



Master 2 Biologie intégrative et changements globaux

Université d'Orléans

Les associations de cultures pour fournir des ressources aux parasitoïdes de pucerons à l'automne et au printemps

Sid Ali LIASSINE

L'Institut Agro Rennes-Angers, Institut de Génétique, Environnement et Protection des Plantes,
2 Rue André le Notre, 49000 Angers

Encadré par Bruno JALOUX et Ainara PEÑALVER CRUZ

Résumé Les Aphidiinae sont des parasitoïdes généralistes de pucerons qui à l'état larvaire se nourrissent des tissus de leurs hôtes pour leurs croissances et consomment du nectar extrafloral et du miellat de pucerons une fois adulte leur procurant l'énergie nécessaire à leurs survies et pouvant avoir un caractère limitant sur le contrôle biologique des pucerons par les parasitoïdes. L'hypothèse de l'approvisionnement en nectar prédit que les ressources en sucres sont limitantes dans les monocultures et qu'une diversification des milieux agricoles permettrait d'apporter des ressources alimentaires et amènerait une meilleure régulation des ravageurs par les parasitoïdes. La culture associant une plante productrice de nectar extrafloral à une culture de rente qui en est dépourvue peut permettre d'apporter ces ressources. En se basant sur une technique d'inférence alimentaire des profils biochimiques des parasitoïdes nous avons tentés d'évaluer le caractère limitant de ces ressources dans des monocultures de blé et dans des cultures associées avec des légumineuses au printemps et à l'automne. Les analyses biochimiques ont révélé que dans les cultures diversifiées les parasitoïdes bénéficient de la présence d'une espèce hôte alternative de puceron mais que la consommation de nectar extrafloral n'est pas plus importante, soulignant la consommation importante de miellat par les parasitoïdes.

Mots clés : *Acyrtosiphon pisum*, *Aphidius ervi*, hôte alternatif, nectar extrafloral, *Sitobion avenae*.

Abstract The Aphidiinae are generalist parasitoids of aphids that feeds on the tissues of their living hosts during their larval development stage and consume sugar rich-food such as extrafloral nectar and honeydew during their free-living adult stage which provides them with energy-needed for their survival and which can have a limiting effect on the biological control of aphids by parasitoids. The nectar provision hypothesis predicts that sugar resources are limited within monocultures and that a diversification of agricultural environments could provide nectar resources and enhances pest regulation by parasitoids. this resource can be provided by intercropping an agronomic producing plant that does not produce extrafloral nectar with a plant that does. We used an inferential approach based on biochemical profiles of individual adult parasitoids to evaluate the possible limiting resources in wheat monocultures and wheat crops associated with legumes. Biochemical analyzes revealed that in intercrops the parasitoids benefit from the presence of an alternative aphid host specie but the consumption of extrafloral nectar did not increase, which could indicate that honeydew may be the main sugar sources for parasitoids.

Key words: *Acyrtosiphon pisum*, alternative host, *Aphidius ervi*, extrafloral nectar, *Sitobion avenae*.

Introduction

Les hyménoptères parasitoïdes appartiennent aux familles des Braconidae (sous-famille Aphidiinae) et Aphelinidae. Les Aphidiinae représentent une sous-famille qui ne parasite que les pucerons (Singh, 2016). Ce sont des endoparasitoïdes solitaires, c'est-à-dire qu'un seul individu achève son développement à l'intérieur de l'hôte. La plupart des Aphidiinae sont oligophages parasitant plus d'une espèce hôte (Starý, 1970). Les parasitoïdes de pucerons sont également des koinobiontes, car la larve du parasitoïde se développe dans un hôte vivant qui continue de se nourrir et à se développer (Singh, 2016). En effet, les femelles Aphidiinae pondent leurs œufs à l'intérieur de pucerons en se servant de leurs ovipositeurs, la larve se développe à l'intérieur de son hôte et se nourri de ce dernier afin d'y puiser ce dont elle a besoin en termes de nutriments nécessaires à sa croissance, le puceron commence par gonfler et sa cuticule durcie ce qui lui donne une couleur bronzée caractéristique du puceron en état de « momie ». Une fois la nymphose et la métamorphose effectuées, la femelle adulte sort de la momie émergeant complètement développée et prête à s'accoupler ou à localiser un hôte (voir Annexe A). La plupart de micro-hyménoptères parasitoïdes sont omnivores d'histoire de vie, après leurs métamorphoses ils passent d'insectes carnivores à l'état larvaire vers insectes herbivores (ou bien nectarivores) au stade adulte (Wäckers & van Rijn 2005). Le régime

