



**HAL**  
open science

# Influence de la distance aux bandes fleuries sur la consommation de nectar et le contrôle du puceron par le parasitoïde *Diaeretiella rapae* en parcelle de colza

Simon Dosdat

## ► To cite this version:

Simon Dosdat. Influence de la distance aux bandes fleuries sur la consommation de nectar et le contrôle du puceron par le parasitoïde *Diaeretiella rapae* en parcelle de colza . Sciences de l'environnement. 2014. hal-01836419

**HAL Id: hal-01836419**

**<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01836419v1>**

Submitted on 12 Jul 2018

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

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



## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : [ddoc-memoires-contact@univ-lorraine.fr](mailto:ddoc-memoires-contact@univ-lorraine.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

[http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg\\_droi.php](http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

2013 - 2014

MASTER FAGE

Biologie et Ecologie pour la Forêt, l'Agronomie et l'Environnement

Spécialité Agroécologie

Influence de la distance aux bandes fleuries  
sur la consommation de nectar et le contrôle du puceron  
par le parasitoïde *Diaeretiella rapae* en parcelle de colza



Simon Dosdat

Mémoire de stage, soutenu à Nancy le 02/09/2014

Maître de stage : Jaloux Bruno  
Tuteur universitaire : Slezack-Deschaumes Sophie

UMR IGEPP - Agrocampus Ouest Angers

## - Résumé -

L'implantation en bordure de parcelle de ressources nutritives pour les ennemis naturels, sous la forme de bandes fleuries, présente un grand intérêt pour la lutte biologique contre les ravageurs des cultures. Les ressources sucrées améliorent la *fitness* des parasitoïdes, mais il est difficile de suivre leur consommation en milieu agricole. Dans cette étude nous avons développé une méthode inédite d'enrichissement isotopique en  $^{13}\text{C}$  par Cotton-wick, adapté au marquage du nectar extra-floral du bleuet *Centaurea cyanus*, afin de pouvoir identifier, parmi les parasitoïdes capturés à différentes distances de la bande fleurie, ceux qui ont consommé du nectar marqué. Nous avons ainsi étudié en parcelles de colza l'influence de la distance aux bandes fleuries sur la diversité des insectes capturés dans la parcelle, sur la proportion de parasitoïdes *Diaeretiella rapae* ayant consommé du nectar en bordure, et sur l'infestation du puceron *Brevicoryne brassicae*. Nous n'avons pas pu conclure quant à l'intérêt des bandes fleuries pour le contrôle du ravageur, mais nous avons capturé dans la parcelle des parasitoïdes marqués jusqu'à 20 mètres de la bordure. Nos résultats prouvent donc l'efficacité et l'intérêt de la méthode développée pour le suivi de la consommation du nectar par les insectes dans les agro-écosystèmes.

## - Abstract -

Nectar provisioning by flowering field margins provides food subsidies and contributes to enhance biological control by natural enemies. Sugar resources can improve parasitoids fitness but it is difficult to track their consumption in agricultural fields. We developed a new  $^{13}\text{C}$  isotope enrichment method for *Centaurea cyanus* extra-floral nectar labeling, allowing us to identify, among parasitoids captured at several distances from flowering margins, those which fed with marked nectar. The influence of the distance from flowering margins on insects diversity in crop, on the number of *Diaeretiella rapae* parasitoids fed with border's nectar, and on *Brevicoryne brassicae* aphids infestation was investigated in rapeseed production fields. We found no evidence of how flowering field margins can enhance natural pest control but we captured marked parasitoids up to 20 meters in field. Our results show the efficiency and interest of the developed method for insects nectar consumption tracking in agro-ecosystems.

## - REMERCIEMENTS -

Je tiens à remercier sincèrement :

- **Bruno Jaloux**, pour m'avoir permis de réaliser ce stage, pour sa confiance, et pour la foule d'informations passionnantes qu'il a pu m'apporter au long de ces 6 mois
- **Anna Pollier**, pour ses nombreux conseils et l'aide précieuse qu'elle m'a apportée sur le terrain, pour sa bonne humeur quotidienne et les moments passés ensemble à Angers
- **Sophie Aligon**, pour sa gentillesse et les agréables heures de travail qu'elle m'a consacrées à Agrocampus Ouest
- **Ferréol Braud**, pour les innombrables conseils et idées qu'il m'a apportés, ainsi que pour son aide sur le terrain
- **Yann Tricault**, pour ses conseils précieux lors de l'exploitation des résultats
- **Théophile Sollet** et **Arnaud Saphore**, pour l'amitié que nous avons créée, pour leur aide sur le terrain et les joyeux moments passés ensemble à Angers
- **Solange Renaud** et **Julien Poret** du laboratoire LEVA de l'ESA d'Angers, pour les connaissances théoriques et pratiques qu'ils nous ont transmises concernant la préparation des échantillons et l'analyse isotopique, ainsi que pour le matériel et les outils qu'ils nous ont prêtés à plusieurs reprises
- L'ensemble du département Ecologie et le personnel de l'exploitation d'Agrocampus Ouest Angers, pour leurs aides diverses et la bonne ambiance de travail dans laquelle j'ai vécu.

# - TABLE DES MATIERES -

## Liste des tableaux et figures

<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>1</b>
<b>1. Contexte de l'étude et synthèse bibliographique</b> .....	<b>3</b>
1.1. Cadre de l'étude.....	3
1.1.1. L'IGEPP.....	3
1.1.2. Le projet PEERLESS.....	3
1.2. Synthèse bibliographique.....	4
1.2.1. Bandes fleuries et contrôle des ravageurs.....	4
1.2.2. Le système tritrophique étudié.....	5
1.2.2.1. Le colza <i>Brassicae napus</i> .....	5
1.2.2.2. Le puceron cendré du chou <i>Brevicoryne brassicae</i> .....	5
1.2.2.3. Le parasitoïde <i>Diaeretiella rapae</i> .....	6
1.2.3. Le marquage isotopique.....	7
1.2.2.1. Le Cotton-wick.....	7
1.2.2.2. Choix du bleuet <i>Centaurea cyanus</i> .....	7
1.2.2.3. Résultats des analyses préliminaires.....	8
<b>2. Matériels et Méthodes</b> .....	<b>8</b>
2.1. Zone et dispositif d'étude.....	8
2.1.1. Situation des parcelles étudiées.....	8
2.1.2. Présentation des parcelles.....	8
2.1.3. Dispositif expérimental.....	9
2.2. Mesures et prélèvements.....	11
2.2.1. Captures d'insectes.....	11
2.2.2. Mesure de l'infestation du puceron <i>Brevicoryne brassicae</i> .....	12
2.2.3. Solution de marquage.....	12
2.2.4. Prélèvements de bleuets.....	13
2.3. Préparation des échantillons pour l'analyse isotopique.....	13
2.4. Analyses isotopiques.....	13
2.5. Traitement des résultats.....	14
2.5.1. Analyses statistiques.....	14
2.5.2. Détermination du seuil de marquage.....	15
<b>3. Résultats</b> .....	<b>16</b>
3.1. Infestation des parcelles par le puceron <i>Brevicoryne brassicae</i> .....	16
3.1.1. Répartition spatiale de l'infestation.....	16
3.1.2. Evolution spatiale de l'infestation.....	17
3.1.3. Evolution temporelle de l'infestation.....	18
3.2. Groupes fonctionnels d'insectes en fonction de la distance.....	20
3.3. Marquage isotopique.....	22
3.3.1. Marquage des bleuets.....	22
3.3.2. Marquage de <i>Diaeretiella rapae</i> .....	22

<b>4. Discussion</b> .....	<b>23</b>
4.1. Infestation des parcelles par le puceron <i>Brevicoryne brassicae</i> .....	23
4.1.1. Répartition spatiale de l'infestation.....	23
4.1.2. Evolution temporelle de l'infestation.....	24
4.2. Groupes fonctionnels d'insectes en fonction de la distance.....	25
4.3. Marquage isotopique.....	25
 <b>CONCLUSION</b> .....	 <b>27</b>
 <b>Références bibliographiques</b> .....	 <b>28</b>
 <b>Annexe 1</b> : Composition spécifique du mélange utilisé pour les bandes fleuries.....	 33
<b>Annexe 2</b> : Script utilisé sous R pour la détermination du seuil de marquage par bootstrap.....	34
<b>Annexe 3</b> : Résultats de l'analyse isotopique des 9 échantillons de <i>D. rapae</i> non marqués.....	34
<b>Annexe 4</b> : Répartition spatiale de l'infestation sur la parcelle du Fresne.....	35
<b>Annexe 5</b> : Analyses préliminaires pour la méthodologie du marquage par Cotton-wick.....	36
<b>Annexe 6</b> : Comparaison des effectifs d'insectes entre bandes fleuries et enherbées.....	39

## - Liste des tableaux et figures -

<b>Tableau 1</b> : Présentation des parcelles d'étude.....	8
<b>Tableau 2</b> : Diversité paysagère et pourcentage de surface associée autour des parcelles étudiées.....	9
<b>Tableau 3</b> : Tableau récapitulatif des mesures et prélèvements effectués lors de chaque relevé.....	13
<b>Tableau 4</b> : Insectes capturés classés par groupe fonctionnel.....	20
<b>Tableau 5</b> : Résultats des analyses isotopiques relatives aux essais de méthodes de marquage.....	37
<b>Figure 1</b> : (a) Colonie de <i>B. brassicae</i> sur hampe florale de colza ; (b) <i>D. rapae</i> parasitant un puceron.....	6
<b>Figure 2</b> : Cotton-wick sur un bleuet.....	7
<b>Figure 3</b> : Schéma d'une parcelle expérimentale.....	9
<b>Figure 4</b> : Bande fleurie (a) et bande enherbée (b) sur la parcelle de Bouchemaine.....	10
<b>Figure 5</b> : Photographies aériennes orientées des parcelles du Fresne (a) et de Bouchemaine (b).....	10
<b>Figure 6</b> : Schéma d'implantation des bleuets dans une bande fleurie.....	11
<b>Figure 7</b> : Position des transects de capture et zone de prospection des colonies de pucerons.....	12
<b>Figure 8</b> : Répartition du nombre de colonies en fonction de la distance à Bouchemaine.....	16
<b>Figure 9</b> : Evolution de la proportion moyenne du nombre de pucerons, de momies et du taux de parasitisme en fonction de la distance.....	17
<b>Figure 10</b> : Evolution temporelle du nombre de pucerons (b) et du nombre de momies (a).....	19
<b>Figure 11</b> : Nombre moyen d'insectes par groupe fonctionnel en fonction de la distance.....	21
<b>Figure 12</b> : Rapport $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ (%) des échantillons analysés et seuil de marquage.....	22
<b>Figure 13</b> : Répartition du nombre de colonies de <i>B. brassicae</i> en fonction de la distance au Fresne.....	35
<b>Figure 14</b> : Comparaison du nombre d'insectes entre bandes fleuries et bandes enherbées.....	39



## - INTRODUCTION -

Au cours des soixante dernières années, les objectifs de production agricole ont conduit à une intensification croissante de l'agriculture. Cette intensification, plaçant en tête des priorités l'obtention d'un rendement maximum des cultures grâce à une forte utilisation d'intrants et d'énergie (Weiner, 2003), a nettement transformé le paysage rural. L'augmentation des surfaces dédiées aux monocultures, soutenue par une mécanisation toujours plus efficace des travaux agricoles, a petit à petit mené à la réduction et à la dégradation des milieux naturels et semi-naturels du paysage, entraînant une perte importante de biodiversité et une perte des services écosystémiques liés à ces espaces (Stoate *et al.*, 2001 ; Robinson & Sutherland, 2002 ; Tschardtke & Brandl, 2004).

Récemment, l'évolution des contraintes réglementaires en matière de respect de l'environnement, les attentes sociétales vis-à-vis de l'impact de l'agriculture sur les écosystèmes et sur la santé, ainsi que la volonté de certains à faire évoluer le modèle agricole conventionnel, ont conduit les chercheurs à se ré-intéresser aux services naturels que peuvent rendre les agro-écosystèmes. De natures diverses et variées, les services écosystémiques comptent parmi eux le service de régulation et de contrôle naturel des ravageurs par les auxiliaires de cultures. Les relations entre paysage et agriculture étant extrêmement complexes, il est difficile de mettre en place des solutions simples, efficaces et standardisées permettant de répondre à l'ensemble des nouvelles problématiques soulevées. Malgré cela, certaines études ont déjà montré que la complexité des paysages -plus un paysage comprend de surfaces non cultivées, plus il est considéré comme complexe (Thies *et al.*, 2003)- peut entraîner une augmentation des populations d'auxiliaires au sein des parcelles agricoles et dans certains cas entraîner une diminution de la pression en ravageurs (Bianchi *et al.*, 2006). Mais si des effets positifs liés à la structuration et à la complexité des paysages existent, l'échelle à laquelle ils impactent la protection des cultures pose question. En augmentant la diversité des structures paysagères, mais également la diversité floristique -et indirectement faunistique- qui compose ces structures, le nombre d'interactions potentiellement positives pour l'agriculture augmente, et les effets de ces interactions sur le contrôle naturel des ravageurs sont d'autant plus importants et directs que ces aménagements paysagers se trouvent à proximité des parcelles cultivées (Thies *et al.*, 2003). En ce sens, une étude menée en 2008 par Schaffers *et al.* montre que la diversité floristique des bordures explique mieux la présence d'insectes dans la culture que le paysage entourant la parcelle.

Il a également été démontré, sur des parcelles expérimentales, que les ressources florales augmentent la densité d'ennemis naturels (Balmer *et al.*, 2014) et améliorent la *fitness* des parasitoïdes (Tylanakis *et al.*, 2014). Elles fournissent en effet du nectar et du pollen qui sont des ressources complémentaires pour de nombreux ennemis naturels, prédateurs ou parasitoïdes à l'état larvaire, et qui ont des besoins alimentaires précis à l'état adulte : le nectar leur fournit les ressources énergétiques nécessaires pour le vol, l'ovogenèse et les fonctions métaboliques de base indispensables à la survie ; quant au pollen, il apporte à certains l'énergie nécessaire pour le déclenchement de l'ovogenèse et la maturation de œufs (Wäckers *et al.*, 2007). Cependant l'évolution des paysages agricoles a conduit à l'augmentation de la taille des parcelles et à la ségrégation des ressources alimentaires pour les ennemis naturels. Le développement des espèces spontanées qui servent de sources d'énergie aux insectes se retrouvent restreint aux zones non cultivées autour des parcelles. Les déplacements et le comportement des insectes vis-à-vis de leur nutrition et de leur reproduction se trouvent donc conditionnés par cette ségrégation, et amplifie l'effet bordure (c'est-à-dire que les interactions entre la parcelle et la zone qui l'entoure se concentrent sur les bords de la parcelle). Ces observations ont mené à étudier l'aménagement des bordures, tant au niveau de leur composition que de leur positionnement, afin d'apporter au plus près des parcelles les ressources nécessaires au contrôle des ravageurs par les auxiliaires, ainsi qu'étudier l'impact de ces aménagements sur l'ensemble de la parcelle.

Dans ce contexte, les questions que l'on peut se poser, et qui définissent la problématique générale abordée par cette étude, sont les suivantes :

- La mise à disposition de nectar aux ennemis naturels est-elle impliquée dans l'attractivité des aménagements fleuris du paysage ?
- L'implantation de ressources alimentaires complémentaires telles que le nectar et le pollen à proximité des cultures améliore-t-elle les interactions trophiques et le contrôle biologique des ravageurs au sein des parcelles ?
- Un tel effet existe-t-il jusqu'au cœur des parcelles ?

Dans le cadre du projet ANR PEERLESS, au sein duquel a été menée cette étude, nous nous sommes intéressés à l'influence des bandes fleuries sur un système tritrophique composé d'une culture de colza (*Brassica napus*), du ravageur *Brevicoryne brassicae* (le puceron cendré du chou) et du parasitoïde *Diaeretiella rapae*. La ségrégation entre les ressources nutritives que forment le nectar dans la bordure et les ressources en hôtes pour la reproduction que constituent les pucerons à l'intérieur de la parcelle, oblige ce parasitoïde à effectué des allers-retours entre ces deux espaces (*commuting*). Ces déplacements représentent un risque de mortalité et sont coûteux, à la fois en énergie et en temps (Jamont *et al.*, 2013a). Afin d'optimiser leurs chances de reproduction, les parasitoïdes ont donc intérêt à limiter la fréquence et la distance de ces allers-retours. Une première hypothèse postule qu'afin de les minimiser et d'économiser leur énergie, les parasitoïdes vont chercher leurs hôtes de reproduction le plus prêt possible de leurs ressources nutritives, c'est-à-dire à proximité des bandes fleuries et donc en bordure de parcelle. Cela sous-entend que des pucerons, en l'occurrence des colonies *B. brassicae*, se trouvent en bordure de parcelle. Mais si ce n'est pas le cas, si les colonies sont présentes plus loin à l'intérieur de la parcelle, jusqu'à quelle distance les parasitoïdes vont ils effectuer ces trajets ? Les coûts énergétiques associés à ces déplacements ainsi que les risques de mortalité peuvent d'autant plus réduire le temps réservé à la reproduction (Sirot et Bernstein, 1997 ; Sisterson et Averill, 2002 ; Tenhumberg *et al.*, 2006). Lorsque la ressource en hôtes n'est pas un facteur limitant, il est donc important de se demander si sa prospection va être limitée aux premiers mètres depuis la bordure du champ, ou si les parasitoïdes vont d'avantage se déplacer vers le centre de la parcelle, et dans ce cas à quelle distance. De manière plus générale, à l'échelle de la parcelle, jusqu'où peut on observer les effets de l'apport de ressources nutritives sous la forme de bandes fleuries en bordure de champ sur le contrôle du puceron par les parasitoïdes ?

Nous avons tenté de répondre aux questions suivantes :

- Le nectar fourni par les bandes fleuries est-il exploité par les parasitoïdes *D. rapae* présents à l'intérieur des parcelles de colza ?
- La consommation par le parasitoïde *D. rapae* du nectar fourni par les bandes fleuries a-t-elle une influence sur son parasitisme et *in fine* sur le contrôle des populations de pucerons *B. brassicae* ?
- Quelle est l'évolution de ces effets en fonction de la distance depuis la bande fleurie et vers le cœur des parcelles de colza ?

Les études menées en milieux naturels agricoles sur ces points précis sont très peu nombreuses aujourd'hui, et cela notamment à cause de la difficulté à pouvoir suivre les déplacements des parasitoïdes (Hagler et Jackson, 2001) et leur consommation de nectar. Au cours de ces dernières années, de nouvelles techniques se sont développées, permettant le marquage et le suivi de très petits insectes comme les hyménoptères parasitoïdes (Lavandero *et al.*, 2004a). Parmi elles, le marquage isotopique par Cotton-wick, une méthode que nous avons testée en amont en laboratoire, puis adaptée au marquage du nectar et au suivi de sa consommation par *D. rapae* sur le terrain, en parcelles agricoles.

Cette méthode a ensuite été appliquée au sein de parcelles de colza de production pour étudier l'influence de la distance aux bandes fleuries sur la diversité des insectes capturés dans la parcelle, sur la proportion de parasitoïdes *Diaeretiella rapae* ayant consommé du nectar en bordure, et enfin sur le nombre, la taille et le taux de parasitisme des colonies de pucerons *Brevicoryne brassicae*.

