan *et al.*, 2013).

CONCLUSION

We can highlight the following results from the present study:

- The peach tree – *Myzus persicae* system follows the Plant Vigour Hypothesis
- Nitrogen addition results in vegetative growth enhancement, in terms of number of leaves of the main axis and of number of secondary shoots.
- The results of the model selection procedure suggests that there might be no effect of nitrogen addition on aphid dynamics other than the one mediated by plant growth modification. Our hypothesis does not exclude other mechanisms impacting aphid performance such as the modification of diet quality. Any modification of the composition or concentrations in amino acids and defensive compounds can alter aphid feeding behaviour (duration and rate of food uptake) and thus long term performance. It may be interesting to test aphid individual performance on a wider range of nitrogen supplies, in order to evaluate the impact of the nutritional quality when the availability of the feeding sites is not a limiting factor. Ideally, to dissociate the effects of N status and vegetative growth on aphid performance, one should modify leaf N concentrations without impairing vegetative growth.

As growth seems to have an impact on the outcome of plant-pest interaction, the management of plant vigour combined with other alternatives such as genetic resistance can help to reduce the use of pesticides.

Acknowledgements

We gratefully acknowledge M. Couëllier for her work on the experiment and J.P. Lacroze for his assistance. This work was supported by a grant of the ARIMNET APMed Project. The PhD thesis of A. Rousselin is granted by PACA Region and INRA.

Literature Cited

- Aqueel, M.A. and Leather, S.R. 2011. Effect of nitrogen fertilizer on the growth and survival of *Rhopalosiphum padi* (L.) and *Sitobion avenae* (F.) (Homoptera: Aphididae) on different wheat cultivars. *Crop Prot.* 30:216-221.
- Bethke, J.A., Redak, R.A. and Schuch, U.K. 1998. Melon aphid performance on chrysanthemum as mediated by cultivar, and differential levels of fertilization and irrigation. *Entomol. Exp. Appl.* 88:41-47.
- Chau, A., Heinz, K.M. and Davies, F.T. 2005. Influences of fertilization on *Aphis gossypii* and insecticide usage. *J. Appl. Entomol.* 129:89-97.
- Evans, L.M., Clark, J.S., Whipple, A.V. and Whitham, T.G. 2012. The relative influences of host plant genotype and yearly abiotic variability in determining herbivore abundance. *Oecologia* 168:483-489.
- Glynn, C., Herms, D.A., Egawa, M., Hansen, R.C. and Mattson, W.J. 2003. Effects of nutrients availability on biomass allocation as well as constitutive and rapid induced herbivore resistance in poplar. *Oikos* 101:385-397.
- Grechi, I., Sauge, M.H., Sauphanor, B., Hilgert, N., Senoussi, R. and Lescourret, F. 2008. How does winter pruning affect peach tree-*Myzus persicae* interactions? *Entomol. Exp. Appl.* 128:369-379.
- Grinnan, R., Carter, T.E. and Johnson, M.T.J. 2013. Effects of drought, temperature, herbivory, and genotype on plant-insect interactions in soybean (*Glycine max*). *Arthropod-Plant Interact.* 7:201-215.
- Gutbrodt, B., Dorn, S. and Mody, K. 2012. Drought stress affects constitutive but not induced herbivore resistance in apple plants. *Arthropod-Plant Interact.* 6:171-179.
- Herms, D.A. and Mattson, W.J. 1992. The dilemma of plants: to grow or defend. *Q. Rev. Biol.* 67:283-335.
- Johnson, S.N., Ryalls, J.M.W. and Karley, A.J. 2014. Global climate change and crop resistance to aphids: contrasting responses of lucerne genotypes to elevated atmospheric carbon dioxide. *Ann. Appl. Biol.* 165:62-72.
- Jordan, M.O., Wendler, R. and Millard, P. 2009. The effect of autumn N supply on the architecture of young peach (*Prunus persica* L.) trees. *Trees* 23:235-245.
- Larsson, S. 1989. Stressful times for the plant stress: insect performance hypothesis. *Oikos* 56:227-283.
- Médiène, S., Pagès, L., Jordan, M.O., Le Bot, J. and Adamowicz, S. 2002. Influence of nitrogen availability on shoot development in young peach trees [*Prunus persica* (L.) Batsch]. *Trees* 16:547-554.
- Pascal, T., Pfeiffer, F., Kervella, J., Lacroze, J.P. and Sauge, M.H. 2002. Inheritance of green peach aphid resistance in the peach cultivar 'Rubira'. *Plant Breeding* 121:459-461.
- Price, P.W. 1991. The plant vigor hypothesis and herbivore attack. *Oikos* 62:244-251.
- R Development Core Team. 2011. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.
- Rowntree, J.K., McVennon, A. and Preziosi, R.F. 2010. Plant genotype mediates the effects of nutrients on aphids. *Oecologia* 163:675-679.

- Sauge, M.H., Kervella, J. and Pascal, T. 1998. Settling behaviour and reproductive potential of the green peach aphid *Myzus persicae* on peach varieties and a related wild *Prunus*. Entomol. Exp. Appl. 89:233-242.
- Sauge, M.H., Grechi, I. and Poëssel, J.L. 2010. Nitrogen fertilization effects on *Myzus persicae* aphid dynamics on peach: vegetative growth allocation or chemical defence? Entomol. Exp. Appl. 136:123-133.
- Tariq, M., Wright, D.J., Rossiter, J.T. and Staley, J.T. 2012. Aphids in a changing world: testing the plant stress, plant vigour and pulsed stress hypotheses. Agr. Forest Entomol. 14:177-185.
- White, T.C.R. 1984. The abundance of invertebrate herbivores in relation to the availability of nitrogen in stressed food plants. Oecologia 63:90-105.
- Zehnder, C.B. and Hunter, M.D. 2009. More is not necessarily better: the impact of limiting and excessive nutrients on herbivore population growth rates. Ecol. Entomol. 34:535-543.