alimentaire entièrement carnivore des larves des parasitoïdes va leur permettre de stocker des macronutriments sous la forme de « réserves » dans leurs organismes, plus précisément au sein du corps gras (Chapman, 1998). Certains de ces macronutriments sont non-renouvelables par les parasitoïdes car ils vont les acquérir uniquement pendant leur stade de développement larvaire en se nourrissant des tissus de leurs hôtes tel que certains acides aminés dits essentiels et les lipides notamment en raison de leurs incapacités à faire la lipogenèse (Giron & Casas, 2003 ; Rivero & Casas, 1999). Le contenu nutritionnel de l'hôte sera influencé par son espèce et par la plante sur laquelle il se développe (Sequeira & Macauer 1993). Un plus gros hôte va permettre au parasitoïde d'avoir une quantité de réserves plus importante et donc de ce fait une plus grande masse corporelle (Sequeira & Mackauer 1993). Il a aussi été démontré que la température de développement a pour effet de faire varier la quantité de ces réserves (IŞITAN et al., 2011 ; Colinet et al., 2012). Les parasitoïdes rentrant en diapause ont tendance à accumuler des taux élevés de polyols cryoprotecteurs, en particulier le sorbitol, des protéines impliquées dans le métabolisme des lipides et diverses enzymes métaboliques (Colinet et al., 2012).

Pour les parasitoïdes qui ne se nourrissent pas sur leurs hôtes à l'état adulte tel que les Aphidiinae, les sucres produits par les plantes contenus dans le nectar floral et extrafloral ainsi que par le miellat de puceron sont leurs seules sources d'alimentation, ces ressources sucrées vont leur permettre d'assurer leurs fonctions métaboliques de base et leurs dispersions au sein de l'environnement afin de pouvoir s'accoupler et rechercher des hôtes à parasiter (Wäckers & van Rijn 2005). Il a été démontré que l'approvisionnement en sucre peut augmenter la durée de vie des parasitoïdes (Lee et al., 2004). Les glucides semblent être le seul nutriment utilisé pour le vol par les hyménoptères et cette classe de nutriments est rapidement épuisée si les adultes sont affamés (Chapman, 1998). Pour les espèces synovigéniques qui ont la capacité de murer des ovocytes tout au long de leur vie adulte l'alimentation en nectar permet d'augmenter la durée de ponte (Jamont et al., 2013). Le nectar est meilleur en termes de qualité nutritionnelle que le miellat et permet une longévité plus élevée pour les parasitoïdes. Cela a été expliqué par le fait que le miellat contient des sucres de valeur nutritionnelle moindre comparé au nectar (Lee et al., 2004).

La capacité des parasitoïdes adultes à consommer les différentes ressources sucrées varie selon son accessibilité. Cette accessibilité à la ressource va dépendre de la morphologie de leurs pièces buccales et de la forme de la corolle pour le nectar floral, or la majorité des parasitoïdes ont de courtes pièces buccales qui ne leur permettent pas d'aller chercher du nectar

sur les fleurs (Wäckers & van Rijn 2005). La disponibilité du nectar floral dépend de certains facteurs tels que les saisons et d'autres facteurs environnementaux qui vont affecter la phénologie de la plante et donc sa période de floraison (Wäckers & van Rijn 2005). Cela nécessite une synchronisation entre l'activité des parasitoïdes et la période de floraison. Il existe des structures végétales que l'on peut trouver sur différentes parties de la plante tel que les feuilles, les tiges, les bractées et les fruits qui ont la capacité de produire du nectar extrafloral (Wäckers & van Rijn 2005). Ces structures sont appelées nectaires extrafloraux et elles remplissent la fonction de défense indirecte de la plante en recrutant des prédateurs et des parasitoïdes face à une attaque d'insectes herbivores (Wäckers & van Rijn 2005). Le nectar extrafloral est produit plus tôt et pendant une période plus longue, il est exposé directement sous la forme d'une goutte et a donc un avantage comparé au nectar floral en termes d'accessibilité et de disponibilité temporelle pour les parasitoïdes.

Dans les systèmes agricoles peu diversifiés comme les monocultures intensives, les sources de nourritures sont rares à l'intérieur de la parcelle. Hors de la période de floraison de la culture, le désherbage supprime les adventices qui pourraient représenter une source de nectar. Pour les cultures de céréales qui ne produisent pas de nectar, la seule source est représentée par le miellat des pucerons. Les parasitoïdes vont être contraints de faire des vols allers-retours quotidiens entre l'intérieur des champs et les bordures ou les zones semi-cultivées en périphérie pour se nourrir de miellat et de nectar, ce déplacement par le vol est appelé « commuting » (Powell, 1986), or pour beaucoup d'insectes le vol est l'activité la plus coûteuse en termes d'énergie (Chapman, 1998). « La théorie de l'approvisionnement en nectar » repose sur le fait que les ressources en sucres sont limitées au sein des cultures intensives comme les monocultures et que le fait de les implémenter dans ces environnements via une diversification du milieu permettrait une meilleure régulation des ravageurs par les ennemis naturels (Heimpel et Jervis, 2005). Concevoir des systèmes agricoles diversifiés peut donc être une stratégie intéressante afin de pallier à ce problème. La culture associée est une pratique agricole qui consiste à cultiver différentes plantes au sein d'un même espace agricole (Boudreau, 2013). Les cultures de blé (*Triticum aestivum* L.) sont souvent sujettes aux attaques d'insectes ravageurs parmi lesquels les pucerons tiennent une place importante causant de sérieux dégâts économiques (Dedryver et al., 2010). Les associations céréales-légumineuses en Europe sont communément utilisés dans les systèmes biologiques procurant d'importants avantages agronomiques (Boudreau, 2013). Les légumineuses comme la féverole (*Vicia faba*) et la vesce (*Vicia sativa*) qui produisent du nectar extrafloral, représente un apport nutritionnel aux