# 1. Contexte de l'étude et synthèse bibliographique

## 1.1. Cadre de l'étude

### 1.1.1. L'IGEPP

L'IGEPP (Institut de Génétique, Environnement et Protection des Plantes) est une unité mixte de recherche constituée de chercheurs de l'INRA du Rheu, et d'enseignants chercheurs de l'Université de Rennes 1 et d'Agrocampus Ouest. Elle est placée sous la tutelle du Ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt et du Ministère de l'Enseignement supérieur et de la recherche. Depuis le 1<sup>er</sup> janvier 2012, l'IGEPP mène des travaux de recherche, d'enseignement et des partenariats professionnels, dont l'objectif est d'améliorer la protection des plantes et de développer des systèmes de cultures prenant en compte la durabilité, le respect de l'environnement et une faible utilisation d'intrants, tout en préservant et en utilisant la biodiversité. La diversité des sujets abordés s'étend de l'échelle du gène, avec l'étude de la diversité et de l'évolution des plantes et de leurs organismes associés, à celle des agro-écosystèmes, avec le développement de pratiques et de systèmes de culture durables, niveau auquel se place l'étude présentée ici.

Les membres angevins de l'IGEPP sont spécialisés en entomologie, et se focalisent sur l'étude des interactions plantes-insectes, l'influence du paysage sur le contrôle biologique et l'exploitation des ressources dans les agro-écosystèmes par les auxiliaires, notamment des parasitoïdes de pucerons. Le stage dans le cadre duquel a été réalisée cette étude a été proposé et encadré par M Bruno Jaloux, maître de conférences en entomologie et protection des plantes à Agrocampus Ouest Angers, dans le cadre du projet PEERLESS.

### 1.1.2. Le projet PEERLESS

L'objectif du projet PEERLESS (Predictive Ecological Engineering for Landscape Ecosystem Services and Sustainability), financé par l'Agence Nationale de la Recherche (ANR), au sein duquel s'inscrit la présente étude, est de trouver des solutions de lutte alternatives aux pesticides, moins dangereuses pour l'environnement, et moins coûteuses, dans le but de répondre aux exigences du plan Ecophyto 2018. Pour ce faire, il s'intéresse particulièrement à la gestion et à l'influence des paysages agricoles dans le cadre d'une protection renforcée de la santé des plantes cultivées. Le projet regroupe 6 acteurs qui sont l'IGEPP, l'UMR AgroEcologie de Dijon, les UR Plantes et Services Horticoles et UR Biostatistiques et Processus Spaciaux d'Avignon, et les UMR Agronomie et UMR Economie Publique de Grignon. Sur une période de 4 ans, il vise à identifier les systèmes agricoles et les paysages dans lesquelles la biodiversité améliore la productivité des cultures, identifier les mécanismes écologiques liés à l'hétérogénéité et à la densité des ravageurs et de leurs auxiliaires, et enfin à développer des systèmes de culture alternatifs prenant en compte la gestion d'habitats semi-naturels dans le paysage.

Les études sont réparties selon 6 tâches principales :

1. Structure du paysage, bordures de champs et pratiques agricoles
2. Ingénierie écologique et nouvelles techniques agricoles
3. Structure de la chaîne alimentaire en systèmes de protection conventionnels et alternatifs
4. Dynamique des populations de ravageurs et de leurs ennemis naturels
5. Aménagement du paysage en lien avec le contrôle des ravageurs et des adventices
6. Optimisation économique et agroécologique de paysages viables

Notre étude a été conduite dans le cadre des tâches n°2 et n°3.

## 1.2. Synthèse bibliographique

### 1.2.1. Bandes fleuries et contrôle des ravageurs

Dans les paysages agricoles conventionnels, dominés par de très grandes surfaces réservées aux monocultures, les auxiliaires souffrent d'un manque en ressources nutritionnelles autres que les ravageurs, comme le nectar et le pollen, ainsi que d'un manque d'espaces pouvant leur servir d'abri, de lieu d'hibernation, de reproduction ou de nidification (Gurr *et al.*, 2004). Plusieurs études ont montré que la consommation de ressources florales par les parasitoïdes peut permettre d'améliorer leurs performances et ainsi d'augmenter leur taux de parasitisme et *in fine* de réduire la densité de ravageurs hôtes dans les cultures (Tylianakis *et al.*, 2004 ; Balmer *et al.*, 2013 ; Balmer *et al.*, 2014). Il a de plus été démontré que pour survivre et assurer leurs besoins énergétiques liés au vol, les parasitoïdes adultes dont la taille ne permet pas un stockage important de réserves ont généralement besoin de localiser des ressources nutritionnelles au minimum une fois par jour (Siekmann *et al.*, 2001 ; Azzouz *et al.* 2004). L'exploitation de ces ressources est également associée à un coût énergétique et à des risques de mortalité (prédation, égarement) qui augmentent avec la distance entre leur localisation et celle des hôtes de reproduction. Dans l'optique de valoriser la protection des cultures par les ennemis naturels, il est donc nécessaire d'assurer une abondance suffisante de ces ressources dans les agro-écosystèmes, mais également leur proximité.

Pour palier à ce manque, des bordures de champs, non cultivées mais aménagées, ont été développées en prenant en compte l'intégration d'espèces florales intéressantes pour l'activité de contrôle des parasitoïdes et non favorables pour les ravageurs (Bianchi et Wäckers, 2008) : les bandes fleuries. Des études ont montré que la présence de ce type de bandes pouvait entraîner l'augmentation du parasitisme de certains auxiliaires (Lee et Heimpel, 2005) ou encore que l'augmentation de la taille des bandes fleuries pouvait accroître l'abondance d'ennemis naturels et améliorer le contrôle des ravageurs, et ce de manière plus intéressante qu'avec de simples surfaces en herbes (Blaauw et Isaacs, 2012).

L'utilisation de bandes fleuries pour l'amélioration de la protection des cultures par les auxiliaires nécessite d'apporter une attention particulière au choix des espèces qui les composent. Il est reconnu que les espèces produisant du nectar ne sont pas toutes adaptées à la nutrition des parasitoïdes ou des prédateurs adultes (Wäckers, 2005). Un des premiers critères est leur attractivité. En effet, certaines plantes n'attirent pas particulièrement les auxiliaires (Winkler *et al.*, 2009) et ont donc un intérêt limité, ou peuvent même avoir un effet répulsif sur certains (Wäckers, 2004). L'attractivité d'une espèce ne suffit pas non plus à garantir l'accessibilité de son nectar, puisque l'architecture des fleurs, la morphologie des corolles, peut en interdire l'accès à certains ennemis naturels n'y étant pas adaptés (Patt *et al.*, 1997 ; Jervis, 1998 ; Baggen *et al.*, 1999). La compétition entre insectes peut elle aussi jouer un rôle dans l'accessibilité du nectar aux auxiliaires (Comba *et al.*, 1999). Enfin la disponibilité du nectar dépend également de la phénologie de la floraison des espèces aux différents moments de l'année (Pacini et Nepi, 2007). Chacun de ces paramètres étant spécifique aux différentes plantes nectarifères et à mettre en lien avec le type de ravageurs présents dans la culture, un mélange de fleurs permettant la fourniture de nectar à un plus grand nombre d'ennemis naturels et pendant toute la durée de la saison est généralement privilégié (Bianchi et Wäckers, 2008 ; Wäckers, 2004 ; Colley et Luna, 2000).

Il a par ailleurs été observé que le nombre de parasitoïdes décroît lorsque la distance aux ressources florales augmente (Lavandero *et al.*, 2005). Dans l'étude menée par Tylianakis *et al.* (2004) par exemple, la proportion de puceron (*Metopolophium dirhodum*) parasités par *Aphidius rhopalosiphii* décroît de manière exponentielle avec l'augmentation de la distance aux ressources florales, et est nul au delà de 14 mètres. Mais si les bandes fleuries semblent concentrer les parasitoïdes dans les premiers mètres à côté de la bordure, il a rarement été vérifié si ces parasitoïdes, comme ceux présents en plus faibles concentrations à des distances plus grandes de la bordure, ont réellement consommé les ressources florales implantées en bordure. Néanmoins, Freeman-Long *et al.* en 1998, ont pu retrouver dans des cultures et jusqu'à 30 mètres de fleurs en bordures -marquées au rubidium-, des traces de parasitoïdes et d'autres auxiliaires en ayant consommées.

Des preuves supplémentaires sont requises afin de démontrer que les parasitoïdes sont capables de se déplacer entre les ressources florales et la culture, et en nombre suffisant pour améliorer le contrôle des ravageurs. Les techniques de marquage et de suivi des insectes (Wanner *et al.*, 2006a) peuvent permettre d'expliquer les mouvements et la structure spatiale des populations d'auxiliaires, et ainsi aider à déterminer sur quelle zone de l'agro-écosystème il serait intéressant de placer les ressources florales (Lavandero *et al.*, 2005).

### **1.2.2. Le système tritrophique étudié**

Le système tritrophique sur lequel nous avons étudié l'influence de la distance aux bandes fleuries est composé d'une culture de colza (*Brassica napus*) à laquelle nous avons associé un de ses principaux ravageurs, le puceron cendré du chou (*Brevicoryne brassicae*) et l'auxiliaire principal de celui-ci, le parasitoïde *Diaeretiella rapae*.

#### **1.2.2.1. Le colza *Brassica napus***

Le colza (*Brassica napus*) est une plante annuelle de la famille des Brassicacées. Elle est principalement cultivée pour la production d'huile végétale alimentaire ainsi que pour la nutrition animale. Depuis peu elle est également utilisée pour la production d'agrocaburant, ce qui explique en partie une augmentation des surfaces qui lui sont consacrées en France depuis 2007. Notre pays en est le premier producteur européen, suivi par l'Allemagne, et le quatrième au niveau mondial. Sa culture se situe majoritairement dans les régions Centre, Champagne-Ardenne et Bourgogne (Hullé *et al.*, 2011). Le bilan environnemental de cette culture est assez négatif : le colza est très sensible aux bioagresseurs et son exploitation est responsable de la consommation de 9 % des pesticides utilisés en France (Cemagref, 2005), avec une IFT (Indice de Fréquence de Traitement) égal à 6,1, ce qui en fait le deuxième plus important en grandes cultures (Butault *et al.*, 2011). Ce constat justifie l'intérêt que l'on peut porter au colza dans le développement de nouveaux systèmes de cultures plus économes en intrants.

#### **1.2.2.2. Le puceron cendré du chou *Brevicoryne brassicae***

*Brevicoryne brassicae* (Hemiptera, Aphididae), le puceron cendré du chou, est une espèce de puceron spécialiste des plantes de la famille des brassicacées (Gabrys et Pawluk, 1999). C'est une espèce monoécique, c'est-à-dire qu'elle réalise l'intégralité de son cycle de reproduction sur une même plante. En France, ce puceron est présent dans toutes les régions. Les effectifs sont faibles à l'automne. Au printemps, les vols de dissémination débutent entre début mai et début juin, dates à partir desquelles il est possible d'observer des populations établies dans les parcelles (Hullé *et al.*, 2011).

Sur colza, des dégâts indirects peuvent être causés dès l'automne par la transmission de virus tels que le virus de la mosaïque du chou-fleur et le virus de la mosaïque du navet (Blackman et Eastop, 2000). Au printemps, *B. brassicae* forme d'importantes colonies sur les feuilles et sur les hampes florales (Figure 1 a), ce qui peut occasionner des dégâts directs comme l'épuisement de la plante, l'avortement des fleurs ou un échaudage (malformation des grains) (Hullé *et al.*, 2011).

*B. brassicae* est principalement parasité par *Diaeretiella rapae* et très rarement par d'autres parasitoïdes (Coll et Hopper, 2004 ; Pike *et al.*, 1999). Ses principaux prédateurs sont les larves de syrphes, de chrysopes, ainsi que les larves et coccinelles adultes.





Figure 1 : (a) Colonie de *B. brassicae* sur hampe florale de colza (Crédit : Peter J. Bryant) ; (b) *D. rapae* femelle en train de parasiter un puceron *B. brassicae* (Crédit: Bruno Jaloux)

### 1.2.2.3. Le parasitoïde *Diaeretiella rapae*

*Diaeretiella rapae* (Hymenoptera, Aphidiinae) est un endoparasitoïde solitaire spécialiste des pucerons des Brassicacées (Blande *et al.*, 2004). Les femelles pondent leurs œufs à l'intérieur des pucerons adultes (Figure 1 b). Une seule larve se développe par puceron, se nourrissant de l'intérieur de l'individu hôte et formant une momie composée de l'exosquelette du puceron. Une fois sa nymphose réalisée, le parasitoïde adulte découpe un opercule dans la paroi de la momie et émerge. Bien que d'autres espèces de pucerons aient été répertoriées comme étant parasitées par *D. rapae*, son principal hôte est le puceron cendré du chou *B. brassicae*. Réciproquement, *D. rapae* est considéré comme le principal ennemi naturel de *B. brassicae* (Pike *et al.*, 1999). Il peut néanmoins être lui-même victime d'hyperparasitisme (Chua, 1979). Les différents niveaux trophiques arrivent successivement sur les parcelles et les délais entre la colonisation par *B. brassicae*, *D. rapae* et ses parasitoïdes conditionnent fortement le taux de parasitisme et le contrôle des populations de pucerons, ce qui souligne l'intérêt pour la lutte biologique de favoriser une action précoce de cet auxiliaire.

Afin de se nourrir, les parasitoïdes aphidiinés adultes ont généralement à leur disposition, en plus de ceux présents dans le nectar des plantes, les sucres contenus dans le miellat excrété par les pucerons. Cependant, le miellat produit par *B. Brassicae* est protégé par une pellicule de cire, ce qui le rend très peu voire pas accessible pour *D. rapae*. De façon générale, le miellat est également de mauvaise qualité nutritionnelle comparé au nectar (Vollhardt *et al.*, 2010). Tylianakis *et al.* (2004) ont montré que les ressources en sucres améliorent les capacités de ponte de *D. rapae* en diminuant la quantité d'œufs résorbés et en facilitant leur maturation. De plus, les sucres ont pour effet d'augmenter la longévité des parasitoïdes (Siekman *et al.*, 2001 ; Jamont *et al.*, 2013a), ainsi que leur attraction et leur rétention (Jamont *et al.*, 2014). Cette ressource est donc d'une grande importance vis-à-vis du contrôle des pucerons par les parasitoïdes et les résultats de ces études permettent de penser que la mise à disposition de nectar supplémentaire en bordure de parcelles, sous la forme de bande fleuries, pourrait permettre de l'améliorer.

Malgré tout, une amélioration véritablement efficace du contrôle des pucerons par les parasitoïdes implique que le temps passé par ces derniers à se nourrir n'impacte pas négativement le temps qu'ils passent à la recherche d'hôtes de reproduction. En effet, dans notre situation, on se trouve face à une ségrégation des ressources : d'un côté, en bordure de parcelle, les ressources nutritives constituées par le nectar des plantes, et de l'autre, à l'intérieur de la parcelle, les pucerons formant leurs colonies sur les plants de colza. Une femelle *D. rapae* va donc devoir consacrer une partie de son temps à rechercher et exploiter chacune des ressources et va effectuer des allers-retours entre ces deux espaces (De Moraes *et al.*, 1998 ; Krivan et Sirot, 1997), temps qui ne pourra pas être mis au profit de la régulation du puceron et qui va de plus lui coûter de l'énergie. La gestion de ce dilemme est résolue par un compromis (*Trade-off*) qui détermine fortement la longévité, la fécondité, et donc le succès reproducteur de la femelle parasitoïde (Sirot et Bernstein, 1997).

### 1.2.3. Le marquage isotopique

#### 1.2.3.1. Le Cotton-wick

Afin d'étudier la consommation des ressources florales de *D. rapae*, nous avons choisi d'utiliser la méthode de marquage par enrichissement isotopique par Cotton-wick. Il s'agit d'une technique relativement récente (Russell et Fillery, 1996) qui permet une très bonne assimilation des quantités d'éléments apportées. Pour des raisons pratique, elle est particulièrement adapté à notre situation. En effet, la plupart des autres méthodes de marquage d'insectes utilisées couramment ne permettent pas le marquage de masse de très petits parasitoïdes, peuvent impliquer de nombreuses interventions sur le terrain afin d'entretenir le marquage pendant plusieurs semaines, voire une première capture des insectes avant de les relâcher (Lavandero *et al.*, 2004). De plus cette méthode a déjà été utilisé avec succès au sein de l'IGEPP (Jamont *et al.*, 2013b ; Jamont *et al.*, 2014) en laboratoire, il y avait donc une volonté de la développer et notamment de voir quel pouvait être son intérêt et son efficacité sur le terrain. Son principe réside dans la mise en place d'un système de perfusion (Figure 2) qui fournit à la plante une solution de marquage, système suffisamment compact et robuste pour pouvoir être laissé en position dans une parcelle et fournir aux plantes un marquage sur une période longue et sans nécessiter beaucoup d'interventions.

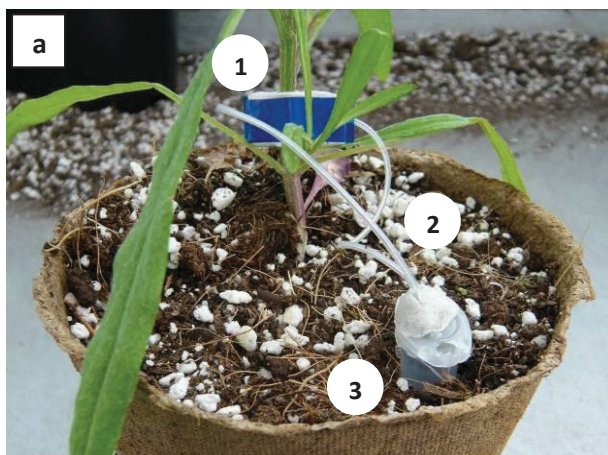


Figure 2 : Cotton-wick sur un bleuet : fil de coton traversant la tige (1), tubes en silicone protégeant le fil (2) et tube Eppendorf contenant la solution de marquage (3). La plante prélève la solution via le fil qui la fait remonter par capillarité depuis le fond du tube. L'étanchéité du système est assurée par les tubes en silicone et des morceaux de mastic au niveau de la tige et du couvercle du tube. (Crédit : Auteur)

#### 1.2.3.2. Choix du bleuet *Centaurea cyanus*

Etant donné que les éléments enrichis en isotopes stables coûtent extrêmement cher, il nous est impossible de marquer l'intégralité des plantes présentes dans une bande fleurie. Nous avons donc sélectionné une des 32 espèces du mélange (Annexe 1), sur laquelle nous avons effectué des tests préliminaires en laboratoire (Annexe 5), et avec laquelle nous avons utilisé la technique de Cotton-wick sur le terrain. L'espèce qui a été sélectionnée est le bleuet (*Centaurea cyanus*). Alors que le nectar floral est souvent peu accessible aux parasitoïdes qui ne possèdent pas de pièces buccales spécialisées (Patt *et al.* 1997 ; Jervis, 1998), cette plante de la famille des Astéracées présente un grand intérêt car elle possède des nectaires extra-floraux (Offenberg, 2000) accessibles aux prédateurs et parasitoïdes nectarivores. De plus ces organes présentes l'avantage de fournir du nectar pendant une période plus longue que les nectaires floraux, période débutant avant et finissant après la floraison (Pacini *et al.*, 2003 ; Röse *et al.*, 2006). L'intérêt de ces organes spécifiques pour les performances des parasitoïdes, en particulier pour *D. rapae* a été démontré par Jamont *et al.* (2013a) sur la féverole (*Vicia faba*) qui possède également des nectaires extra-floraux. De plus les bleuets sont des plantes annuelles qui fleurissent aux mois de mai et juin (Site internet : tela-botanica.org), période de l'expérimentation. Enfin, d'un point de vue pratique, il s'agit de la seule espèce de plante appartenant au mélange qui a pu être cultivé avec succès en serre à AgroCampus Ouest Angers, jusqu'au stade floraison et ce avant la mise en place de l'expérimentation.