Aphidiinae et l'association blé-légumineuses pourrait amener une meilleure régulation des pucerons du blé (Heimpel et Jervis, 2005). « L'hypothèse de la spécialisation envers les ressources » soutient que l'augmentation de la diversité des espèces végétales fournira une plus grande diversité de ressources et, par conséquent, attirera une plus grande diversité d'insectes herbivores (Hutchinson, 1959). Les légumineuses qui vont être associée à la culture de blé pourrait apporter des hôtes alternatifs pour les Aphidiinae qui grâce à leurs caractère oligophages (Stary, 1970) permettrait de maintenir l'abondance de leurs populations lorsque celle des pucerons ravageurs du blé est faible (Coll, 1998). Les champs cultivés constituent des ressources abondantes mais temporaires pour les parasitoïdes alors que les habitats non cultivés (haies, marge de champs, bandes enherbées...etc.) pourraient proposer des ressources plus diversifiées et plus persistantes dans le temps. Ces habitats peuvent leurs servir de refuge pour l'hivernation (Navasse et al., 2018). Les Aphidiinae ont la capacité d'hiverner au stade larvaire dans leurs hôtes quand ils sont à l'état de momie (Stary, 1970). Le contrôle biologique semble être plus efficace si la présence des parasitoïdes et leurs hôtes coïncident au début du printemps (Powell & Zhi-Li, 1983). Cette synchronisation temporelle va donc dépendre de leur capacité à hiverner près des parcelles, qui dépend de la présence d'hôtes alternatifs et de refuge d'hivernation viable.

Dans cette étude nous avons comparé le profil biochimique de parasitoïdes capturés dans des monocultures de blé pur et des cultures de blé associées à des légumineuses afin d'évaluer la différence qu'il peut y avoir entre ces deux systèmes de culture en termes de disponibilité des ressources pour les parasitoïdes de pucerons. Nous avons aussi voulu savoir s'il existe une différence dans la disponibilité de ces ressources entre le printemps et l'automne. Dans cette étude nous avons émis des hypothèses selon lesquelles (i) les ressources sucrées sont plus limitantes dans les cultures pures que dans les cultures associées, et que la proportion d'individus non nourris sera plus importante en monoculture (ii) les légumineuses associées au blé vont permettre la présence d'une espèce hôte alternative pour les parasitoïdes (iii) Les zones refuges en marge de champs vont permettre aux parasitoïdes de faire leurs hivernation et de rester près des parcelles (iiii) les espèces de légumineuses associées au blé apportent bien des ressources complémentaires aux parasitoïdes à l'automne et au printemps. Pour tester ces hypothèses, nous nous sommes basés sur un protocole proposant différentes méthodes d'inférence des profils biochimiques de parasitoïdes capturés sur le terrain, un protocole mis en place par Luquet et al., (2021a). Cette approche consiste à établir une base de données de référence constituée de profils biochimiques individuels de parasitoïdes associés à une histoire

nutritionnelle de l'individu connue. Ces profils sont obtenus à partir de femelles adultes issues d'élevage en laboratoire, dans des conditions de développement larvaire (de température et d'hôte) connues et soumis à des protocoles de nourrissage contrôlé (miellat, nectar extrafloral et insectes non-nourri). Ces profils sont utilisés pour entraîner un algorithme de classification pour établir des liens entre des variables biochimiques issues de ces profils et l'état nutritionnelle, l'hôte d'origine et la température de développement. Des parasitoïdes d'histoire nutritionnelle inconnue sont capturées dans les parcelles de blé pur et en association, au printemps et à l'automne et leur analyse biochimique permet d'établir leur profil. L'algorithme va ensuite classer chaque individu capturé sur le terrain dans une classe de statut nutritionnel, d'hôte de développement et de température de développement. La proportion d'individus de chaque classe est ajustée grâce à une procédure tenant compte du taux d'erreur de la classification. Cette proportion de femelles de chaque classe est comparée selon les modalités. On a choisi *Aphidius ervi* comme insecte parasitoïde modèle en extrapolons ses profils biochimiques à l'ensemble des Aphidiinae capturés. Cet insecte qu'on élève facilement au laboratoire, a un caractère oligophage en parasitant un certain nombre de pucerons de légumineuses, de solanacées et de céréales (Villegas et al., 2017). Sa possibilité d'exploiter différentes ressources alimentaires étant adulte, le rend particulièrement sensible quant à la disponibilité temporel et spatiale de ces ressources (hôtes et nourriture) dans son environnement immédiat.

Matériels et méthodes

1. Obtention des profils biochimiques de référence

Cinq femelles et deux males d'*Aphidius ervi* provenant de deux lignées ayant émergés dans une période de moins de 24 heures ont été collectés dans des cages d'élevages et placés dans un tube en plastique contenant du papier humide et laissés pendant une période de 24 heures pour l'accouplement. 360 pucerons de chacune des deux espèces *Acyrtosiphon pisum* et *Sitobion avenae* ont été respectivement placés dans deux cages contenant 9 plantes (40 pucerons par plantes) de féveroles (*Vicia faba* L. var. Divine) pour la première espèce de puceron et 9 plantes d'Orge (*Hordeum vulgare* var. Prestige) pour la deuxième espèce de puceron, les parasitoïdes ont ensuite été lâchés dans les deux cages et laissés pendant une période de 24 heures après quoi ils ont été retirés. Les plantes et les pucerons ont été séparés en trois petites cages (trois plantes par cage) pour chacune des deux espèces et placés dans trois

chambres avec différentes températures (4 °C, 7 °C et 19 °C). Afin de reproduire des paramètres biotiques hivernaux les deux chambres à 4°C et 7°C étaient sous des conditions journée courte avec une photopériode de 10:14 (L:D). La température de 4 °C représente le seuil inférieur de développement d'*Aphidius ervi* : 2.2 °C pour le stade œuf-momie et 6.6 °C pour le stade momie-adulte (Sigsgaard, 2000), 7 °C a été choisie car c'est la température moyenne qui prévaut à Angers entre octobre et février et 19 °C représente la température optimale pour le développement d'*Aphidius ervi* (Colinet & Hance, 2010). La durée d'exposition dépend des différentes températures testées : 10 à 18 jours pour les 19 °C, 35 jours pour 7 °C et 30 jours pour 4 °C. Pour les deux derniers traitements après l'apparition des premières momies, l'émergence des parasitoïdes a été rendue possible en les plaçant à une température de 10 °C. Après leurs émergences les parasitoïdes ont été soumis à 5 modalités de nourrissage : non-nourris (témoin), miellat de *S. avenae* (MSa), miellat de *A. pisum* (MAp), nectar extrafloral de vesce *Vicia sativa* (NEFVs), nectar extrafloral de féverole *Vicia faba* (NEFVf) et puis congelés à -20 °C.

2. Analyses biochimiques

Les profils biochimiques de chaque individu ont été obtenus après une extraction par HPLC (Chromatographie en phase liquide à haute performance) pour les glucides solubles et par spectrophotométrie pour les protéines totales, lipides totaux, lipides neutres et glycogène.

2.1 Préparation des échantillons

Les composés biochimiques des parasitoïdes ont été obtenus en suivant un protocole élaboré par Peñalver Cruz (2021, non publié), adapté de Nafziger & Fadamiro (2011), Muller et al., (2017) et Foray et al., (2012). Après avoir mesuré la taille du tibia postérieur droit de chaque femelle parasitoïde nous avons procédé à la lyophilisation des échantillons pendant une période de 24 heures. Nous avons ensuite pesé chaque individu sur une balance microanalytique, suite à quoi des analyses biochimiques servant à déterminer les quantités de glucides, de protéines totales, de lipides totaux et neutres et de glycogène ont été réalisées. La première étape consiste à broyer chaque parasitoïde, pour ce faire, chaque individu a été placé dans un Eppendorf de 2 ml contenant deux billes en acier inoxydable avec 130 µL d'une solution de tampon de lyse [100 mM de dihydrogénophosphate de potassium (KDP), 1 mM de dithiothréitol (DTT), 1 mM d'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA), PH 7.4]. Les échantillons ont été homogénéisés à l'aide d'un homogénéisateur à billes à 25 Hz pendant 1 min, et centrifugé (500 g) à 4 °C pendant 5 min. 15 µL de surnageant ont été prélevés pour déterminer la concentration en protéine totale (voir 2.2). Afin d'analyser les autres composants

biochimiques, ce qui reste du surnageant a été transféré dans un autre tube Eppendorf et 15 µl de la solution de tampon de lyse, 14 µl de solution de sulfate de sodium à 20% et 1080 µl d'une solution de chloroforme/méthanol (2:1) a été ajoutée à chaque tube. Après avoir bien mélangé avec un vortex, chaque échantillon a été centrifugé (200 g) pendant 15 min à 4°C. Le surnageant a ensuite été utilisé pour déterminer les lipides totaux (2.3) et neutres (2.4) et les glucides (2.6). Le culot a été utilisé pour analyser le glycogène (2.5).

2.2 Concentration totale en protéines

Afin de déterminer la teneur en protéines, 15 µL de surnageant de chaque échantillon a été transféré dans une microplaque de 96 puits avec 250 µL de réactif de Bradford. Après le temps nécessaire pour la réaction chimique (15 minutes) les échantillons ont été placés dans un spectrophotomètre et l'absorbance a été lue à 595 nm.