### 1.2.3.3. Résultats des analyses préliminaires

Les tests réalisés en laboratoire -et dont la démarche et les résultats sont présentés en Annexe 5- nous ont prouvé l'efficacité de la technique de marquage du nectar de bleuet (*Centaurea cyanus*) par la méthode de Cotton-wick à l'aide d'une solution de glucose enrichi en  $^{13}\text{C}$ , ainsi que la détectabilité de ce marquage chez des parasitoïdes *D. rapae* ayant consommé ce nectar. D'après les résultats les plus satisfaisants qui ont été obtenus, nous avons décidé d'utiliser sur le terrain une solution de marquage composé de 1,5 % de glucose enrichi en  $^{13}\text{C}$  et 1,5 % de fructose non marqué.

## 2. Matériels et Méthodes

### 2.1. Zone et dispositif d'étude

#### 2.1.1. Situation des parcelles étudiées

L'expérimentation a été conduite dans deux parcelles de production, directement au sein d'exploitations agricoles. Les parcelles se situent dans le département du Maine et Loire (région Pays de la Loire), à proximité d'Angers. Elles font partie d'un réseau expérimental de parcelles mis en place par Anna Pollier, doctorante à l'IGEPP, dans le cadre de sa thèse pour le projet PEERLESS sur les interactions entre végétation des habitats semi-naturels, pratiques agricoles et contrôle biologique des ravageurs des cultures.

#### 2.1.2. Présentation des parcelles

Les parcelles sont au nombre de deux. Leurs caractéristiques générales sont présentées dans le Tableau 1 ci-dessous :

**Tableau 1 : Présentation des parcelles d'étude**

N° de la parcelle	1	2
Localisation/Dénomination	Le Fresne	Bouchemaine
Exploitant et adresse	Eric Duclaud, Lycée Horticole et Agricole Le Fresne, 49036 Angers	Gaec de Malvoisine, lieu-dit Malvoisine, 49080 Bouchemaine
Surface	4,15 ha	3,7 ha
Variété	DK Exquise	Colza Hybrirock
Précédent	Blé	Blé
Traitements	- Herbicide le 19/09/14 (graminées et dicotylédones) - Molluscicide/Hélicide le 19/09/14	- Herbicide le 5/09/14 (graminées et dicotylédones) - Insecticide le 12/03/14 (mélégèthes, charançons, pucerons, altises)

L'occupation du sol a été relevée dans un rayon de 500 mètres autour des parcelles (Tableau 2). D'après Thies *et al.* (2005), un tel rayon est approprié afin de prendre en compte la complexité du paysage sur les interactions pucerons-parasitoïdes. La diversité paysagère a été prospectée au cours du mois de juillet 2014 par Anna Pollier et Arnaud Saphore (stagiaire M1) dans le cadre du projet PEERLESS.



**Tableau 2 : Diversité paysagère et pourcentage de surface associée dans un rayon de 500 m autour des parcelles étudiées**

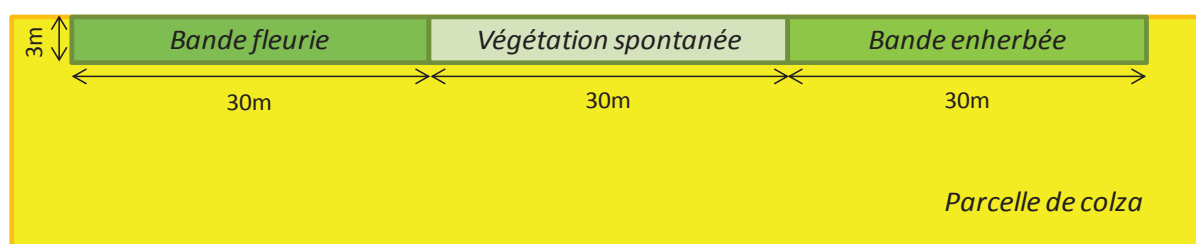
	Surface	
	Le Fresne	Bouchemaine
<b>Oléagineux</b>	0%	0%
<b>Céréales</b>	23%	26%
<b>Ligneux (Forêt, bosquets, vergers, parcs et jardins...)</b>	19%	27%
<b>Prairies</b>	38%	38%
<b>Constructions (habitations, routes, chemins...)</b>	19%	9%

Comme on peut le constater dans le Tableau 2 ci-dessus, les deux parcelles sont sensiblement identiques au niveau de leur diversité paysagère. Dans un rayon de 500 mètres, le paysage est dominé dans les deux cas par des prairies (38%). On ne trouve aucune autre parcelle de Brassicacées, mais environ un quart de la surface est consacré à la culture de céréales (blé et orge au Fresne, blé et maïs à Bouchemaine). La seule différence notable est la répartition entre surfaces de ligneux et de constructions : elles sont identiques au Fresne (19%), alors qu'à Bouchemaine la surface de ligneux (27%) est plus importante que celle de constructions (9%). Au delà de ce rayon de 500 mètres, il est à noter que la parcelle du Fresne se trouve dans un contexte périurbain alors que celle de Bouchemaine est dans un contexte agricole de production (vergers, prairies, céréales...).

### 2.1.3. Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental de l'étude vient s'ajouter au dispositif mis en place par Anna Pollier sur l'ensemble du réseau de parcelles, dans le but d'étudier plus précisément l'incidence de la fourniture en nectar. Le dispositif est composé de 3 bandes de dimensions 3x30 mètres juxtaposées le long d'une bordure de la parcelle (Figure 3). Chacune des bandes est le support d'une végétation différente :

- une **bande fleurie** (Figure 4 a) : mélange de 32 espèces à fleurs (la composition spécifique du mélange est détaillée en Annexe 1) développé spécifiquement au sein du projet, dans le but d'optimiser le contrôle biologique des ravageurs.
- une **bande enherbée** (Figure 4 b) : mélange de 28% de Ray-grass anglais *Lolium perenne* et de 72% de fétuque élevée *Festuca arundinacea*.
- une **bande spontanée** : végétation développée spontanément à partir du stock semencier de la bande après travail du sol



**Figure 3 : Schéma d'une parcelle expérimentale**

Les 3 bandes ont été préparées de la même manière et au même moment afin que leurs stades de développement soient identiques. Le sol a été retourné (labouré) afin de détruire les plantules déjà présentes, enfouir les semences fraîches d'adventices et favoriser la levée de la flore semée. Un travail plus fin, à l'aide d'une herse, a été effectué par les agriculteurs afin de détruire les mottes et d'aplanir le sol.



Figure 4 : Bande fleurie (a) et bande enherbée (b) sur la parcelle de Bouchemaine. (Crédits : Auteur)

Le côté de la parcelle sur lequel ont été réalisées les implantations a été choisi en fonction des préférences des exploitants, sans autre critère particulier, et toutes les modalités sont du même côté (Figure 5). La disposition des modalités au sein de chaque parcelle a été randomisée :

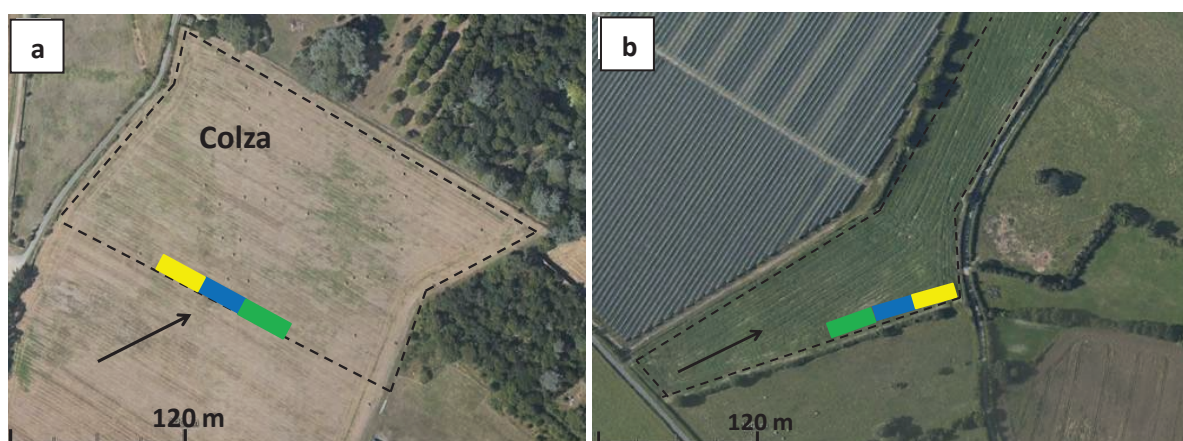


Figure 5 : Photographies aériennes orientées des parcelles du Fresne (a) et de Bouchemaine (b). Les traits en pointillés délimitent les parcelles de colza en 2014. La position et la nature des bandes est représentée de la manière suivante : bandes fleuries en jaune, bandes enherbées en vert, et bandes spontanées en bleu. La flèche représente la direction des vents dominants à proximité d'Angers (Ouest-Sud Ouest). (Crédits : Google earth)

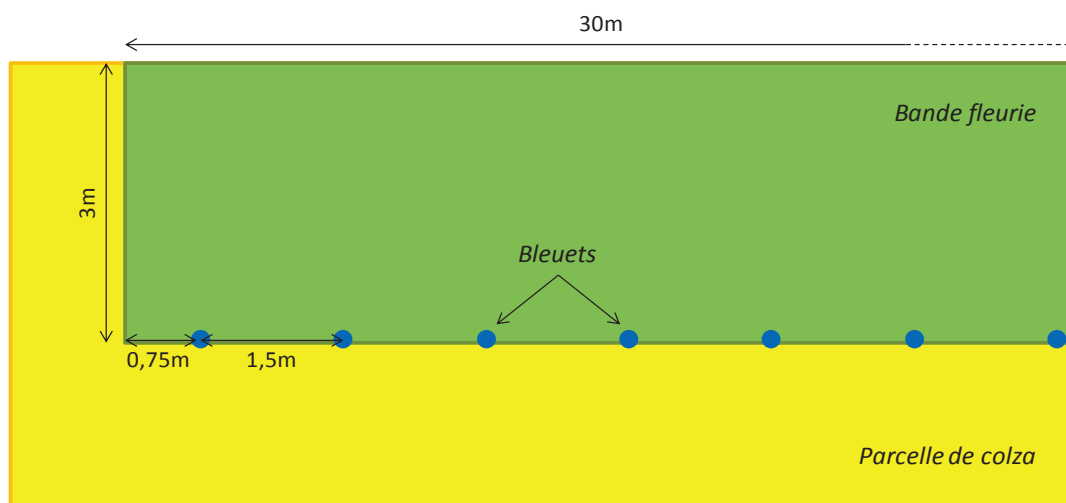
Afin de pouvoir suivre la consommation de nectar prélevé dans la bande fleurie par les parasitoïdes, nous avons choisi de marquer à l'aide d'une solution de glucose enrichi en  $^{13}\text{C}$  et de fructose non marqué (voir § 1.2.3.3 et Annexe 5) un certain nombre de plantes grâce à la technique de Cotton-wick (Jamont *et al.*, 2013b). L'espèce qui a été sélectionnée est le bleuet (*Centaurea cyanus*) (voir § 1.2.3.2).

Le 17 mars 2014, nous avons semé 112 bleuets dans les serres d'Agrocampus Ouest Angers en vue de les marquer et de les implanter ensuite dans les bandes fleuries. Le 3 avril (17 jours après semis), les plantes ont été transplantées dans un mélange de tourbe (50%) et de perlites et copeaux (50%), dans des pots de 1L en tourbe (modèle Jiffy). Le stress hydrique ayant un impact négatif sur la production de nectar (Pacini et Nepi, 2007), ce substrat, à la fois aéré et possédant une bonne rétention en eau, permet de limiter les éventuels problèmes dus à la sécheresse lors de l'expérimentation. Les pots en tourbe possèdent l'avantage de pouvoir être mis directement en terre et de laisser les racines se développer à travers. Les premiers bourgeons floraux sont apparus le 22 avril (36 jours après semis) et les bleuets ont commencé à fleurir aux alentours du 1<sup>er</sup> mai (45 jours après semis).

Nous disposons de 1,82 g de glucose enrichi en  $^{13}\text{C}$  (D-[UL- $^{13}\text{C}$ 6] Glucose 99%  $^{13}\text{C}$  de Cortecnet) qui nous permet de marquer 40 plantes à raison de 3 mL de solution à 1,5 % de glucose par plante (voir §1.2.3.3). La mise en place des Cotton-wick sur 40 bleuets a été effectuée les 5 et 6 mai.

Les Cotton-wick ayant été installés 2 jours avant la mise en terre des bleuets dans les parcelles, les tubes ont d'abord été remplis, à l'aide d'une seringue à aiguille, avec 2 mL d'eau déminéralisée qui a ensuite été remplacée par 2 mL de solution de marquage au moment de lancer l'expérimentation. Cette étape permet d'éviter l'apparition de thrombose au niveau du système vasculaire des plantes.

Le 7 mai 2014, 20 bleuets porteurs d'un système de Cotton-wick ont été transplantés dans chaque bande fleurie, tous les 1,5 m et à la limite du bord de la parcelle, afin de ne pas perturber le développement de la bande fleurie (Figure 6). Les plantes ont ensuite été arrosées abondamment afin de faciliter leur implantation. A cette date, les colza étaient en fin de floraison, la majorité des plantes ne présentant que des siliques.



**Figure 6 : Schéma d'implantation des bleuets dans une bande fleurie**

L'eau déminéralisée contenue dans les tubes a finalement été remplacée par 2 mL d'une solution à 1,5% de glucose enrichi en  $^{13}\text{C}$  et 1,5% de fructose, marquant le début de l'étude.

## 2.2. Mesures et prélèvements

### 2.2.1. Captures d'insectes

A l'aide d'un aspirateur-souffleur thermique (Stihl sh 86-d) muni d'une poche en tissu permettant d'aspirer et de récupérer des insectes sans les endommager, nous avons capturé un échantillon de la faune présente le long de 5 transects parallèles à la bordure (Figure 7) : à 0 m, c'est-à-dire dans la bande fleurie, puis à 5, 10, 15 et 20 m depuis la bande. Pour chaque transect, 20 plants de colza consécutifs ont été aspirés, le premier plant étant choisi au hasard lors de chaque relevé. Dans la bordure, ce prélèvement a été effectué en aspirant toutes les plantes présentes sur une longueur équivalente à 20 pieds de colza et qui a été fixée à 5 m. A chaque date de relevé l'emplacement de ces transects a été modifié, pour éviter tout risque de défaunation locale par prélèvements répétés. Pour chaque point de capture, le contenu aspiré est récupéré dans un sac de congélation en plastique micro-aéré puis congelé à  $-26^{\circ}\text{C}$  jusqu'à son exploitation. Ce protocole a été appliqué pour les bandes fleuries ainsi que pour les bandes enherbées (Figure 7) à la date du 3 juin afin d'avoir un point de comparaison avec une situation en absence de fleurs.



**Figure 7 : Position des transects de capture. Les points bleus représentent les bleuets marqués au  $^{13}\text{C}$  et les flèches rouges les captures d'insectes avec l'aspirateur. La zone délimitée par les tirets gris est la zone de prospection des colonies de pucerons *B. brassicae*.**

Afin de compléter ces prélèvements, tous les *D. rapae* aperçus lors des comptages de pucerons (voir ci-dessous) ont été, si possible, capturés à l'aide d'un aspirateur à bouche et transférés dans un pilulier contenant de l'alcool à 70°.

Début juillet, le contenu de tous les sacs de capture a été trié, les différents insectes identifiés à l'ordre, et pour les groupes systématiques d'intérêt (présentant des espèces de ravageurs ou d'auxiliaires du colza), à la famille ou à l'espèce, puis comptés. Les aphidiinés ont été isolés et identifiés au genre grâce à leur nervation (Chaubet, 2010). *D. rapae* est la seule espèce du genre *Diaeretiella*, ce qui en fait un des rares parasitoïdes de pucerons identifiable facilement à l'espèce grâce à la nervation. Tous les *D. rapae* identifiés ont été prélevés, et conditionnés individuellement avant d'être préparés et envoyés pour analyse isotopique.

### 2.2.2. Mesure de l'infestation du puceron *Brevicoryne brassicae*

Nous avons cherché et noté la position de l'ensemble des colonies observées en face de la bande fleurie de chaque site, sur toute la longueur de la bande et jusqu'à 20 m dans la parcelle (Figure 7). Etant donné la dynamique de dispersion spatiale des colonies de pucerons (Hughes, 1963) à partir d'un foyer, et qui conduit à la formation de nouvelles colonies à partir d'une colonie plus ancienne, nous avons opté pour une stratégie d'échantillonnage séquentielle (Robert *et al.*, 1988) en deux temps. Dans un premier temps nous avons répertorié toutes les colonies rencontrées entre 0 et 20 m, puis dans un second temps nous avons cherché la présence de colonies supplémentaires en périphérie des colonies les plus importantes.

Chaque colonie est marquée à l'aide d'un morceau de ruban adhésif blanc portant un numéro, placé en amont sur la tige, afin de pouvoir être retrouvée d'un relevé à l'autre et ne pas être compté plus d'une fois par relevé, et la distance entre chaque colonie et la bordure est notée. On dénombre ensuite les pucerons et les momies (fermées et ouvertes) présents dans chaque colonie. Tant que cela est possible, un nombre exact est donné, il est en revanche estimé pour les plus grosses colonies, par comptage exact d'une petite surface et extrapolation à la surface totale de la colonie. Une estimation du taux de parasitisme a été calculée de la manière suivante :  $\text{taux de parasitisme} = \frac{\text{nombre de momies}}{\text{nombre de pucerons} + \text{nombre de momies}}$ .

### 2.2.3. Solution de marquage

Le volume de solution de marquage absorbé par chaque bleuet, estimé grâce à la diminution du volume présent dans les tubes, est noté jusqu'à ce que les plantes arrêtent de prélever. A chaque fois, de la solution de marquage est rajoutée de manière à remplir à nouveau les tubes de 2 mL, sans toutefois dépasser le volume maximal de 3 mL de solution disponible pour chaque plante. Une fois ce volume atteint, la part de solution prélevée est remplacée par de l'eau afin que le tube ne se vide pas complètement et que la totalité du  $^{13}\text{C}$  mis à disposition de chaque bleuet soit absorbé.



## 2.2.4. Prélèvements de bleuets

Lors de nos relevés, nous n'avons pas pu observer de gouttes de nectar extra-floral sur les bleuets marqués, nous n'avons donc pas pu en prélever en vue de vérifier son enrichissement en  $^{13}\text{C}$ . Lors de l'avant-dernier relevé, des morceaux de feuilles et de bractées (sur lesquelles se trouvent les nectaires extra-floraux) ont donc été prélevés sur 2 bleuets par parcelle afin de pouvoir tout de même vérifier par analyse isotopique si ces plantes ont bien assimilé le  $^{13}\text{C}$ .

**Tableau 3 : Tableau récapitulatif des mesures et prélèvements effectués lors de chaque relevé**

	12/05	14/05	26/05	3/06	5/06	12/06	19/06
<b>Captures d'insectes</b>	X	X	X	X	X	X	X
<b>Notations des pucerons et momies</b>		X	X	X	X	X	X
<b>Ajout de solution/eau dans les tubes</b>	X	X	X	X			
<b>Prélèvements de bleuets</b>						X	

Le Tableau 3 ci-dessus présente le planning des opérations de mesures et prélèvements. Lors de chaque date, le même protocole a été appliqué sur chacune des deux parcelles, en commençant toujours par celle du Fresne, et entre 11h et 15h, période de la journée à laquelle les températures sont les plus favorables à la présence d'insectes (Mazon *et al.*, 2009) et de recherche d'hôte pour les parasitoïdes (Lee et Heimpel, 2005). Les relevés ont commencé 5 jours après l'implantation des bleuets marqués. Ils ont ensuite été effectués de façon hebdomadaire et aussi régulièrement que possible en fonction des conditions météorologiques.