2.3 Les lipides totaux

350 µL de surnageant de chaque échantillon ont été mis dans un tube Eppendorf, après l'évaporation du contenu de chaque tube à l'aide d'un bain à sec chauffant (90°C), 40 µL d'acide sulfurique à 98% ont été ajoutés et les tubes ont été placés dans un bain-marie (90 °C) pendant 2 minutes. Les tubes ont ensuite été refroidis dans de la glace et 960 µL de vanilline ont été ajoutés. Afin que la réaction avec la vanilline se fasse les échantillons ont été placés sur un agitateur (150 rpm) pendant 20 min. 200 µL de la solution ont été ensuite placés dans une microplaque de 96 puits pour mesurer l'absorbance à 525 nm avec un spectrophotomètre.

2.4 Les lipides neutres

500 µL de surnageant ont été transférés dans des tubes Eppendorf après quoi ils ont été complètement évaporés à l'aide d'un bain à sec chauffant (90°C). 1000 µL de chloroforme et 200 mg d'acide silicique sec ont été ajoutés à chaque tube avec l'échantillon séché. Après avoir été vortexés et centrifugés pendant 10 min (180 g ; 4°C), 200 µL de surnageant ont été transféré dans un nouveau tube Eppendorf pour ensuite les laisser s'évaporer complètement à l'aide d'un bain à sec chauffant (90°C). 40 µL d'acide sulfurique à 98% ont été ajoutés et les tubes ont été placés dans un bain-marie (90°C) pendant 2 min. Après avoir refroidis les tubes en les mettant dans de la glace, 960 µL de vanilline ont été ajoutés. Les échantillons ont été laissés sur un agitateur (150 rpm) pendant 20 min et enfin 200 µL de la solution a été placée dans une microplaque de 96 puits pour mesurer l'absorbance à 525 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

2.5 Le glycogène

Le culot isolé lors de la préparation (2.1) a été utilisé pour estimer la teneur en glycogène de chacun des échantillons. Les culots ont été lavés deux fois en ajoutant 400 µL de méthanol à 80%, après avoir vortexé et centrifugé (16000 g) à 4°C pendant 5 min chaque tube, le surnageant a été retiré et 1 ml d'Anthrone a été ajouté au culot restant. Après un vortex, la solution a été incubée à 90 °C pendant 15 min dans un bain-marie et après avoir refroidi chaque tube dans de la glace, l'absorbance a été mesurée à 625 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

2.6 Les glucides solubles

Pour identifier les glucides contenus dans chaque parasitoïde, 250 µL de surnageant ont été transférés dans un tube Eppendorf et placés dans un speed-vac jusqu'à évaporation. 100 µl d'eau pure ont ensuite été ajoutés et les échantillons ont été placés dans un congélateur à -20°C afin de procéder ensuite à une analyse HPLC. 80 µL de chaque échantillon ont été placés dans un système DIONEX ICS 3000 équipé d'une colonne CarboPac PA1 pour l'analyse HPLC. La colonne a été éluée avec 100 mM de NAOH et maintenue à 20 °C. Tous les dix échantillons une solution étalon a été utilisée. La teneur en sucre de chaque échantillon a été analysée à l'aide du système d'analyse des données de chromatographie Chromeleon™. Les standards utilisés pour ces analyses étaient le glucose (2,5 mg/l), le fructose (2,5 mg/l), le tréhalose (10 mg/l), le sorbitol (20 mg/l) et le sucrose (5 mg/l).

3. Capture des parasitoïdes dans les parcelles

A l'automne les associations de cultures ont été réalisées sur deux années consécutives (2020 et 2021) en bande sur des parcelles agricoles de blé appartenant à des agriculteurs situés dans les six communes suivantes : Allouis, Logron, Bouges-le-Château, Liniez, Triguères et Chuelles en région Centre Val de Loire. En 2021 sur chaque parcelles 4 bandes adjacentes de 20 m de large sur 60 m de long sont implantées constituées de blé pur (*Triticum aestivum* L.) associées à la vesce (*Vicia sativa*), la féverolle (*Vicia faba*) et le pois (*Pisum sativum* L.). La position de chaque bande est aléatoire. En 2020 uniquement deux modalités ont été étudiées (blé pur et blé-féverolle). Certaines implantations n'ont pas abouti, à cause de problèmes de levée ou d'attaque de limaces ou de pigeon. Au total 18 bandes pour chacune des modalités de blé seul et de blé associé à la féverolle, 6 bandes pour la modalité blé associé au pois et 5 bandes pour la modalité de blé associé à la vesce. L'échantillonnage a été fait au cours de deux aspirations, une première entre le 5 /11/2021 et le 10/11/2021 et une deuxième entre le 15/11/2021 et le 23/11/2021 pour l'automne avec un aspirateur souffleur thermique (modèle STIHL BG 56). Au printemps l'étude a été faite sur une seule parcelle de blé appartenant au Lycée Agricole le Fresne situé à Sainte-Gemmes-sur-Loire 49130. 20 microparcelles de 15 mètres de large et de