## 2.3. Préparation des échantillons pour l'analyse isotopique

Après avoir été séchés minimum 1 heure dans une étuve à 70°C, les *Diaeretiella rapae* capturés ont été pesés individuellement avec une précision de 0,001 mg grâce à une balance Sartorius CP2. La masse minimale d'un échantillon d'insecte pour une analyse de  $^{13}\text{C}$  est de 0,2 mg. La masse de ces parasitoïdes étant en moyenne de 0,01 mg, nous avons ajouté à chaque échantillon, jusqu'à atteindre une masse comprise entre 0,2 et 0,5 mg, de la poudre de *D. rapae* non marqués provenant de l'élevage d'Agrocampus Ouest Angers. Afin d'obtenir cette poudre, des parasitoïdes morts ont été récoltés au sein des cages d'élevage, séchés minimum 24 heures dans une étuve à 70°C, puis broyés pendant 1 minute à l'aide d'un broyeur à bille (Retsch MM301) à une fréquence de 30 Hz (1/s).

Chaque échantillon de *D. rapae* capturé et additionné de poudre a finalement été pesé et encapsulé dans une capsule en étain de 8x5 mm (Tin Capsules Presses Standard Weight 8x5mm de Sercon) en prenant bien soin de ne pas toucher les capsules avec les doigts, de ne pas contaminer les échantillons entre eux ou avec quoi que ce soit d'autre, et en vérifiant bien l'étanchéité de chaque capsule.

Deux échantillons Témoins composés uniquement de poudre de parasitoïdes non marqués ont été préparés de la même manière.

Quatre échantillons de bleuets (deux par parcelles) ont également été préparés : les échantillons prélevés sur les plantes ont été séchés 48 heures dans une étuve à 70°C puis broyés 2 minutes à l'aide d'un broyeur à billes (Retsch MM301) à une fréquence de 30 Hz (1/s).

## 2.4. Analyses isotopiques

Les échantillons ont été envoyés pour analyse au plateau isotopie de Normandie (Platin') de l'UMR EVA (Ecophysiologie Végétale, Agronomie et nutrition N.C.S.), située à l'Université de Caen-Basse Normandie, qui a réalisé les analyses de  $^{13}\text{C}$  et C total grâce à une technique de spectrométrie de masse (IRMS, Isotope Ratio Mass Spectrometry) utilisant un analyseur élémentaire EA3000 (EuroVector) couplé à un spectromètre de masse IsoPrime (Elementar).

Les mesures obtenues à la suite des analyses isotopiques sont les suivantes :

- $\delta^{13}\text{C}$  (‰) : rapport  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  de l'échantillon sur le rapport  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  d'un élément de référence standard. Il se calcule de la manière suivante (Hood-Nowotny et Knols, 2007) :

$$\delta^{13}\text{C} = \frac{^{13}\text{C}/^{12}\text{C}_{\text{échantillon}} - ^{13}\text{C}/^{12}\text{C}_{\text{référence}}}{^{13}\text{C}/^{12}\text{C}_{\text{référence}}} \times 1000$$

Dans le cas d'analyse de  $^{13}\text{C}$ , l'élément de référence est la Pee Dee Belemnite (PDB), dont le rapport  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  est égal à 0,0112372.

- $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  (%) : rapport de  $^{13}\text{C}$  sur  $^{12}\text{C}$  dans l'échantillon, exprimé en pourcentage
- C (%) : pourcentage de C total dans l'échantillon

Puisque nos échantillons sont composés à la fois de poudre de parasitoïdes, que l'on sait non marqués, et d'un parasitoïde dont on va chercher à déterminer le marquage, nous avons calculé la part de  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  (%) attribuable uniquement au *D. rapae* qui nous intéresse. Ce calcul a été réalisé grâce à la connaissance des proportions, en masse, de poudre (p) et de *D. rapae* capturé (q) présents dans chaque échantillon, ainsi que du  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  (%) de la poudre seule (Témoins) et de l'échantillon (poudre + *D. rapae* capturé) selon la formule suivante :

$$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}_{\text{échantillon}} = p \times ^{13}\text{C}/^{12}\text{C}_{\text{témoin}} + q \times ^{13}\text{C}/^{12}\text{C}_{\text{D.r. capturé}}$$

avec  $p = \frac{m_{\text{poudre}}}{m_{\text{échantillon}}}$  et  $q = \frac{m_{\text{D.r. capturé}}}{m_{\text{échantillon}}}$

et

$$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}_{\text{D.r. capturé}} = \frac{^{13}\text{C}/^{12}\text{C}_{\text{échantillon}} - p \times ^{13}\text{C}/^{12}\text{C}_{\text{témoin}}}{q}$$

Afin d'affecter le même traitement aux valeurs des témoins pour la détermination du seuil de marquage, nous avons appliqué la même formule à leurs valeurs de  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  en estimant le paramètre q par le poids moyen d'un individu *D. rapae* (0,095 mg) à la place de  $m_{\text{D.r. capturé}}$ .

## 2.5. Traitement des résultats

En raison des importantes différences d'orientations des parcelles par rapport aux vents dominants (Figure 5) et l'importance de ce facteur pour la dispersion des pucerons et de ses petits auxiliaires (Robert *et al.*, 1988), ainsi que des différences de vitesses de développement des bandes fleuries, nous avons décidé de traiter les deux parcelles séparément.

### 2.5.1. Analyses statistiques

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide des logiciels R et XLSTAT et le seuil de significativité a été placé à 0,05 ( $\alpha=5\%$ ).

### ❖ Répartition spatiale de l'infestation

La fonction de distribution cumulative du nombre de colonies (CDF observée) en fonction de leur distance à la bordure a été établie et comparée à trois autres fonctions de répartition à l'aide du test de Kolmogorov-Smirnov : 1) une fonction de répartition suivant une loi uniforme sur 8 mètres (Fresne) ou 10 mètres (Bouchemaine), distance maximale à laquelle nous avons trouvé une colonie de *B. brassicae* ; 2) une fonction de répartition suivant une loi uniforme sur 20 mètres, distance maximale à laquelle nous avons cherché la présence de colonies ; 3) une fonction de répartition suivant une loi exponentielle de paramètre  $\lambda$  égal à l'inverse de la distance moyenne des colonies par rapport à la bande fleurie.

### ❖ Evolution temporelle de l'infestation

Etant donné l'absence de normalité des données, l'influence de la date sur le nombre de pucerons par colonies a été évaluée à l'aide d'un test de Kruskal-Wallis. Dans le cas de variations significatives ( $p$ -value < 0,05), les différences entre dates deux à deux ont été mises en évidence à l'aide du test de Comparaison Multiple de Kruskal-Wallis (test "kruskalmc" avec R).

### ❖ Répartition des insectes par groupe fonctionnel en fonction de la distance

Afin d'évaluer les différences d'effectifs entre les différents groupes fonctionnels d'insectes et entre les différentes distances à la bordure, nous avons réalisé des tests exacts de Fisher ("Fisher" dans la partie Résultats) sur tableaux de contingences à l'aide du logiciel XLSTAT (Version 2013.5.06).

### ❖ Marquage de *Diaretiella rapae*

Afin d'étudier le marquage de *D. rapae*, 12 témoins non marqués ont été utilisés : aux 2 échantillons non marqués analysés en même temps que les parasitoïdes capturés, nous avons ajouté la valeur du témoin de l'analyse méthodologique préliminaire (Annexe 5), ainsi que les valeurs de 9 échantillons de *D. rapae* non marqués obtenues après analyses identiques au sein du même laboratoire (Platin') et dans les mêmes conditions lors d'une précédente étude (Jamont *et al.*, 2014) (Annexe 3).

La normalité de la distribution des valeurs de  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  des témoins non marqués ainsi que des échantillons capturés a été vérifiée à l'aide du test de Shapiro-Wilk. Dans le cas d'absence de normalité, nous avons comparé ces deux distributions à l'aide du test de Wilcoxon Mann-Whitney afin de savoir si elles suivaient des lois de distributions significativement différentes ou non.

## 2.5.2. Détermination du seuil de marquage

Afin de déterminer si les différents échantillons ont acquis ou non le marquage, il est nécessaire de définir un seuil à partir duquel ils sont considérés comme marqués, et en-dessous duquel les valeurs correspondent soit à des variations naturelles du  $\delta^{13}\text{C}$  pour un même niveau trophique ou à un enrichissement naturel entre deux niveaux trophiques (gain de  $0,5 \pm 0,13\%$  (moyenne  $\pm$  écart-type) lors du passage d'un niveau trophique vers le niveau supérieur, d'après McCutchan *et al.* (2003)), soit à la fluctuation des valeurs mesurées par les machines utilisées. Wanner *et al.* (2006a) établit ce seuil comme égal à la limite supérieure de l'intervalle de confiance à 95% déterminé à partir de la moyenne et de l'écart-type d'un jeu de témoins non marqués. L'utilisation de cette méthode à partir de nos témoins génère des faux positifs, comme cela est généralement le cas pour ce type d'analyse (Sivakoff *et al.*, 2011) : la valeur de certains témoins est supérieure à la limite de l'intervalle de confiance à 95% établi et ces échantillons seraient considérés comme marqués alors que nous les savons non marqués. Afin d'éviter ce biais nous avons décidé d'utiliser une méthode permettant d'augmenter la marge de sécurité associée à la détermination de la valeur du seuil de marquage, au risque de considérer certains échantillons faiblement enrichis en  $^{13}\text{C}$  comme non marqués alors qu'ils le sont, mais éliminant l'apparition de faux positifs dans notre jeu de témoins non marqués : le bootstrap. Il permet, à partir d'un échantillon de taille limitée et dont on connaît la loi de distribution et les paramètres (moyenne et écart-type si l'échantillon suit une loi

normale), de générer aléatoirement un grand nombre de données artificielles de même distribution et d'augmenter ainsi la puissance de calcul d'un des paramètres (Sivakoff *et al.*, 2011).

Dans notre situation, la méthode est utilisée afin de calculer un intervalle de confiance à 95% de la valeur que peut prendre le maximum d'une distribution suivant les paramètres de répartition de nos témoins. La valeur supérieure de cet intervalle de confiance sera adoptée comme seuil de marquage. Concrètement, après avoir calculé les paramètres de la loi suivie par nos témoins non-marqués, on génère aléatoirement 1000 tirages de  $x$  échantillons dont les valeurs sont distribuées selon cette loi, chaque tirage étant composé d'autant d'échantillons que le nombre de témoins utilisés pour déterminer les paramètres de la distribution. Les 1000 valeurs maximales obtenues sont classées par ordre croissant et la 975<sup>ème</sup> plus haute est retenue comme seuil de marquage. Cela équivaut à établir ce seuil comme l'estimation de la limite supérieure d'un intervalle de confiance bilatéral symétrique à 95% (c'est-à-dire avec 2,5% inférieurs et 2,5% supérieurs) de la valeur maximale pouvant être prise par un échantillon non-marqué. Le script utilisé sous R est détaillé en Annexe 2.

### 3. Résultats

#### 3.1. Infestation des parcelles par le puceron *Brevicoryne brassicae*

##### 3.1.1. Répartition spatiale de l'infestation

Sur les deux parcelles, la fonction de répartition du nombre de colonies en fonction de leur distance à la bordure ne suit ni une loi uniforme sur 8 mètres (Fresne : Kolmogorov-Smirnov,  $p$ -value<0,01) ou 10 mètres (Bouchemaine :  $p$ -value<0,01), ni une loi uniforme sur 20 mètres ( $p$ -value<0,01).

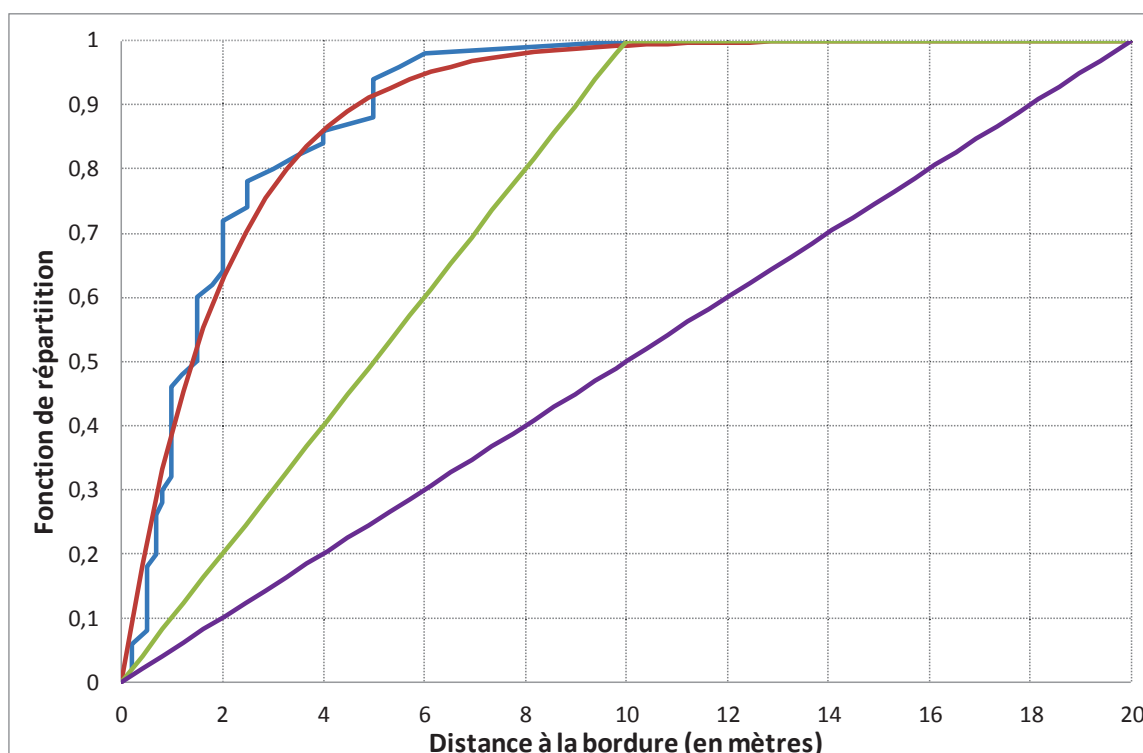


Figure 8 : Répartition du nombre de colonies de *B. brassicae* en fonction de leur distance en mètres par rapport à la bande fleurie sur la parcelle de Bouchemaine(en bleu), et ajustement visuel avec différentes lois de répartition : loi exponentielle ( $\lambda=0,493$ ) en rouge, loi uniforme sur 10 m en vert, loi uniforme sur 20 m en mauve.



On peut par contre observer que dans les deux cas la distribution du nombre de colonies s'ajuste parfaitement à une loi de distribution exponentielle de paramètre  $\lambda = [1/\text{distance moyenne des colonies par rapport à la bordure}]$  (Fresne :  $\lambda = 0,424$  ; p-value=0,58. Bouchemaine :  $\lambda = 0,493$  ; p-value=0,15) (voir Figure 8 pour la parcelle de Bouchemaine et Figure 13 en Annexe 3 pour la parcelle du Fresne).

### 3.1.2. Evolution spatiale de l'infestation

Sur la parcelle du Fresne (Figure 9 a), on observe une très nette concentration de la proportion moyenne (sur l'ensemble des dates) du nombre de pucerons, de momies, et du parasitisme à 2 mètres de la bande fleurie.

Sur la parcelle de Bouchemaine (Figure 9 b), c'est entre 0 et 1 mètre de la bordure qu'on observe la proportion moyenne la plus élevée de pucerons. C'est par contre à 2 mètres de la bande fleurie que la proportion moyenne de momies est la plus élevée. Quant à la répartition moyenne du parasitisme, elle fluctue de manière importante mais est également plus élevée entre 0 et 3 mètres depuis la bordure.

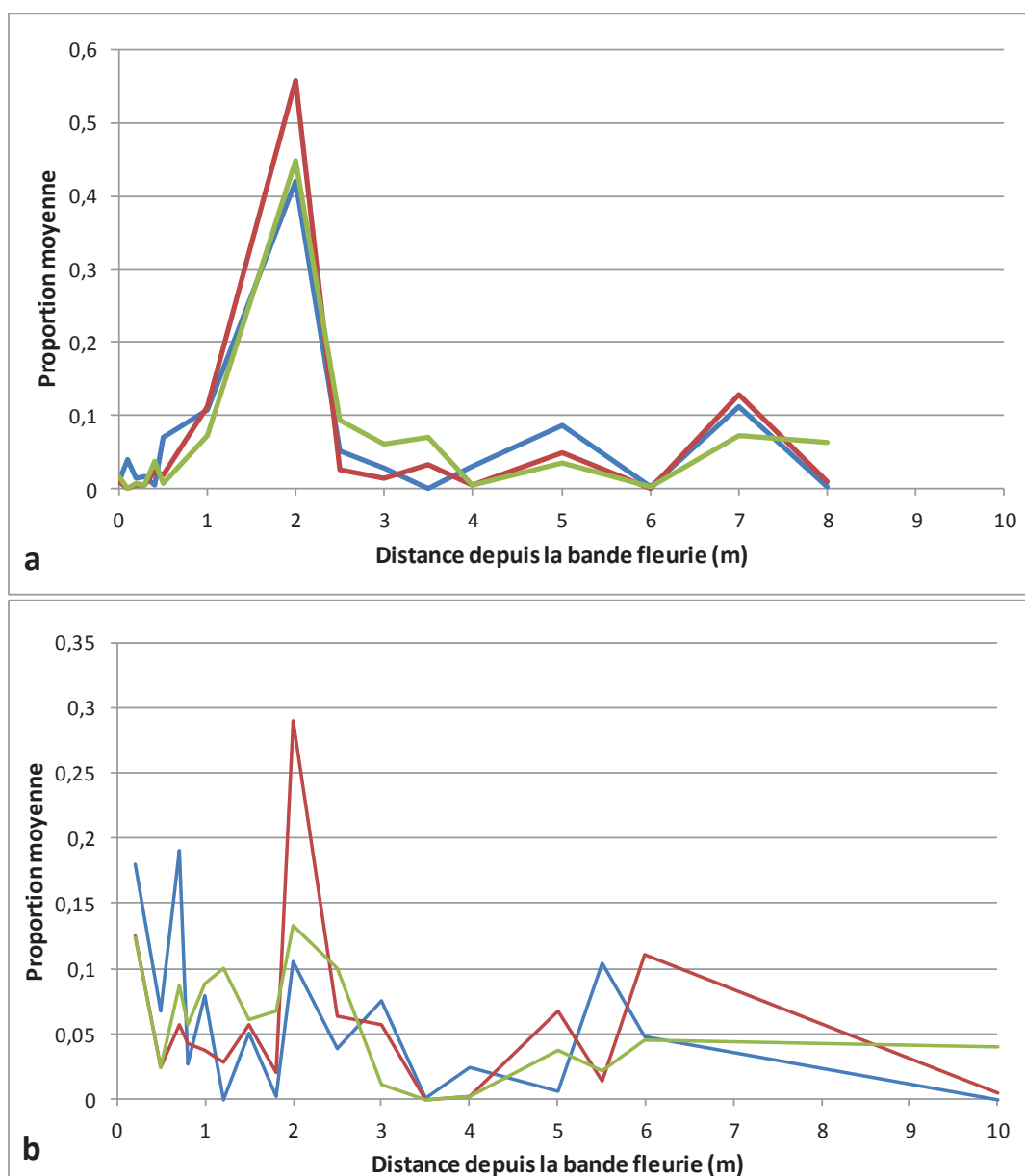


Figure 9 : Evolution de la proportion moyenne du nombre de pucerons (en bleu), de momies (en rouge) et du taux de parasitisme (en vert) en fonction de la distance en mètres depuis la bande fleurie, sur la parcelle du Fresne (a) et celle de Bouchemaine (b)

### 3.1.3. Evolution temporelle de l'infestation

Le nombre de pucerons par colonie lors d'un même relevé peut varier énormément, allant de quelques pucerons pour certaines à plusieurs centaines pour d'autres (Figure 10 b). Mis à part ces valeurs extrêmes, pour la majorité des colonies le nombre de pucerons est réparti de manière homogène entre une dizaine et une centaine d'individus, sauf pour la date du 26 mai au Fresne et la date du 3 juin à Bouchemaine, dates auxquelles ce nombre évolue entre 50 et 300 pucerons pour la majorité des colonies.