20 mètres de longueur séparées de 15 m ont été semées selon 5 modalités répétées 4 fois et affectées aléatoirement aux microparcelles définies. Ces modalités étaient constituées d'un témoin blé en culture pure et de 4 différents arrangements spatiaux d'association blé-féverole (voir Annexe B). La modalité « Blé seul » témoin a été constituée de 36 rangs de blé. La modalité « Féverole centre » correspond à une bande de féverole de 20 rangs au centre de la microparcelle bordée par 8 rangs de blé de chaque côté. La modalité « Blé centre » comporte une bande centrale de blé constituée de 12 rangs bordée de chaque côté par 12 rangs de féverole. La modalité « Bandes alternées » est constituée de 4 bandes de féverole et 5 bandes de blé alternées comportant 4 rangs chacune. La modalité « Rangs alternés » correspond à 18 rangs alternés de blé et de féverole (voir Annexe B). La capture des insectes a été faite par aspiration le long de chaque bande. Pour maximiser le nombre de parasitoïdes capturés l'aspiration a été réalisée tout au long de chaque plante en commençant par le bas tout en remontant vers le haut. Une première aspiration a été faite le 29/03/2021 et le 28/05/2021 et une deuxième aspiration pendant différents jours entre le 08/06/2021 et le 28/06/2021.

A l'automne comme au printemps une fois l'échantillonnage terminé les sacs d'aspirations ont été retirés et conservés dans une glacière pour être mis au congélateur une fois arrivé au laboratoire à une température de -20°C afin d'éviter d'altérer la composition biochimique des parasitoïdes. A l'aide d'une loupe binoculaire et en se servant d'une boîte de pétri qui contient de la glace pour éviter la décongélation, les micro-hyménoptères capturés ont été identifiés jusqu'au genre *Aphidius* (automne) et jusqu'à l'espèce (printemps) en se servant de différentes clés d'identifications (Ghaliow et al., 2018 ; Rakhshani et al., 2019 ; Hullé et al., 2018). Une fois l'identification terminée, les femelles ont été conservées au congélateur avant d'être utilisées pour les mêmes analyses biochimiques que celles décrites pour les profils de références.

4. Classification et prédiction

Pour faire la prédiction de l'hôte d'origine et de la température de développement nous avons utilisés quatre variables biochimiques en rapportant la quantité de chacune d'elle à la masse corporelle de chaque femelle parasitoïde analysée : les protéines, les lipides totaux et neutres ainsi que le glycogène. Nous avons aussi utilisé les ratios suivants : lipides neutres / lipides totaux ; le ratio lipides neutres / (lipides neutres + poids de l'insecte) ; protéines / glycogène. Nous avons également utilisé la masse corporelle individuelle comme variable prédictive. Toutes les concentrations en sucres obtenues grâce à l'analyse HPLC (glucose,

fructose, tréhalose, sorbitol, sucrose) ont été utilisées afin de prédire l'histoire alimentaire de chacun des parasitoïdes de terrain. Nous avons aussi utilisé le ratio glucose / (glucose + fructose) ainsi que la concentration en sucres totaux qui sont deux indicateurs classiquement utilisés pour l'inférence de l'alimentation des insectes (Hogervorst et al., 2007). Afin de choisir la méthode de classification la plus performante nous nous sommes basés sur la carte thermique conçue par Luquet et al. (2021a), (voir Annexe C) : à partir de notre indice de bruit de 0.97 et du nombre de nos données d'entraînements (314) utilisées pour faire la prédiction de l'hôte d'origine et de la température de développement nous avons choisis l'algorithme de classification « Gaussian Mixture Model » (Fraley & Raftery, 2007), couplée à une méthode d'ajustement de l'estimation des fréquences « Adjusted Counting » (Forman, 2008). Pour l'analyse du statut alimentaire nous avons un indice de bruit de 0.84 et selon la taille de nos données d'entraînements (198) nous avons choisis l'algorithme de classification de type machine learning « Random Forest » (Breiman, 2001) couplé à la méthode de correction « Adjusted Counting » (Forman, 2008). Le nombre de parasitoïdes de terrain pris en compte pour l'analyse était respectivement de 42 et 95 individus pour la prédiction de l'hôte d'origine à l'automne et au printemps et respectivement de 28 et 80 individus pour l'étude de l'origine alimentaire à l'automne et au printemps. 95 individus ont été utilisés pour la prédiction de l'hivernation. En raison d'une panne d'HPLC certains échantillons ont été perdus. Chacun des algorithmes de classification a été entraîné et utilisé sur le logiciel R Studio version 4.1.2 avec l'aide du package *mclust* pour l'algorithme « Gaussian Mixture Model » et à l'aide du package *random forest* pour l'algorithme « Random Forest », les graphiques de proportions ont été obtenus à l'aide du package *ggplot2*.