Sur la parcelle du Fresne, la date a une influence significative sur le nombre de pucerons par colonie (Kruskal-Wallis,  $p$ -value=0,02). Entre le 14 et le 26 mai, la taille des deux plus grosses colonies diminue alors que la taille de la majorité des autres augmente. La taille moyenne des colonies reste stable puis diminue jusqu'à atteindre un minimum significatif (Kruskal-Wallis Multiple Comparison,  $p$ -value<0,05) le 5 juin. A partir de cette date, le maximum du nombre de pucerons par colonie augmente à nouveau jusqu'au 19 juin mais il n'y a plus d'effet sur la moyenne (Figure 10 b).

Sur la parcelle de Bouchemaine, on observe également des variations significatives du nombre de pucerons par colonie en fonction de la date ( $p$ -value<0,01). L'évolution globale de la distribution est comparable à celle du Fresne, mais la taille maximale des colonies est atteinte le 3 juin (Figure 10 b).

Les variations temporelles du nombre de momies par colonie ne sont pas significatives sur la parcelle de Bouchemaine ( $p$ -value=0,45) mais elles le sont sur la parcelle du Fresne ( $p$ -value<0,01). Le nombre de momies, très faible au début des relevés -il atteint seulement 25 momies pour la plus grande colonie-, augmente progressivement jusqu'à atteindre un premier pic à la date du 3 juin (Figure 10 a). Ce pic est plus important sur la parcelle du Fresne (pic significatif : Kruskal-Wallis Multiple Comparison,  $p$ -value<0,05) et atteint jusqu'à 130 momies sur une colonie, que sur celle de Bouchemaine (seulement jusqu'à 70 momies). Il diminue ensuite jusqu'à atteindre un minimum le 12 juin.

Au Fresne, le nombre de momies par colonie semble évoluer exactement de la même manière que le nombre de pucerons, mais avec une semaine de décalage. On constate ainsi une très forte augmentation du nombre de momies une semaine après le premier pic d'infestation de la parcelle. Au contraire à Bouchemaine, les variations ont lieu au même moment : c'est lorsque le nombre pucerons est le plus élevé que le nombre de momies est lui aussi le plus élevé.

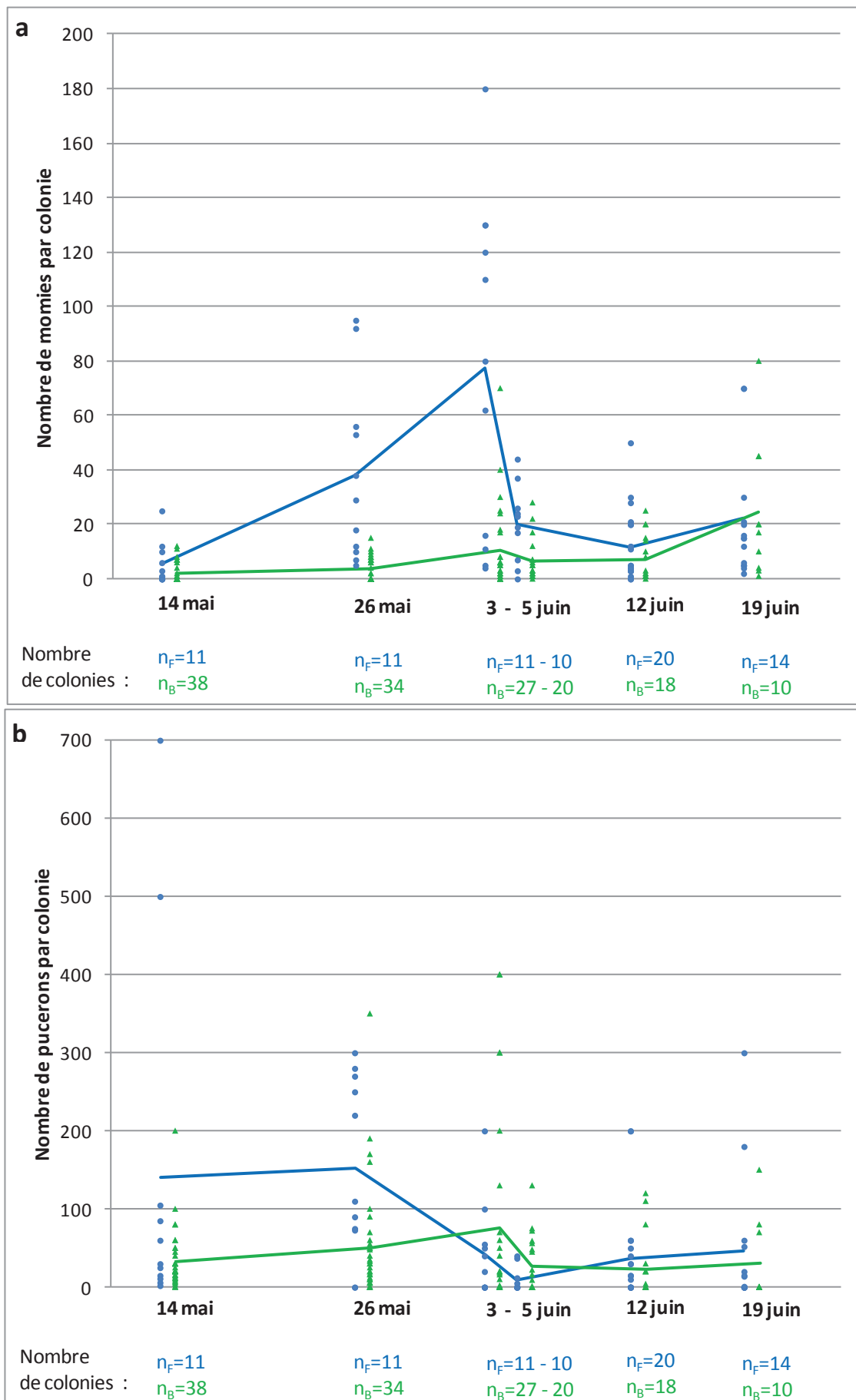


Figure 10 : Evolution temporelle du nombre de pucerons (b) et du nombre de mummies (a) par colonie de *B. brassicae* sur la parcelle du Fresne (en bleu) et celle de Bouchemaine (en vert), et nombre de colonies pour chacune des parcelles (relativement  $n_F$  et  $n_B$ ).

### 3.2. Groupes fonctionnels d'insectes en fonction de la distance

Nous avons retrouvé majoritairement les mêmes espèces sur les deux parcelles. Les différents insectes capturés à l'aide de l'aspirateur à 0, 5, 10, 15 et 20 mètres de la bande fleurie ont été classés par groupes fonctionnels et par ordre décroissant d'abondance (Tableau 4) :

**Tableau 4 : Insectes capturés classés par groupe fonctionnel**

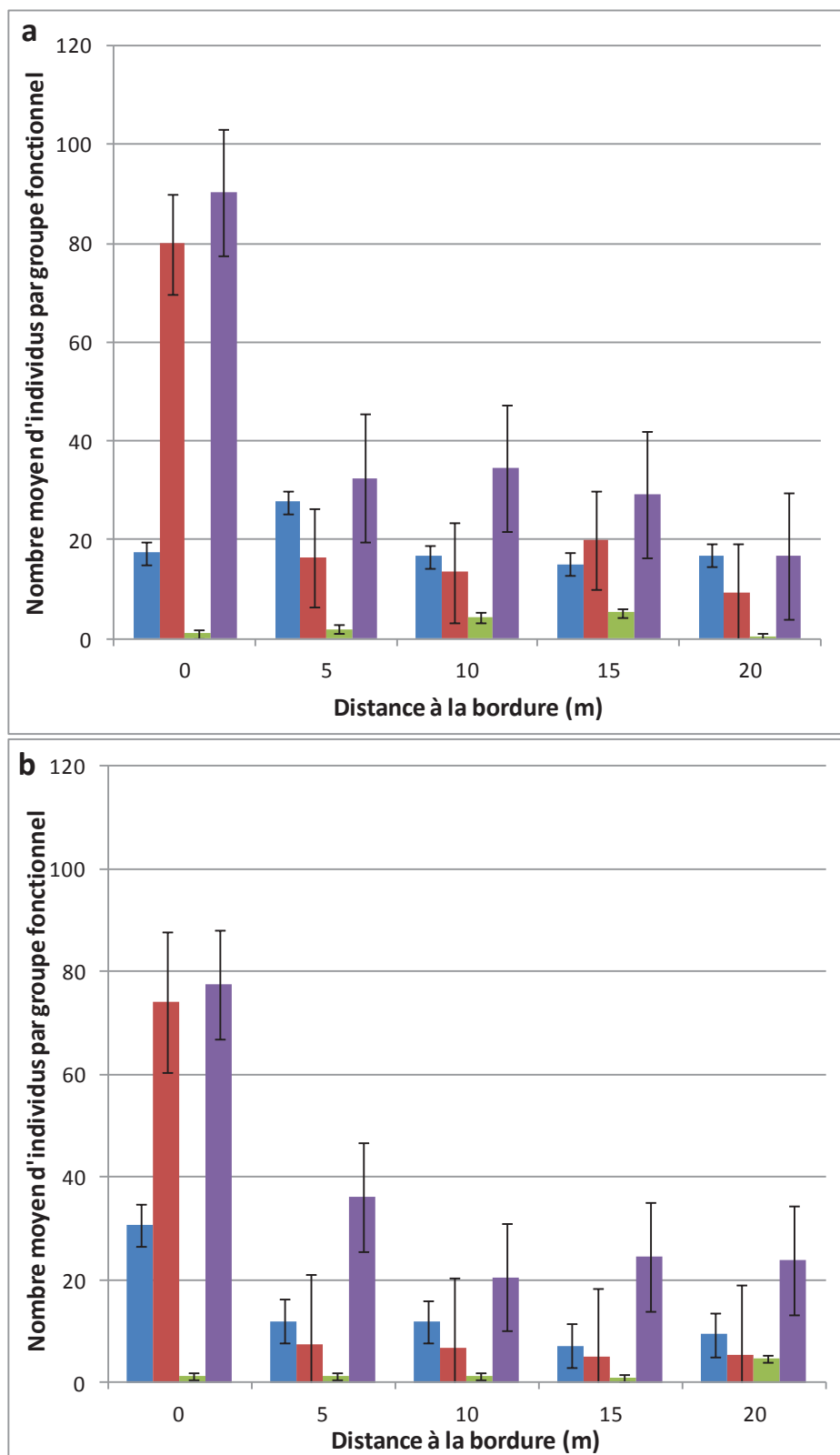
Ravageurs	Parasitoïdes	Prédateurs de pucerons	Autres
Méligèthes ( <i>Meligethes aeneus</i> )	Hyménoptères parasitoïdes et hyperparasitoïdes divers (beaucoup de <i>Chalcidoidea</i> )	Larves de <i>Cecidomyiidae</i>	Pucerons non inféodés au Brassicacées ( <i>Aphidoidea</i> )
Grosse altise ( <i>Psylliodes chrysocephala</i> )		Larves de <i>Syrphidae</i>	
Petite altise ( <i>Phyllotreta atra</i> )		Adultes et larves de forficules ( <i>Forficula sp.</i> )	
Larves de <i>Chrysomelidae</i>	<i>Diaretiella rapae</i>	Punaises Nabides (Nabidae)	Thrips (Thysanoptera)
Puceron vert du pêcher ( <i>Myzus persicae</i> )	<i>Aphidius spp.</i>	Coccinelles ( <i>Coccinella sp.</i> )	Carabes (Carabidae)
Charançon des siliques ( <i>Ceutorhynchus assimilis</i> )	<i>Ephedrus sp.</i>	Larves de <i>Chrysopidae</i>	
Altise des crucifères ( <i>Phyllotreta nemorum</i> )	<i>Lysiphlebus sp.</i>		
Puceron du navet ( <i>Lipaphis erysimi</i> )	<i>Praon sp.</i>		
Anthomyiidae ( <i>Delia radicum</i> probable)			
<i>Baris sp.</i> (Curculionidae)			

Etant donné les effectifs extrêmement faibles de prédateurs (pas plus de 6 en moyenne par distance), nous ne nous sommes pas intéressés particulièrement à ce groupe fonctionnel. Les insectes classés dans le groupe "Autres" (Tableau 4) n'ayant aucun intérêt pour la lutte contre le puceron et ne présentant aucun inconvénient à la culture du colza, nous ne nous sommes pas non plus intéressés à ce groupe. Ces deux groupes ont tout de même été représentés sur la Figure 11 afin d'offrir un aperçu de l'abondance relative de chacun des groupes et des effectifs totaux d'insectes capturés.

Sur les deux parcelles, il y a significativement plus de ravageurs (Fisher, p-value<0,05) dans la bande fleurie qu'à toutes les autres distances (Figure 11). Dans la bande fleurie, les ravageurs sont également significativement plus nombreux que les parasitoïdes (Fisher, p-value<0,05). Pour toutes les autres distances (mis à part à 15 m au Fresne), il y a significativement moins de ravageurs que de parasitoïdes (Fisher, p-value<0,05).

Sur la parcelle du Fresne il ya significativement plus de parasitoïdes à 5 mètres de la bande fleurie (Fisher, p-value<0,05) qu'à toutes les autres distances (Figure 11 a).

Le 3 juin, date à laquelle nous avons appliqué le même protocole de capture en face des bandes enherbées, sur la parcelle du Fresne, il y a significativement plus de ravageurs dans la bande fleurie que dans la bande enherbée (Fisher, p-value<0,05). Dans la parcelle par contre, le nombre de ravageurs à 5 et à 10 mètres est significativement plus faible en face des bandes fleuries qu'en face des bandes enherbées (Fisher, p-value<0,05). Il n'y a aucune différence entre bandes fleuries et enherbées en ce qui concerne le nombre de parasitoïdes (Figure 14 a - Annexe 6).



**Figure 11 : Nombre moyen (toutes dates) d'insectes par groupe fonctionnel avec barres d'erreur standard en fonction de la distance à la bordure (en mètres) sur la parcelle du Fresne (a) et celle de Bouchemaine (b) : Parasitoïdes en bleu, Ravageurs en rouge, Prédateurs en vert et Autres en mauve.**

A Bouchemaine, il n'y a aucune différence entre le nombre de ravageurs dans la bande fleurie et dans la bande enherbée. Dans la parcelle, le nombre de ravageurs est significativement plus important en face des bandes fleuries qu'en face des bandes enherbées uniquement à 5 m de la bordure (Fisher,  $p$ -value $<0,05$ ). Il n'y a aucune différence significative entre bandes fleuries et enherbées en ce qui concerne le nombre de parasitoïdes (Fisher,  $p$ -value $>0,05$ ) (Figure 14 b - Annexe 6).

### 3.3. Marquage isotopique

#### 3.3.1. Marquage des bleuets

Etant donné les très grandes différences de  $\delta^{13}\text{C}$  entre l'échantillon végétal de référence ( $\mu(\delta^{13}\text{C}) = -30.52$ ,  $\text{sd}=0.05$ ) et les 2 échantillons de bleuets prélevés lors du relevé du 12 juin (une semaine avant le dernier relevé) sur chaque parcelle (Fresne :  $\delta^{13}\text{C}_1=14.19$  et  $\delta^{13}\text{C}_2=11.63$  ; Bouchemaine :  $\delta^{13}\text{C}_1=-24.6$  et  $\delta^{13}\text{C}_2=-23.01$ ), nous pouvons affirmer avec certitude que les bleuets implantés dans les bandes fleuries ont bien assimilé le glucose enrichi en  $^{13}\text{C}$  qui leur a été fourni via le système de Cotton-wick. D'après les résultats de l'étude préliminaire nous pouvons donc avancer de manière assez certaine que le nectar extra-floral des plantes marquées était bien enrichi en  $^{13}\text{C}$  pendant toute la période de relevés, bien qu'aucune production de nectar extra-floral n'ait été directement observée.

#### 3.3.2. Marquage de *Diaeretiella rapae*

La distribution des valeurs de  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  des témoins suit une loi normale (Shapiro-Wilk,  $p\text{-value}=0,09$ ) de moyenne  $\mu_T=1,075095$  et d'écart-type  $\text{sd}_T=0,002208$ . La distribution des valeurs de  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  des échantillons capturés ne suit pas une loi normale ( $p\text{-value}<0,01$ ). D'après le test de Mann-Whitney Wilcoxon nous pouvons affirmer que ces deux distributions sont significativement différentes ( $p\text{-value}<0,01$ ). On peut donc supposer qu'ils existent parmi les échantillons capturés des individus dont le rapport  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  est suffisamment élevé pour qu'ils soient considérés comme marqués.

En suivant la technique de bootstrap décrite dans la partie Matériels et Méthodes (voir § 2.5.2), nous avons calculé la valeur du seuil de marquage à partir de la loi normale de moyenne  $\mu_T$  et d'écart-type  $\text{sd}_T$  suivie par les témoins (Annexe 2). Nous avons ainsi obtenu la valeur seuil  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C} = 1.081734\%$  (Figure 12).

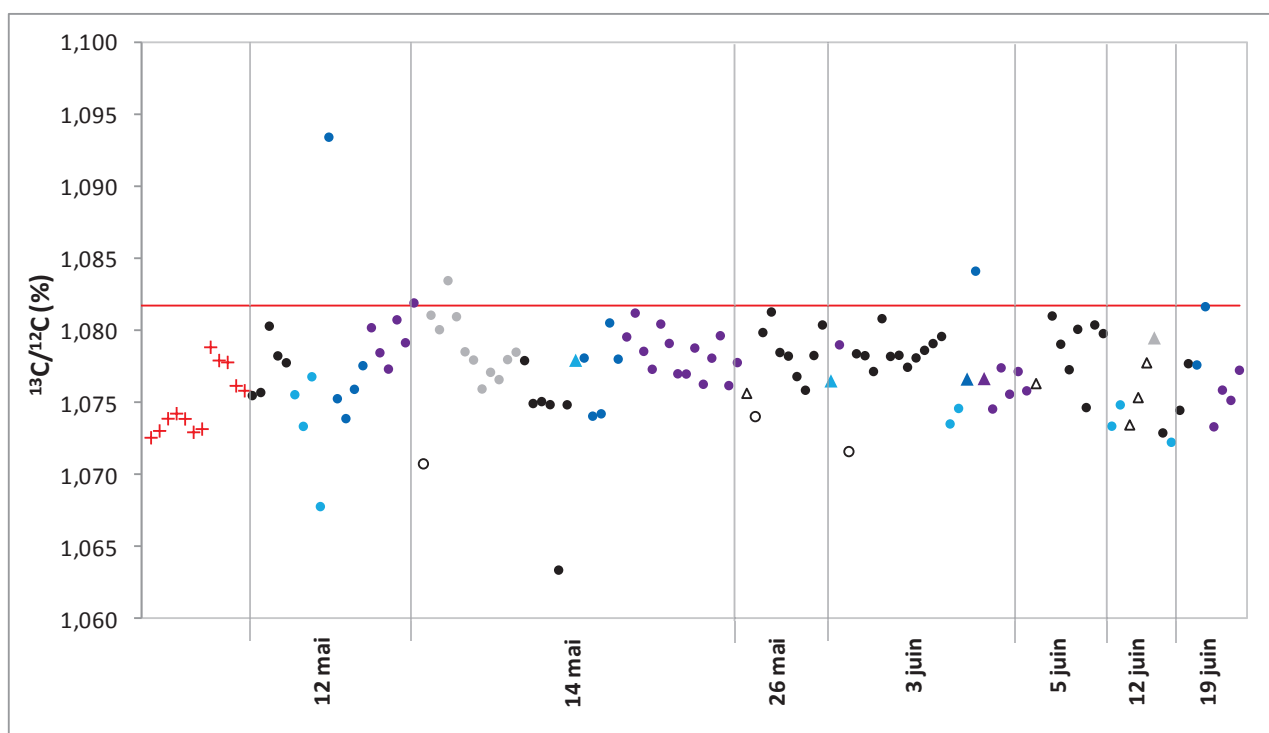


Figure 12 : Rapport  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ (%) des échantillons analysés, classés en fonction de leur date de prélèvement, avec *D. rapae* témoins non marqués (croix rouges), *D. rapae* capturés à 0 m (blanc), entre 0 et 5 m (gris), à 5 m (noir), 10 m (bleu clair), 15 m (bleu foncé) et 20 m (mauve) sur la parcelle du Fresne (ronds) et celle de Bouchemaine (triangles), et seuil de marquage (ligne rouge).

Un échantillon a été écarté de l'analyse suite à une erreur de pesée. Parmi les 117 échantillons de *D. rapae* analysés (107 capturés au Fresne, 10 à Bouchemaine), 4 sont marqués, tous capturés dans la parcelle du Fresne (Figure 12). Un parasitoïde marqué a été capturé à 2 m, deux à 15 m et un à 20 m de la bande fleurie.

En raison du faible effectif de parasitoïdes marqués, nous n'avons pas pu effectuer d'analyse de leur répartition en fonction de la distance à laquelle ils ont été capturés dans la parcelle ou de leur date de capture, ni d'analyse de l'intensité du marquage en fonction de la distance.

## 4. Discussion

### 4.1. Infestation des parcelles par le puceron *Brevicoryne brassicae*

#### 4.1.1. Répartition spatiale de l'infestation

Pour les deux parcelles, le nombre de colonies de pucerons diminue de manière exponentielle lorsqu'on s'éloigne dans la parcelle depuis la bordure (Figure 8). Les pucerons *B. brassicae* établissent donc en majorité leurs colonies dans les 4 à 5 premiers mètres à partir de la bande fleurie.

Sur la parcelle du Fresne, c'est autour de 2 mètres depuis la bordure que se concentre largement le nombre le plus élevé de pucerons par colonie, le nombre le plus élevé de momies et, naturellement, le taux de parasitisme le plus élevé. L'évolution identique de ces trois paramètres est à mettre en lien avec le niveau d'infestation de la parcelle. En effet, le nombre de colonies trouvées au Fresne étant relativement faible (Figure 10 b), on peut supposer que les parasitoïdes n'ont pas eu d'autre choix que de s'attaquer aux colonies présentes, quelle que soit leur taille, et en dépit de leur préférence pour les pucerons éparses plutôt que pour les très grosses colonies (Powell et Nickless, 1996).

A Bouchemaine, on trouve la plus forte proportion de momies à 2 m de la bordure, alors que c'est entre 0 et 1 m que la proportion du nombre de pucerons est la plus élevée. Cela peut être expliqué par le fait que les *D. rapae* y ont trouvé une taille de colonie plus adéquates à leurs préférences (Powell et Nickless, 1996), moins grosses qu'à 0 m mais tout de même avec un nombre de pucerons suffisants en comparaison aux faibles effectifs constatés plus loin. On peut également supposer que le nombre de pucerons relevés à 2 mètres est plus faible en raison du nombre plus important de momies à cette distance.

De manière générale, la concentration du parasitisme observée dans les 2 à 3 premiers mètres de la bande fleurie est comparable aux résultats de Tylianakis *et al.* (2004) d'après lesquels le parasitisme du puceron *Metopolophium dirhodum* par le parasitoïde *Aphidius rhopalosiphii* décroît de manière exponentielle avec l'augmentation de la distance depuis les ressources florales. Notre résultat est à mettre en lien avec le niveau d'infestation relativement faible, et comme nous l'avons montré, extrêmement concentré dans les 5 premiers mètres des parcelles, ce qui peut expliquer que nous n'ayons pas observé de parasitisme plus important au delà de cette distance. Si la distribution des colonies avait été moins concentrée en bordure, elle aurait vraisemblablement affecté aussi la dispersion des parasitoïdes.

#### 4.1.2. Evolution temporelle de l'infestation

Sur la parcelle du Fresne, la diminution des valeurs extrêmes hautes entre le 14 et le 26 mai, alors que le niveau d'infestation reste stable, peut être expliquée par l'essaimage des plus grandes colonies : après s'être développées pendant la première moitié du mois de mai, certaines colonies ont atteint une taille trop élevée et les pucerons ailés, les plus âgés, se dispersent et créent de nouvelles colonies qui vont à leur tour se développer et contribuer à augmenter le niveau d'infestation de la parcelle (Robert *et al.*, 1988). De plus, les ennemis naturels du puceron vont préférentiellement s'attaquer aux grosses colonies afin de minimiser leurs efforts consacrés à la recherche de proies ou d'hôtes (Robert *et al.*, 1988). Bien que ce comportement ne soit pas spécifique de *D. rapae*, qui parasite un plus grand nombre de pucerons lorsqu'ils sont dispersés sur la plante que lorsqu'ils sont regroupés en grosses colonies (Powell et Nickless, 1996), la présence d'autres auxiliaires du puceron dans la parcelle peut aussi permettre d'expliquer ces fortes diminutions.

On peut dire qu'un premier pic d'infestation est atteint dans la parcelle du Fresne autour de la date du 26 mai. La population diminue ensuite jusqu'au 5 juin avant d'amorcer une deuxième augmentation qui peut laisser supposer un deuxième pic d'infestation fin juin. A Bouchemaine, un premier pic apparaît une semaine plus tard, aux alentours du 3 juin.

A la date du 5 juin, la forte homogénéisation de la taille des colonies autour d'un nombre très faible de pucerons (Figure 10 b) -observable sur les deux parcelles et aussi valable pour le nombre de momies (Figure 10 a)- est probablement due aux fortes précipitations survenues la veille, entraînant une diminution généralisée du nombre de pucerons par colonie (Dixon, 1998).

Au Fresne, on constate une très forte augmentation du nombre de momies une semaine après le pic d'infestation des pucerons. Ceci peut être expliquée par le fait qu'une augmentation de la densité de pucerons entraîne une augmentation du nombre de pucerons parasités par *D. rapae* (Chua 1979), et cela notamment car une augmentation de la densité de pucerons améliore l'efficacité du travail de recherche d'hôtes par le parasitoïde. En l'espace de 7 jours, le parasitisme a lieu et le nombre de momies augmente de manière conséquente. L'apparition de momies est un des facteurs qui peut donc expliquer la chute du nombre de pucerons observée le 3 juin. Il est cependant impossible d'évaluer l'importance de ce facteur, car nous ne pouvons pas estimer la part de régulation due à la prédation ou aux facteurs abiotiques, notamment les précipitations, qui peuvent entraîner une réduction de la taille des colonies (Dixon, 1998). Néanmoins, ces deux observations étant corrélées, elles viennent renforcer la pertinence du choix d'étudier le parasitisme de *D. rapae* en tant qu'option de lutte contre le puceron *B. brassicae* (Blande *et al.*, 2004, Zhang et Hassan, 2003).

A Bouchemaine au contraire, les variations ont plutôt lieu au même moment : c'est lorsque le nombre de pucerons est le plus élevé que le nombre de momies est lui aussi le plus élevé. Le même type de résultat a été observé par Chua *et al.* (1977). Ceci peut être dû au fait que, le pic d'infestation ayant eu lieu une semaine plus tard par rapport au Fresne, les parasitoïdes étaient déjà présents sur la parcelle et ont parasité les pucerons directement au moment de leur apparition. Le nombre globalement plus faible de momies par colonie à Bouchemaine peut être expliqué en partie par la présence beaucoup plus faible de son parasite spécifique *D. rapae* (voir Figure 12, seulement 10 individus capturés contre 107 au Fresne avec le même protocole).

Des corrélations semblent donc exister entre l'évolution temporelle de l'infestation et la présence du parasitoïde *D. rapae* mais elles n'ont pas pu être établies plus clairement. Il aurait fallu pour cela avoir pris en compte et mesuré exactement les effets des autres facteurs de régulation de l'infestation, comme les facteurs abiotiques ou l'impact des autres auxiliaires du puceron, ainsi que l'hyperparasitisme pouvant affecter les différentes générations de *D. rapae* (Hughes, 1963 ; Chua, 1979). Un autre moyen d'évaluer plus précisément l'impact de la bande fleurie et de *D. rapae* aurait été de comparer cette situation à l'évolution de l'infestation du puceron en absence de ressources florales, en face de la bande enherbée par exemple (Blaauw et Isaacs, 2012 ; Araj *et al.*, 2009 ; Büchi, 2002), mais cela n'a pas pu être fait par manque de temps d'abord, mais également à cause du biais apporté par la faible infestation observée cette année de manière générale sur les parcelles et les interférences potentielles liées à la proximité des bandes dans le dispositif.



## 4.2. Groupes fonctionnels d'insectes en fonction de la distance

Sur les deux parcelles, les bandes fleuries apparaissent comme un réservoir important de ravageurs du colza (même plus que dans la bande enherbée sur la parcelle du Fresno). Des études rappellent en effet que certaines espèces de fleurs peuvent aussi avoir un effet attractif sur les ravageurs et contribuer à leur nutrition (Baggen *et al.*, 1999 ; Winkler *et al.*, 2009). Malgré cela, la bande fleurie ne semble pas avoir dans notre cas d'effet négatif sur l'état d'infestation des parcelles elles-mêmes. En effet, de 5 à 20 mètres dans les parcelles, les effectifs de ravageurs sont largement inférieurs à ceux mesurés dans les bordures et ils sont même globalement inférieurs aux effectifs de parasitoïdes. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par d'autres études qui constatent que l'augmentation de l'abondance de ressources florales n'entraîne pas d'augmentation de la densité de ravageurs (Blaauw et Isaacs, 2012).

En ce qui concerne les parasitoïdes, aucune différence d'effectif n'a été constatée entre bandes fleuries et enherbées. Dans les conditions de cette étude, on ne peut donc pas affirmer que la présence de ressources florales entraîne une augmentation des populations de parasitoïdes. Ce résultat est en contradiction avec ceux obtenus par l'étude de Blaauw et Isaacs (2012) qui constatent une densité supérieure d'ennemis naturels dans des patchs floraux par rapport à des patchs composés d'herbe. Il est par contre en accord avec les résultats obtenus par Pfiffner *et al.* (2009) qui concluent que les bandes fleuries n'améliorent pas nécessairement le contrôle biologique des ravageurs du chou, en raison de l'influence forte des conditions environnementales spécifiques à chaque site sur l'effet des bandes fleuries. Notre résultat peut aussi être dû à l'âge de la bande fleurie, semée seulement cette année, et dans laquelle se trouvent des espèces bisannuelles ou vivaces n'ayant pas encore fleuri, ce qui pourrait éventuellement réduire le potentiel attractif du mélange vis-à-vis des parasitoïdes. On peut par contre constater que lorsque ces ressources sont présentes, les parasitoïdes ne se concentrent pas uniquement dans la bande fleurie mais se répartissent de manière uniforme jusqu'à 20 m dans la parcelle. Ce type de résultat a également été observé par Bianchi et Wäckers (2008) qui n'ont pas mesuré de réduction de la présence de parasitoïdes à l'intérieur des parcelles malgré l'attraction exercée par les bandes fleuries.

Afin d'avoir une idée plus exacte de l'impact réel des ces bordures sur leur contrôle dans la parcelle, il aurait fallu pouvoir diversifier les méthodes de captures d'insectes (pièges Barber par exemple) afin d'obtenir, entre autres, une meilleure estimation des populations de prédateurs, et mettre en lien de manière plus fine les différentes catégories de ravageurs et de leurs auxiliaires associés. Il serait également profitable d'effectuer l'ensemble de ces relevés sur un nombre plus importants de dates dans les bandes enherbées et sur d'avantage de parcelles de manière générale. Ceci demande bien sûr beaucoup plus de temps de travail et de moyens.

## 4.3. Marquage isotopique

Nous n'avons pas pu nous assurer de manière certaine que le nectar de tous les bleuets que nous avons marqués était bien enrichi en  $^{13}\text{C}$ . En effet, des gouttes de nectar extra-floral n'ont pas pu être observées comme cela était le cas en laboratoire. La quantité de nectar excrétée est extrêmement difficile à prévoir en milieu naturel car elle résulte d'une interaction complexe entre dynamique de production et de réabsorption des plantes, exploitation par les insectes, et paramètres environnementaux tels que la température, l'humidité relative de l'air ou la lumière disponible (Pacini et Nepi, 2007 ; Corbet, 2003). Ces auteurs soulignent aussi le fait que la production peut varier énormément au cours de la journée en fonction de ces paramètres. Si les conditions réunies de manière stable en laboratoire nous ont permis le prélèvement de nectar extra-floral, les nombreux paramètres qui entrent en compte ne nous ont pas offert la chance de pouvoir le faire sur le terrain au moment de nos relevés. En dépit de l'absence de référence concernant le marquage du nectar via la technique de Cotton-wick, les résultats de nos études préliminaires ainsi que l'enrichissement en  $^{13}\text{C}$  constaté dans le matériel végétal prélevé renforcent nos convictions à ce sujet.

Malgré le faible effectif d'échantillons positifs (seulement 4 individus marqués sur 117 analysés), la technique de marquage isotopique de bleuets par Cotton-wick a permis d'identifier, au sein des parasitoïdes *D. rapae* capturés dans la parcelle, des individus ayant consommé du nectar dans la bande. Ces résultats ne permettent pas d'étudier l'influence réelle de la distance à la bordure sur la consommation de nectar, mais ils permettent d'affirmer que ces parasitoïdes sont capables de s'éloigner à la recherche d'hôtes au minimum jusqu'à 20 mètres de la bande, distance maximale à laquelle un individu marqué a été capturé après s'être nourri. Parmi la totalité des ressources florales implantées en bordure, soit une diversité de 32 espèces sur une surface de 90 m<sup>2</sup>, seules 20 plantes appartenant à une seule espèce ont pu être marquées. Cela nous a tout de même permis de constater que 4 individus sur les 107 analysés dans une parcelle ont exploité ces ressources. Ce résultat peut donc nous permettre d'estimer qu'il existe une grande capacité de fourniture de ressources nutritionnelles de la part de l'intégralité d'une bande fleurie, et d'exploitation de la part des parasitoïdes. De plus, après avoir satisfait leurs besoins nutritionnels, ces derniers ne se contentent pas de chercher leurs hôtes de reproduction dans les 4 à 5 premiers mètres au bord du champ, zone dans laquelle les pucerons étaient pourtant présents en nombre suffisant, mais ils sont capables de s'éloigner d'avantage dans la parcelle. Ainsi, les capacités d'amélioration du contrôle du puceron à l'intérieur des cultures, précisément grâce à la fourniture de ressources sucrées par l'implantation de bande fleuries, semblent envisageables. Il serait donc intéressant d'étudier la présence du parasitoïde et son marquage potentiel à de plus grandes distances, afin de savoir jusqu'où ce phénomène est observable. Les études sur la dispersion des ennemis naturels après leur consommation de nectar sont encore peu nombreuses, mais nos résultats vont dans le sens de certains travaux déjà publiés. On peut citer ceux de Freeman-Long *et al.* (1998) qui ont pu observer jusqu'à 30 mètres le déplacement d'auxiliaires depuis des ressources florales vers les cultures adjacentes, ou ceux de Scarratt *et al.* (2008) qui ont constaté la dispersion du parasitoïde *Dolichogenidea tasmanica* dans un vignoble jusqu'à 30 mètres après consommation de nectar. Ces résultats n'apportent cependant que des informations sur les individus les plus lointains et peuvent être peu représentatif de la distribution des parasitoïdes (Wanner *et al.*, 2006b ; Tylianakis *et al.*, 2004).

La nouvelle méthode de suivi de la consommation de nectar des parasitoïdes mise au point lors de cette étude, grâce à l'enrichissement en <sup>13</sup>C par Cotton-wick, a prouvé sa faisabilité. Il s'agit d'une technique facile à mettre en place, pouvant être utilisée directement au champ, possédant une capacité de détection élevée et qui n'impacte pas la survie ni le comportement des insectes. Il est aussi possible de diversifier et de coder le marquage (afin par exemple de différencier la consommation du nectar parmi plusieurs espèces florales) en variant le nombre et la nature des isotopes utilisés (voir Jamont *et al.*, 2014). Ces atouts encouragent d'autant plus son utilisation pour l'étude de la consommation du nectar par les insectes, non seulement les auxiliaires mais également dans le cadre de problématiques pouvant concerner les ravageurs, les pollinisateurs, *etc.*

Afin d'augmenter son efficacité, des améliorations du protocole que nous avons proposé sont néanmoins nécessaires. En ce sens, il serait bon, dans la mesure des moyens disponibles, de multiplier le nombre et la diversité d'espèces de plantes marquées dans la bordure. En effet, le parasitoïde *D. rapae* ne se nourrissant pas exclusivement sur les bleuets, ceci permettrait d'élargir les chances de retrouver des individus marqués lors des captures. Un autre moyen serait de contrôler le niveau d'infestation de la parcelle, comme cela a déjà été fait dans certaines études (Tylianakis *et al.*, 2004), en introduisant des colonies à différentes distances et de cette manière attirer naturellement un plus grand nombre de parasitoïdes.

## - CONCLUSION -

Cette étude démontre de manière concluante qu'une plante nectarifère comme le bleuet *Centaurea cyanus* peut être enrichie en isotopes stables  $^{13}\text{C}$  grâce à une solution de glucose marqué fournie par Cotton-wick. L'isotope est véhiculé jusque dans le nectar extra-floral de la plante et est transmis efficacement au parasitoïde *Diaeretiella rapae* via la consommation de ce nectar. La méthode de Cotton-wick peut être facilement mise en place sur le terrain, en milieu agricole, et il est possible de retrouver des parasitoïdes marqués grâce à des analyses isotopiques réalisées sur des insectes capturés dans une parcelle.

Nos résultats lors de l'expérimentation de cette méthode sur le terrain ne nous ont pas permis d'étudier l'influence de la distance aux bandes fleuries sur la consommation de nectar par le parasitoïde *D. rapae*. Le nombre d'individus marqués que nous avons pu retrouver est en effet trop faible pour réaliser de telles analyses. Malgré cela, la présence de résultats positifs et la détection de parasitoïdes marqués à 2, 15 et 20 mètres de la bande prouvent la viabilité du protocole testé sur le terrain. Ils apportent également une information sur le fait que le parasitoïde étudié exploite le nectar et est capable de s'éloigner dans une parcelle de colza à la recherche d'hôtes de reproduction, et ce au moins jusqu'à 20 mètres d'une source nutritionnelle implantée en bordure.

Cette étude ne nous a pas permis de tirer de conclusion quant à l'influence de la distance aux bandes fleuries sur le contrôle du puceron *B. brassicae* par *D. rapae*. Le faible niveau d'infestation de ce ravageur dans nos parcelles d'expérimentation a compliqué le travail d'estimation des populations et de leur parasitisme, et ne nous a pas permis de comparer les situations en présence et en absence de bandes fleuries. Cependant, bien que nous ayons montré que les parasitoïdes puissent s'éloigner jusqu'à 20 mètres de la bordure, sur nos parcelles, le parasitisme -et donc le contrôle exercé par cet auxiliaire- est tout de même concentré dans les 2 à 3 premiers mètres de la parcelle à partir de la bande, résultat en lien avec la distribution spatiale des colonies de pucerons dans la culture. Les parasitoïdes semblent donc capables d'exploiter des ressources dans la bande fleurie et de chercher des hôtes assez loin dans la parcelle, mais les colonies étant concentrées en bordure, nous n'avons pas pu vérifier si cette prospection se traduisait par un contrôle du ravageur à de plus grandes distances.