5. Analyses statistiques

Afin de comparer les mesures de la taille du tibia postérieur droit, la masse corporelle et les quantités des différentes réserves biochimiques moyennes (lipides, glycogène et protéines) entre les parasitoïdes femelle issue d'*Acyrtosiphon pisum* et celles issue de *Sitobion avenae* selon les températures nous avons effectué un test paramétrique. Afin de vérifier la normalité de chaque variable étudiée nous avons fait un test de Shapiro-Wilk ainsi qu'un diagramme Quantile-Quantile en utilisant la fonction *qqPlot* contenue dans le package *car*. Afin de vérifier l'homogénéité des variances nous avons effectués le test de Levene contenu dans le même package. Une transformation logarithmique a été appliquée sur les variables qui ne suivaient pas une loi normale. Une fois que la normalité des variables et l'homogénéité des variances validées une analyse ANOVA à deux facteurs a été réalisée avec la température comme premier

facteur et l'hôte d'origine comme deuxième facteur. Un test *post-hoc* de Tukey–Kramer HSD a été utilisé pour déterminer des groupes homogènes par des comparaisons multiples. Les concentrations moyennes des différents sucres (masse de chaque sucre rapporté au le poids du corps de l'insecte) selon les différentes modalités d'alimentation contrôlée ont été comparées en utilisant un modèle linéaire généralisé (GLM) avec une structure d'erreur Gamma. Un modèle linéaire généralisé mixte (GLMM) avec une structure d'erreur Poisson a été utilisé pour comparer l'abondance de pucerons entre les modalités en utilisant le package *lme4*. Afin de comparer les différentes ressources (hôte d'origine et alimentation) et les températures de développement des parasitoïdes selon les cinq modalités d'arrangement spatial au printemps un test du Khi-deux de répartition a été appliqué. Du fait du petit nombre d'échantillons obtenus à l'automne (moins de 5 individus dans certaines bandes) un test de comparaison multiple de Fischer a été appliqué pour comparer les différentes ressources (hôte d'origine et alimentation) entre les bandes.

Résultats

1. Variabilité des paramètres biochimiques selon la température, l'hôte de développement et l'alimentation.

Nous avons comparé les concentrations moyennes de substances de réserves des femelles *Aphidius ervi* selon la température de développement et l'hôte d'origine (*A. pisum* et *S. avenae*), (Figure 1). Les concentrations en lipides totaux et en lipides neutres étaient significativement plus élevées à 19°C quel que soit l'hôte d'origine (respectivement $P < 0.001$, $P < 0.0001$ pour *A. pisum* et $P < 0.0001$, $P < 0.0001$ pour *S. avenae*, Figure 1A et 1B). Aucune différence significative n'a été observée en termes de concentrations moyennes de protéines entre les trois températures pour les parasitoïdes émergents de *A. pisum* ($P = 0.06$), notons tout de même que la p-value est proche du seuil de significativité, tandis que pour les parasitoïdes émergents de *S. avenae* la concentration moyenne de protéines étaient significativement plus élevée à 4 °C comparé à 19 °C ($P < 0.0001$, Figure 1C). Le même effet a été observé pour le poids moyens ($P < 0.0001$, voir Annexe D) et la taille moyenne du tibia postérieur droit ($P < 0.001$, voir Annexe E), Aucune différence significative n'a été observée pour les concentrations moyennes de glycogène entre les trois températures quel que soit l'hôte d'origine (Figure 1D). A 19°C les femelles émergents de *S. avenae* avaient une concentration moyenne plus élevée en lipides totaux, lipides neutres et en glycogène que celles émergeant de *A. pisum* (respectivement $P < 0.0001$, $P < 0.0001$, $P < 0.001$, Figure 1).