Enfin, les résultats de comptage d'insectes permettent de constater que les bandes fleuries peuvent concentrer un grand nombre de ravageurs du colza dans la bordure. Néanmoins les effectifs relevés dans la bande fleurie sont seulement dans une parcelle sur deux plus élevés que ceux présents dans la bande enherbée -où les ressources nectarifères sont absentes- en bordure de la même parcelle. Les bandes fleuries n'ont pas augmenté la présence de ravageurs au sein de nos parcelles, mais les parasitoïdes s'y répartissent de façon homogène en fonction de la distance -jusqu'à 20 mètres au moins- et de manière aussi élevée que dans la bordure.

Ces travaux ont permis de développer une méthode inédite de marquage pour étudier les déplacements des parasitoïdes et l'exploitation des ressources florales dans l'agro-écosystème. Son champ d'application peut de plus être élargi à l'étude des pollinisateurs, des ravageurs ou encore de la consommation du miellat par les ennemis naturels. Des études supplémentaires en laboratoire et sur le terrain sont maintenant nécessaires afin d'améliorer son efficacité. À côté des facilités et de avantages que proposent l'emploi de la technique de Cotton-wick, le coût des éléments enrichis en isotopes stables ainsi que des analyses isotopiques peuvent rester un frein à son utilisation. En ce sens, les perspectives qu'elle offre et l'intérêt qu'elle peut susciter dans le domaine de l'étude *in situ* de l'exploitation des ressources par les insectes pourraient conduire à étudier son potentiel plus en détails et contribuer au développement d'outils et de méthodes d'analyses moins onéreux.

## - Références bibliographiques -

- ARAJ, S-E., WRATTEN, S., LISTER, A., BUCKLEY, H., 2009. Adding floral nectar resources to improve biological control: Potential pitfalls of the fourth trophic level. *Basic and Applied Ecology*. Vol. 10, n° 6, p. 554-562.
- AZZOUZ, H., GIORDANENGO, P., WÄCKERS, F.L., KAISER, L., 2004. Effects of feeding frequency and sugar concentration on behavior and longevity of the adult aphid parasitoid: *Aphidius ervi* (Haliday) (Hymenoptera: Braconidae). *Biological Control*. Vol. 31, n° 3, p. 445-452.
- BAGGEN, L. R., GURR, G. M., MEATS, A., 1999. Flowers in tri-trophic systems: mechanisms allowing selective exploitation by insect natural enemies for conservation biological control. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. Vol. 91, n° 1, p. 155–161.
- BALMER, O., PFIFFNER, L., SCHIED, J., WILLARETH, M., LEIMGRUBER, A., LUKA, H., TRAUGOTT, M., 2013. Noncrop flowering plants restore top-down herbivore control in agricultural fields. *Ecology and Evolution*. Vol. 3, n° 8, p. 2634-2646.
- BALMER, O., GÉNEAU, C.E., BELZ, E., WEISHAUPT, B., FÖRDERER, G., MOOS, S., DITNER, N., JURIC, I., LUKA, H., 2014. Wildflower companion plants increase pest parasitism and yield in cabbage fields: Experimental demonstration and call for caution. *Biological Control*. Vol. 76, p. 19-27.
- BIANCHI, F.J.J.A., BOOIJ, C.J.H., TSCHARNTKE, T., 2006. Sustainable pest regulation in agricultural landscapes: a review on landscape composition, biodiversity and natural pest control. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. Vol. 273, n° 1595, p. 1715-1727.
- BIANCHI, F.J.J.A., WÄCKERS, F.L., 2008. Effects of flower attractiveness and nectar availability in field margins on biological control by parasitoids. *Biological Control*. Vol. 46, n° 3, p. 400-408.
- BLAAUW, B.R., ISAACS, R., 2012. Larger wildflower plantings increase natural enemy density, diversity, and biological control of sentinel prey, without increasing herbivore density. *Ecological Entomology*. Vol. 37, n° 5, p. 386-394.
- BLACKMAN, R.L., EASTOP, V.F., 2000. *Aphids on the World's Crops*. John Wiley & Sons.
- BLANDE, J.D., PICKETT, J. A., POPPY, G.M., 2004. Attack rate and success of the parasitoid *Diaeretiella rapae* on specialist and generalist feeding aphids. *Journal of chemical ecology*. Vol. 30, n° 9, p. 1781–1795.
- BÜCHI, R., 2002. Mortality of pollen beetle *Meligethes spp.* larvae due to predators and parasitoids in rape fields and the effect of conservation strips. *Agriculture, ecosystems & environment*. Vol. 90, n° 3, p. 255–263.
- BUTAULT, J-P., DELAME, N., JACQUET, F., ZARDET, G., 2011. L'utilisation des pesticides en France : état des lieux et perspectives de réduction. *Notes et études socio-économiques*. n° 35, p. 7–26.
- Cemagref, 2005. *Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et limiter les impacts environnementaux*. Editions Quae, p. 19.
- CHAPMAN, J., REYNOLDS, D., SMITH, A., 2004. Migratory and foraging movements in beneficial insects: A review of radar monitoring and tracking methods. *International Journal of Pest Management*. Vol. 50, n° 3, p. 225-232.

- CHAUBET, B., 2010. Stage de reconnaissance des parasitoïdes de pucerons. Réseau BAPOA (Biologie Adaptative des Pucerons et Organismes associés), Rennes. 7-9 décembre 2012.
- CHUA, T.H., 1977. Population studies of *Brevicoryne brassicae* (L.), its parasites and hyperparasites in England. *Researches on Population Ecology*. Vol. 19, p. 125-139.
- CHUA, T.H., 1979. A comparative study of the searching efficiencies of a parasite and a hyperparasite. *Researches on Population Ecology*. Vol. 20, p. 179-187.
- COMBA, L., CORBET, S.A., HUNT, L., WARREN, B., 1999. Flowers, nectar and insect visits: Evaluating British plant species for pollinator-friendly gardens. *Annals of Botany*. Vol. 83, n° 4, p. 369–383.
- COLL, M., HOPPER, X.R., 2004. Guild structure of aphid parasitoids in broccoli: influence of host and neighbouring crops. *MANAGEMENT OF DIAMONDBACK MOTH AND OTHER CRUCIFER PESTS*. p. 259-264.
- COLLEY, M.R., LUNA, J.M., 2000. Relative Attractiveness of Potential Beneficial Insectary Plants to Aphidophagous Hoverflies (Diptera: Syrphidae). *Environmental Entomology*. Vol. 29, n° 5, p. 1054–1059
- CORBET, S.A., 2003. Nectar sugar content: estimating standing crop and secretion rate in the field. *Apidologie*. Vol. 34, n° 1, p. 1-10.
- DE MORAES, C.M., LEWIS, W.J., PARE, P.W., ALBORN, H.T., TUMLINSON, J.H., 1998. Herbivore-infested plants selectively attract parasitoids. *Nature*. Vol. 393, n° 6685, p. 570–573.
- DIXON, A.F.G., 1998. *Aphid Ecology: An optimization approach*. Chapman & Hall.
- FREEMAN-LONG, R., CORBETT, A., LAMB, C., REBERG-HORTON, C., CHANDLER, J., STIMMANN, M., 1998. Beneficial insects move from flowering plants to nearby crops. *California Agriculture*. Vol. 52, n° 5, p. 23–26.
- GABRYŚ, B., PAWLUK, M., 1999. Acceptability of different species of Brassicaceae as hosts for the cabbage aphid. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. Vol. 91, p. 105–109.
- GURR, G., WRATTEN, S.D., ALTIERI, M.A., 2004. Ecological engineering for pest management: towards a rigorous science. *Ecological Engineering for Pest Management: Advances in Habitat Manipulation for Arthropods*. p. 219–225.
- HAGLER, J.R., JACKSON, C.J., 2001. Methods for marking insects: Current techniques and future prospects. *Annual Review of Entomology*. Vol. 46, p. 511–543.
- HOOD-NOWOTNY, R., KNOLS, B.G.J., 2007. Stable isotope methods in biological and ecological studies of arthropods. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. Vol. 124, n° 1, p. 3-16.
- HUGHES, R.D., 1963. Population dynamics of the cabbage aphid *Brevicoryne brassicae* (L.). *Journal of Animal Ecology*. Vol. 32, p. 393-423.
- HULLE, M., CHAUBET, B., DEDRYVER, C-A., TURPEAU-AIT IGHIL, E., 2011. *Les pucerons des grandes cultures. Cycles biologiques et activités de vol*. Editions Quae.
- JAMONT, M., CRÉPELLIÈRE, S., JALOUX, B., 2013a. Effect of extrafloral nectar provisioning on the performance of the adult parasitoid *Diaeretiella rapae*. *Biological Control*. Vol. 65, n° 2, p. 271-277.
- JAMONT, M., PIVA, G., FUSTEC, J., 2013b. Sharing N resources in the early growth of rapeseed intercropped with faba bean: does N transfer matter? *Plant and Soil*. Vol. 371, n° 1-2, p. 641-653.



- JAMONT, M., DUBOIS-POT, C., JALOUX, B., 2014. Nectar provisioning close to host patches increases parasitoid recruitment, retention and host parasitism. *Basic and Applied Ecology*. Vol. 15, n° 2, p. 151-160.
- JENSEN, K. H., SAVAGE, J. A. et HOLBROOK, N. M., 2013. Optimal concentration for sugar transport in plants. *Journal of The Royal Society Interface*. 20 mars 2013. Vol. 10, n° 83, p. 20130055-20130055.
- JERVIS, M., 1998. Functional and evolutionary aspects of mouthpart structure in parasitoid wasps. *Biological Journal of the Linnean Society*. Vol. 63, n° 4, p. 461-493.
- KRIVAN, V., SIROT, E., 1997. Searching for food or hosts: the influence of parasitoids behavior on host-parasitoid dynamics. *Theoretical Population Biology*. Vol. 51, n° 3, p. 201-209.
- LAVANDERO, B.I., WRATTEN, S.D., HAGLER, J., TYLIANAKIS, J., 2004a. Marking and tracking techniques for insect predators and parasitoids in ecological engineering. *Ecological Engineering for Pest Management: Advances in Habitat Manipulation for Arthropods*. p. 117-132.
- LAVANDERO, B., WRATTEN, S., HAGLER, J., JERVIS, M., 2004b. The need for effective marking and tracking techniques for monitoring the movements of insect predators and parasitoids. *International Journal of Pest Management*. Vol. 50, n° 3, p. 147-151.
- LAVANDERO, B., WRATTEN, S., SHISHEHBOR, P., WORNER, S., 2005. Enhancing the effectiveness of the parasitoid *Diadegma semiclausum* (Helen): Movement after use of nectar in the field. *Biological Control*. Vol. 34, n° 2, p. 152-158.
- LEE, J.C., HEIMPEL, G.E., 2005. Impact of flowering buckwheat on Lepidopteran cabbage pests and their parasitoids at two spatial scales. *Biological Control*. Vol. 34, n° 3, p. 290-301.
- MAZON, M., BORDERA, S., RODRÍGUEZ-BERRÍO, A., 2009. Diurnal flight activity of Ichneumonidae (Insecta: Hymenoptera) in Cabañeros National Park (Spain). *Journal of Natural History*. Vol. 43, n° 21-22, p. 1291-1304.
- MCCUTCHAN, J.H., LEWIS, W.M., KENDALL, C., MCGRATH, C.C., 2003. Variation in trophic shift for stable isotope ratios of carbon, nitrogen, and sulfur. *Oikos*. Vol. 102, n° 2, p. 378-390.
- NICOLSON, S.W., THORNBURG, R.W., 2007. Nectar chemistry. *Nectaries and Nectar*. Springer, p. 215-264.
- OFFENBERG, J., 2000. Correlated evolution of the association between aphids and ants and the association between aphids and plants with extrafloral nectaries. *Oikos*. Vol. 91, n° 1, p. 146-152.
- PACINI, E., NEPI, M., VESPRINI, J.L., 2003. Nectar biodiversity: a short review. *Plant Systematics and Evolution*. Vol. 238, n° 1-4, p. 7-21.
- PACINI, E., NEPI, M., 2007. Nectar production and presentation. *Nectaries and Nectar*. Springer, p. 167-214.
- PATT, J.M., HAMILTON, G.C., LASHOMB, J.H., 1997. Foraging success of parasitoid wasps on flowers: interplay of insect morphology, floral architecture and searching behavior. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. Vol. 83, n° 1, p. 21-30.
- PIFFNER, L., LUKA, H., SCHLATTER, C., JUEN, A., TRAUGOTT, M., 2009. Impact of wildflower strips on biological control of cabbage lepidopterans. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. Vol. 129, n° 1-3, p. 310-314.
- PIKE, K.S., STARY, P., MILLER, T., 1999. Host range and habitats of the aphid parasitoid *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera : Aphidiidae) in Washington state. *Environmental Entomology*. Vol. 28, n° 1, p. 61-71.

- POWELL, W., NICKLESS, A., 1996. The foraging efficiency of the parasitoid *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera : Braconidae) in relation to the spatial distribution of aphids on plants. *Arthropod natural enemies in arable land-II*. Acta Jutlandica, Vol. 71, n° 2, p. 97-106.
- ROBERT, Y., DEDRYVER, C.A., PIERRE, J.S., 1988. Aphids their biology, natural enemies and control – Sampling Techniques. *World Crop Pests*. Minks A.K. and Harrewijn P., p. 1-20.
- ROBINSON, R.A., SUTHERLAND, W.J., 2002. Post-war changes in arable farming and biodiversity in Great Britain. *Journal of Applied Ecology*. Vol. 39, p. 157–176.
- ROSE, U.S.R., LEWIS, J., TUMLINSON, J.H., 2006. Extrafloral nectar from cotton (*Gossypium hirsutum*) as a food source for parasitic wasps. *Functional Ecology*. Vol. 20, n° 1, p. 67-74.
- RUSSELL, C.A., FILLERY, I.R.P., 1996. In situ <sup>15</sup>N labelling of lupin below ground biomass. *Australian Journal of Agricultural Research*. Vol. 47, p. 1035–1046.
- SCARRATT, S.L., WRATTEN, S.D., SHISHEHBOR, P., 2008. Measuring parasitoid movement from floral resources in a vineyard. *Biological Control*. Vol. 46, n° 2, p. 107-113.
- SCHAFFERS, A., 2008. Arthropod assemblages are best predicted by plant species composition. *Ecology*. Vol. 89, n° 3, p. 782-794.
- SIEKMANN, G., TENHUMBERG, B., KELLER, M.A., 2001. Feeding and survival in parasitic wasps: sugar concentration and timing matter. *Oikos*. Vol. 95, n° 3, p. 425–430.
- SIROT, Etienne et BERNSTEIN, Carlos, 1996. Time sharing between host searching and food searching in parasitoids: state-dependent optimal strategies. In : *Behavioral Ecology*. 1996. Vol. 7, n° 2, p. 189–194.
- SIROT, E., BERNSTEIN, C., 1997. Food searching and superparasitism in solitary parasitoids. *Acta Oecologica*. Vol. 18, n° 2, p. 63–72.
- SISTERSON, M.S., AVERILL, A.L., 2002. Costs and benefits of food foraging for a braconid parasitoid. *Journal of Insect Behavior*. Vol. 15, n° 4, p. 571–588.
- SIVAKOFF, F.S., ROSENHEIM, J.A., HAGLER, J.R., 2011. Threshold choice and the analysis of protein marking data in long-distance dispersal studies: Threshold choice for protein marking data. *Methods in Ecology and Evolution*. Vol. 2, n° 1, p. 77-85.
- STEFFAN, S.A., DAANE, K.M., MAHR, D.L., 2001. <sup>15</sup>N-enrichment of plant tissue to mark phytophagous insects, associated parasitoids, and flower-visiting entomophaga. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. Vol. 98, n° 2, p. 173–180.
- STOATE, C., BOATMAN, N.D., BORRALHO, R.J., RIO CARVALHO, C., DE SNOO, G.R., EDEN P., 2001. Ecological impacts of arable intensification in Europe. *Journal of Environmental Management*. Vol. 63 p. 337–365.
- TENHUMBERG, B., SIEKMANN, G., KELLER, M.A., 2006. Optimal time allocation in parasitic wasps searching for hosts and food. *Oikos*. Vol. 113, n° 1, p. 121–131.
- THIES, C., STEFFAN-DEWENTER, I., TSCHARNTKE, T., 2003. Effects of landscape context on herbivory and parasitism at different spatial scales. *Oikos*. Vol. 101, n° 1, p. 18–25.
- THIES, C., ROSCHEWITZ, I., TSCHARNTKE, T., 2005. The landscape context of cereal aphid-parasitoid interactions. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. Vol. 272, n° 1559, p. 203–210.

- TSCHARNTKE, T., BRANDL, R., 2004. Plant-insect interactions in fragmented landscapes. *Annual Review of Entomology*. Vol. 49, p. 405–430.
- TYLIANAKIS, J.M., DIDHAM, R.K., WRATTEN, S.D., 2004. Improved fitness of aphid parasitoids receiving resource subsidies. *Ecology*. Vol. 85, n° 3, p. 658–666.
- VOLLHARDT, I.M.G., BIANCHI, F.J.J.A., WÄCKERS, F.L., THIES, C., TSCHARNTKE, T., 2010. Spatial distribution of flower vs. honeydew resources in cereal fields may affect aphid parasitism. *Biological Control*. Vol. 53, n° 2, p. 204-213.
- WÄCKERS, F.L., 2004. Assessing the suitability of flowering herbs as parasitoid food sources: flower attractiveness and nectar accessibility. *Biological Control*. Vol. 29, n° 3, p. 307-314.
- WÄCKERS, F.L., 2005. Suitability of (extra-) floral nectar, pollen, and honeydew as insect food sources. *Plant-Provided Food for Carnivorous Insects: A Protective Mutualism and its Applications*. Cambridge University Press.
- WÄCKERS, F.L., ROMEIS, J., VAN RIJN, P., 2007. Nectar and Pollen Feeding by Insect Herbivores and Implications for Multitrophic Interactions. *Annual Review of Entomology*. Vol. 52, n° 1, p. 301-323.
- WANNER, H., GU, H., HATTENDORF, B., GÜNTHER, D., DORN, S., 2006a. Using the stable isotope marker <sup>44</sup>Ca to study dispersal and host-foraging activity in parasitoids. *Journal of Applied Ecology*. Vol. 43, n° 5, p. 1031-1039.
- WANNER, H., GU, H., GÜNTHER, D., HEIN, S., DORN, S., 2006b. Tracing spatial distribution of parasitism in fields with flowering plant strips using stable isotope marking. *Biological Control*. Vol. 39, n° 2, p. 240-247.
- WEINER, J., 2003. Ecology – the science of agriculture in the 21st century. *The Journal Of Agricultural Science*. Vol. 141, n° 3, p. 371-377.
- WINKLER, K., WÄCKERS, F., PINTO, D.M., 2009. Nectar-providing plants enhance the energetic state of herbivores as well as their parasitoids under field conditions. *Ecological Entomology*. Vol. 34, n° 2, p. 221-227.
- ZHANG, W.Q., HASSAN, S.A., 2003. Use of the parasitoid *Diaeretiella rapae* (McIntoch) to control the cabbage aphid *Brevicoryne brassicae* (L.). *Journal of applied entomology*. Vol. 127, n° 9-10, p. 522–526.



## - Annexes -

Annexe 1 : Composition spécifique du mélange utilisé pour les bandes fleuries

Nom commun	Nom scientifique	Quantité à semer (mg) pour 1 m <sup>2</sup> , sur une base de 300 graines/m <sup>2</sup>
Achillée millefeuille	<i>Achillea millefolium</i>	1.69
Ajuga rampant	<i>Ajuga reptans</i>	12.28
Alliaire pétiolée	<i>Alliaria petiolata</i>	26.63
Anthriscus sauvage	<i>Anthriscus sylvestris</i>	31.53
Aspérule odorante	<i>Galium odoratum</i>	39.60
Avoine élevée (Fromental)	<i>Arrhenatherum elatius</i>	46.94
Berce sphondyle	<i>Heracleum sphondylium</i>	77.87
Bleuet des champs	<i>Centaurea cyanus</i>	36.64
Capselle	<i>Capsella bursa-pastoris</i>	1.16
Centaurée jacée	<i>Centaurea jacea</i>	32.61
Coquelicot	<i>Papaver rhoeas</i>	2.12
Coronille bigarée	<i>Securigera varia</i>	41.86
Dactyle aggloméré	<i>Dactylis glomerata</i>	12.40
Euphorbe petit-cyprès	<i>Euphorbia cyparissias</i>	22.21
Fenouil	<i>Foeniculum vulgare</i>	65.47
Fétuque élevée	<i>Festuca arundinacea</i>	28.30
Julienne des dames	<i>Hesperis matronalis</i>	21.25
Luzerne cultivée	<i>Medicago sativa</i>	20.18
Marguerite	<i>Leucanthemum vulgare</i>	6.23
Matricaire camomille	<i>Matricaria recutita</i>	3.75
Mauve sylvestre	<i>Malva sylvestris</i>	20.61
Millepertuis perforé	<i>Hypericum perforatum</i>	1.24
Molène densiflorum	<i>Verbascum densiflorum</i>	1.31
Moutarde	<i>Sinapis arvensis</i>	25.33
Pâquerette	<i>Bellis perennis</i>	1.55
Petite bardane	<i>Arctium minus</i>	98.53
Potentille érigée	<i>Potentilla erecta</i>	0.84
Tanaisie	<i>Tanacetum vulgare</i>	1.09
Trèfle blanc (T. rampant)	<i>Trifolium repens</i>	6.73
Trèfle violet (T. des prés)	<i>Trifolium pratense</i>	23.15
Véronique à feuilles de lierre	<i>Veronica hederifolia</i>	40.80
Vipérine	<i>Echium vulgare</i>	27.38

## Annexe 2 : Script utilisé sous R pour la détermination du seuil de marquage par bootstrap

### ❖ Valeurs utilisés et résultat obtenu pour la partie Méthodologie

```
> table=numeric(1000)
> for(i in 1:1000)
+ {
+ table[i]=max(rnorm(12,mean=1.07520331835045,sd=0.00188610788439624))
+ }
> table.sorted=sort(table)
> table.sorted
> c(table.sorted[975])
[1] 1.080648
```

### ❖ Valeurs utilisés et résultat obtenu pour la partie terrain

```
> table=numeric(1000)
> for(i in 1:1000)
+ {
+ table[i]=max(rnorm(12,mean=1.07509578008678,sd=0.002208002))
+ }
> table.sorted=sort(table)
> table.sorted
[1] 1.074462 1.074843 1.075336 1.075651 1.075687 1.075738 1.075790 1.075805
[...]
[969] 1.081418 1.081434 1.081571 1.081577 1.081647 1.081705 1.081734 1.081747
[977] 1.081799 1.081884 1.081926 1.081927 1.081930 1.081995 1.082003 1.082087
[985] 1.082106 1.082108 1.082145 1.082166 1.082331 1.082397 1.082419 1.082509
[993] 1.082513 1.082545 1.082645 1.082660 1.082675 1.082862 1.083131 1.083427
>
> c(table.sorted[975])
[1] 1.081734
```

## Annexe 3 : Résultats de l'analyse isotopique des 9 échantillons de *D. rapae* non marqués réalisée par Jamont *et al.* (2014)

	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ (%)
1	-33,57	1,07431
2	-33,90	1,07395
3	-34,75	1,07302
4	-34,54	1,07324
5	-29,38	1,07892
6	-30,22	1,07800
7	-31,17	1,07695
8	-32,22	1,07580
9	-32,43	1,07557

Annexe 4 : Répartition spatiale de l'infestation sur la parcelle du Fresne

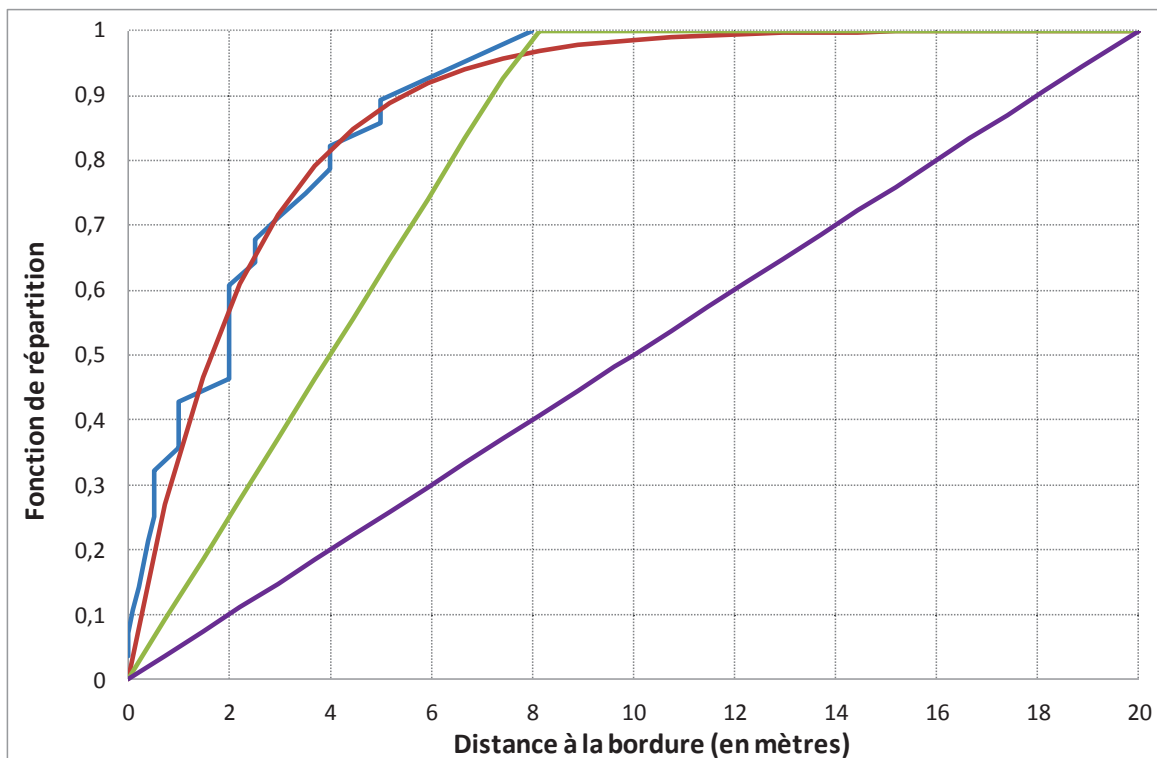


Figure 13 : Répartition du nombre de colonies de *B. brassicae* en fonction de leur distance en mètres par rapport à la bande fleurie sur la parcelle du Fresne (en bleu), et ajustement visuel avec différentes lois de répartition : loi exponentielle ( $\lambda=0,424$ ) en rouge, loi uniforme sur 10 m en vert, loi uniforme sur 20 m en mauve.

## Annexe 5 : Analyses préliminaires pour la méthodologie du marquage par Cotton-wick

### ❖ *Choix des modalités testées et analyses réalisées*

Jamont *et al.* (2014) utilisent une solution à 0,9% de glucose enrichi en  $^{13}\text{C}$  pour marquer des plants de colza (*B. napus*) par Cotton-wick. Des pucerons *B. brassicae* sont nourris sur ces plantes puis parasités par des *D. rapae* adultes. Les *D. rapae* issus de ce parasitisme se retrouvent également marqués. Sur cette base, nous avons choisi d'utiliser une solution à 1% de glucose enrichi en  $^{13}\text{C}$  afin de marquer des bleuets par Cotton-wick puis d'en analyser le nectar afin de savoir si le marquage lui était transmis.

Nous ne savons pas avec quelle efficacité le glucose fourni par Cotton-wick pourra être transmis au nectar. C'est sous forme de saccharose que les sucres sont le plus efficacement véhiculés par les vaisseaux des plantes (Jensen *et al.*, 2013). Le saccharose étant formé d'une molécule de glucose et d'une molécule de fructose, nous avons formulé l'hypothèse que le glucose enrichi en  $^{13}\text{C}$  pourrait être plus efficacement transporté jusque dans les nectaires si nous fournissions en même temps à la plante une quantité égale de fructose, de telle sorte que la plante est à sa disposition le matériel nécessaire pour synthétiser du saccharose et transporter efficacement ces sucres.

Certaines plantes ont la possibilité de réguler le volume et la concentration du nectar qu'elles fournissent en le réabsorbant en cas de besoin (Pacini et Nepi, 2007). Nous avons donc testé une seconde voie d'apport de la solution de marquage en déposant une goutte de solution de glucose enrichi en  $^{13}\text{C}$  sur des gouttes de nectar extra-floral produit par les bleuets afin de voir si ce glucose pouvait être assimilé par réabsorption puis ré-excrété sous forme de nectar.

4 modalités ont donc été testées :

- Témoin (T) : bleuet perfusé avec 2 mL d'une solution à 1% de glucose non marqué
- Modalité 1 (M1) : bleuet perfusé avec 2 mL d'une solution à 1% de glucose enrichi en  $^{13}\text{C}$
- Modalité 2 (M2) : bleuet perfusé avec 2 mL d'une solution à 1% de glucose enrichi en  $^{13}\text{C}$  et 1% de fructose non marqué
- Modalité 3 (M3) : application à la micropipette d'1  $\mu\text{L}$  d'une solution à 1% de  $^{13}\text{C}$ -glucose dans les gouttes de nectar extra-floral de bleuet

Nous ensuite effectué des prélèvements de nectar 48 et 96 heures après la mise en place des Cotton-wick. Après le premier prélèvement (48h), les 2 plantes M1 ont été placées dans une cage en Plexiglas et les 2 plantes M2 dans une autre. Une vingtaine de *D. rapae*, mâles et femelles, ont ensuite été lâchées dans chaque cage. Ils ont été recapturés 48 heures plus tard, au moment du second prélèvement. Les échantillons de nectar et de parasitoïdes ont finalement été analysés. Les résultats sont présentés dans le Tableau 5.

Tableau 5 : Résultats des analyses isotopiques relatives aux essais de méthodes de marquage

Nature de l'échantillon	Répétition	Modalité	Prélèvement	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ (%)		
Feuilles de trèfle + Nectar	1	Témoins	1 (48h après marquage)	-32,37	1,07563		
	2			-33,04	1,07489		
	1	M1		-25,18	1,08354		
	2			-26,23	1,08238		
	3			-7,72	1,10273		
	4			-28,71	1,07965		
	1	M2		-7,17	1,10333		
	2			-7,23	1,10327		
	1	M3		127,6	1,25123		
	1	Témoins		2 (96h après marquage)	-32,12	1,0759	
	2				-31,55	1,07654	
	1	M1			-28,63	1,07974	
	2		-3,6		1,10726		
	1	M2	67,96		1,18584		
	2		-13,78		1,09607		
	1	M3	5,96		1,11777		
	<i>Diaeretiella rapae</i>	<i>D. rapae</i> non marqués			-33,89	1,07396	
		<i>D. rapae</i> en présence de M1			-24,7	1,08407	
-24,27					1,08454		
<i>D. rapae</i> en présence de M2			-24,39		1,0844		

Nous avons calculé le seuil de marquage à partir des valeurs de nos échantillons témoins (Tableau 5), auxquelles nous avons ajouté les valeurs de 9 échantillons de *D. rapae* non marqués obtenues après analyses identiques au sein du même laboratoire (Platin') et dans les mêmes conditions lors d'une précédente étude (Jamont *et al.*, 2014) (Annexe 3). La valeur du seuil retenue est de 1,080648 % ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ).

Toutes les valeurs de  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  des échantillons (autres que les témoins non marqués) sont supérieures à la valeur seuil, sauf un échantillon M1 à 48h et un échantillon M1 à 96h (Tableau 5).

## ❖ Conclusions

### • Marquage du nectar

Nous avons retrouvé une trace d'enrichissement au  $^{13}\text{C}$  pour les 3 modalités testées. La méthode de marquage M3 (application de la solution de marquage à la micropipette directement dans les gouttes de nectar) a directement été écartée du fait des valeurs extrêmement élevées obtenues. En effet, ces valeurs ne peuvent pas correspondre à un enrichissement du nectar par réabsorption puis ré-excrétion. La solution de marquage appliquée a probablement été directement prélevée lors de l'échantillonnage, ce qui explique une telle proportion de  $^{13}\text{C}$  dans les échantillons.

Cette contamination des échantillons n'a pas pu avoir lieu dans le cas de modalité M1 et M2 utilisant la technique de Cotton-wick. Le  $^{13}\text{C}$  prélevé par les plantes a donc bien été assimilé et transmis jusqu'au nectar. Dans les deux cas, le marquage est détectable à partir de 48 heures après la mise en place des dispositifs de Cotton-wick. Le faible nombre de répétition ne nous a pas permis de mettre en évidence une évolution de la puissance de marquage après la mise en place, mais il reste détectable 96 heures après. Par contre, dans la majorité des cas, la puissance de marquage semble être plus élevée pour la modalité M2 (solution de glucose et fructose).

- **Marquage des parasitoïdes *D. rapae***

Les trois échantillons de *D. rapae* analysés sont marqués au  $^{13}\text{C}$ . Ces parasitoïdes se nourrissent donc effectivement du nectar de bleuets et acquièrent l'isotope. Le marquage de ces plantes par la méthode de Cotton-wick est donc transmissible à des parasitoïdes tels que *Diaeretiella rapae* se nourrissant de ce nectar.

- **Décisions pour la suite de l'étude**

Ces résultats prouvent l'efficacité de la technique de marquage du nectar de bleuets *Centaurea cyanus* par la méthode de Cotton-wick à l'aide d'une solution de glucose enrichi en  $^{13}\text{C}$ , ainsi que la détectabilité de ce marquage chez des parasitoïdes *D. rapae* ayant consommé ce nectar. Cette méthode représente ainsi une innovation pour l'utilisation du marquage isotopique dans le cadre de l'étude de l'exploitation du nectar par les insectes, mobilisables dans un contexte agricole ou naturel, pour suivre la consommation de nectar par des pollinisateurs, des auxiliaires ou des phytophages.

Les valeurs obtenues par la modalité M2 étant les plus intéressantes, nous avons choisi d'utiliser pour la suite de l'étude une solution de marquage composée de glucose enrichi en  $^{13}\text{C}$  et de fructose non marqué à concentrations égales.

Lors de notre expérimentation sur le terrain, les parasitoïdes devraient passer moins de temps à se nourrir sur les bleuets, étant donné qu'ils ne seront pas enfermés ensemble dans une cage et que d'autres plantes non marquées seront également à leur disposition. Il est donc fort probable que, si un parasitoïde se nourrit de nectar enrichi en  $^{13}\text{C}$  sur le terrain, la puissance du signal de marquage qui pourra être détecté sera beaucoup plus faible. Afin de contrebalancer en partie cet effet, nous avons choisi pour la suite de l'étude d'augmenter la concentration en glucose enrichi en  $^{13}\text{C}$  de la solution de marquage. Nous utiliserons donc pour les Cotton-wick une solution à 1,5% de glucose enrichi en  $^{13}\text{C}$  et 1,5% de fructose non marqué.



Annexe 6 : Comparaison des effectifs d'insectes entre bandes fleuries et enherbées

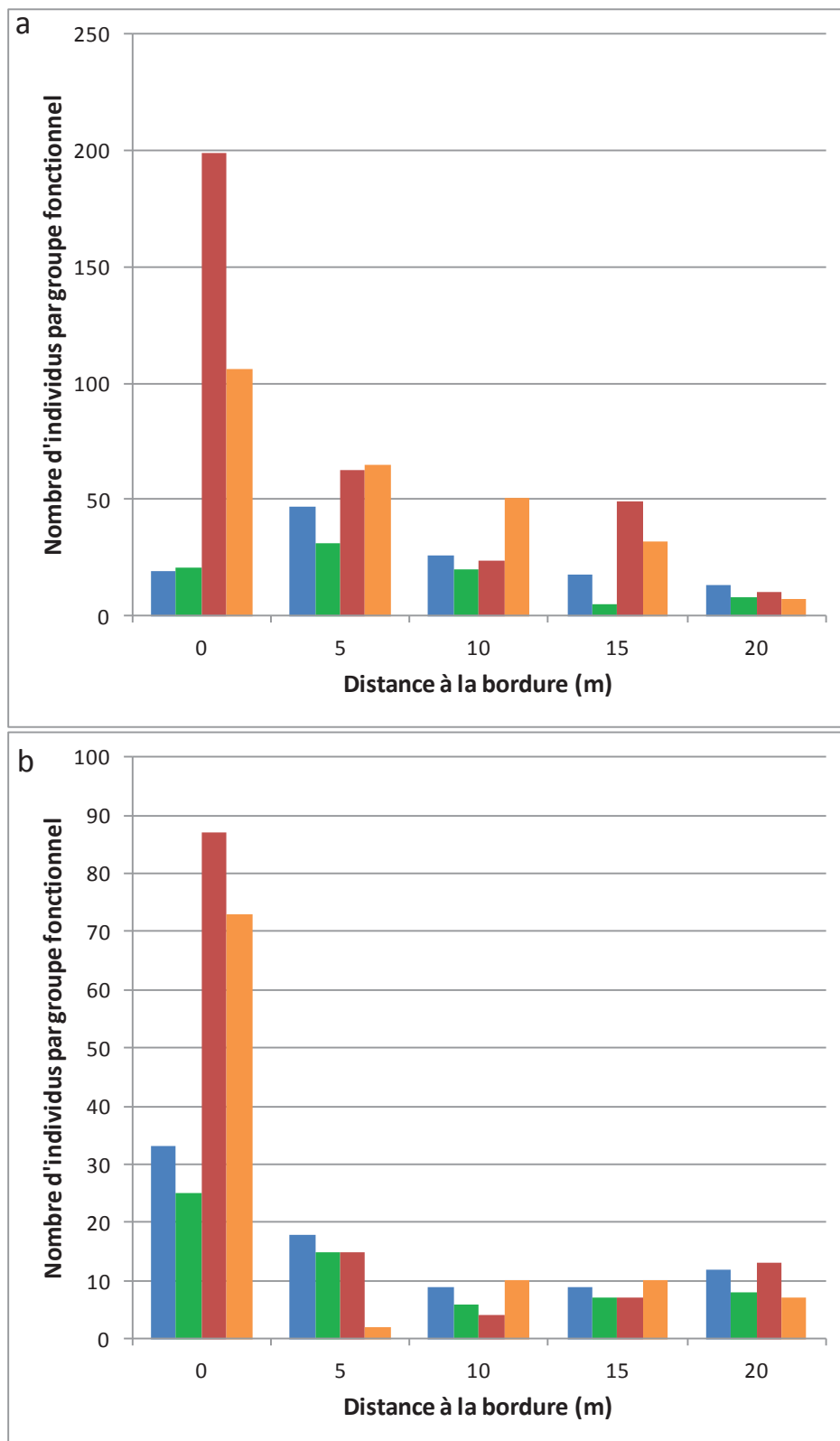


Figure 14 : Nombre d'insectes par groupe fonctionnel en fonction de la distance à la bordure (en mètres) sur la parcelle du Fresne (a) et celle de Bouchemaine (b) le 3 juin. Parasitoïdes dans la bande fleurie (bleu) et dans la bande enherbée (vert), Ravageurs dans la bande fleurie (rouge) et dans la bande enherbée (orange).