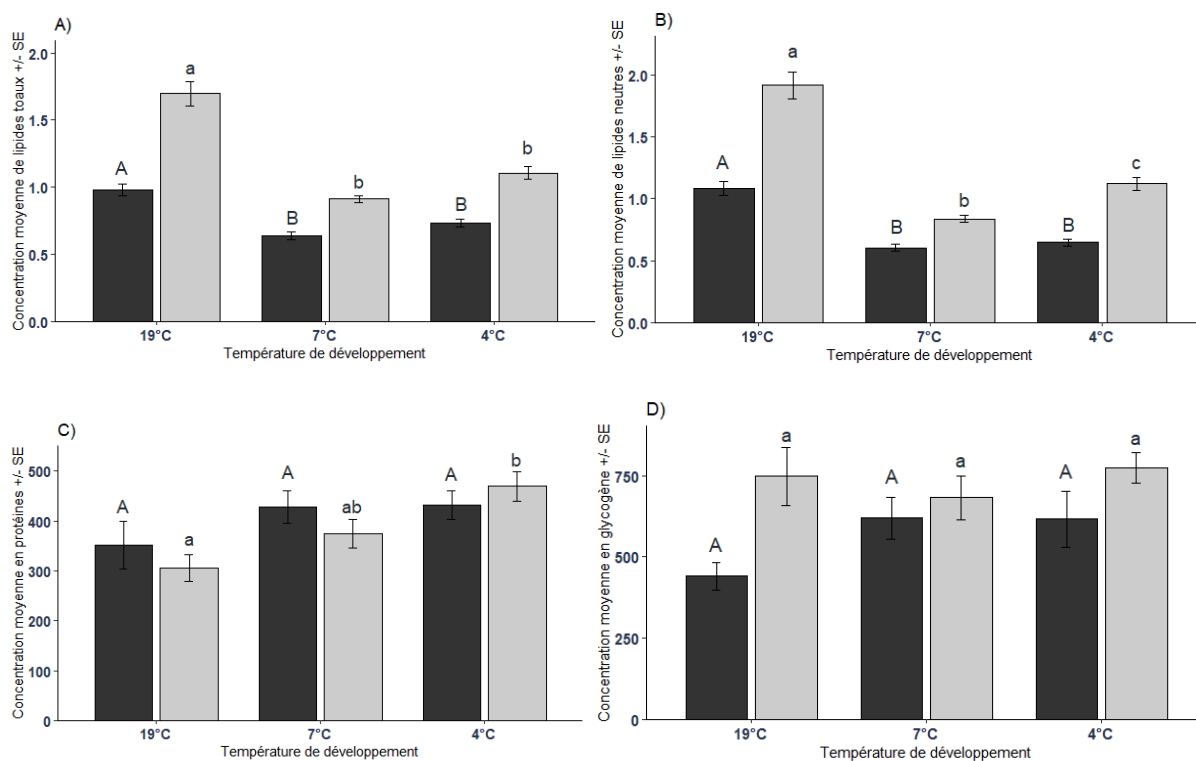


Figure 1. Concentrations moyennes (masse (μg)/poids de l'insecte (Mg) \pm SE) de lipides neutres (A), lipides totaux (B), protéines (C) et de glycogène (D) des femelles *Aphidius ervi* sous l'effet de différentes températures de développement et de l'espèce de puceron hôte d'origine. Barres en noir : *A. pisum* / Barres en gris : *S. avenae*. Les moyennes ayant des lettres différentes sont significativement différentes (Tukey–Kramer HSD, $P < 0.05$). (*A. pisum* : lettres en majuscule / *S. avenae* : lettres en minuscule)

Les sucres présents chez les femelles *Aphidius ervi* nourris étaient le fructose, le glucose, le sucrose et le tréhalose. Le sorbitol était présent avec une proportion très faible uniquement chez certains parasitoïdes nourris avec du miellat de *Sitobion avenae* (Figure 2). Le glucose, le fructose et le sucrose étaient les seuls sucres présents chez les parasitoïdes non-nourris avec une concentration moyenne de sucrose également très faible. Nous avons observé une différence significative des concentrations relatives moyennes des sucres selon la source d'alimentation des parasitoïdes (GLM, $\chi^2 = 257.97$, $df = 16$, $P < 0.001$). Une grande proportion de glucose a été observée chez les parasitoïdes nourris de nectar extrafloral de *Vicia faba*, celle du sucrose était plus élevée chez les parasitoïdes nourris au nectar extrafloral de *Vicia sativa*, tandis que celle du tréhalose était plus élevée chez les parasitoïdes nourris au miellat de *Sitobion avenae* et *Acyrtosiphon pisum* (Figure 2). En comparant les concentrations du ratio glucose/fructose avec la concentration de fructose et de sucres totaux des femelles *Aphidius ervi* de référence, on a observé une nette séparation entre les individus nourris et les non-nourris (voir Annexe F). Un léger chevauchement est observé entre les femelles nourries au miellat et les femelles non-nourries (voir Annexe F).

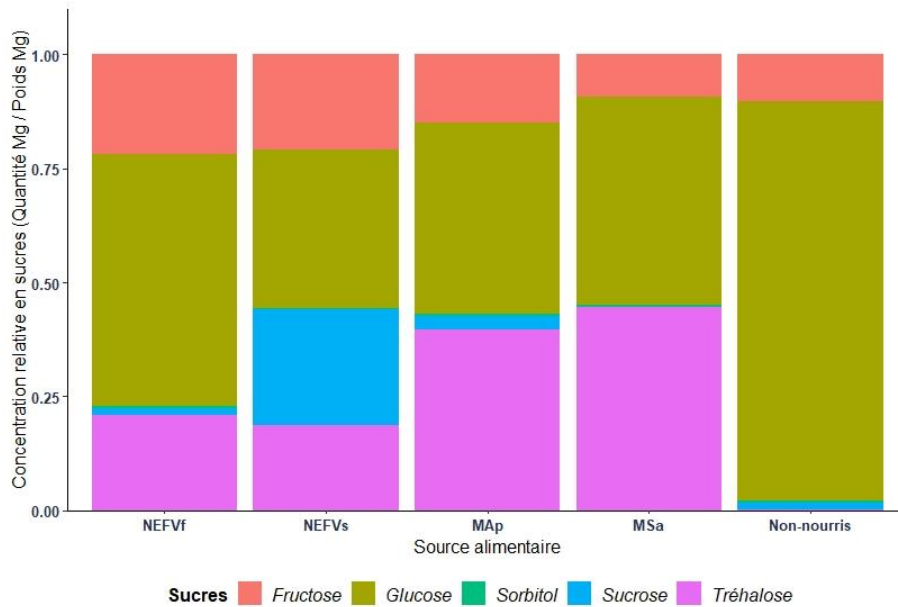


Figure 2. Concentrations relatives moyennes des sucres contenues dans les femelles *Aphidius ervi* selon le régime d'alimentation au laboratoire. NEFVf = Nectar extrafloral de *Vicia faba*, NEFVs = Nectar extrafloral de *Vicia sativa*, MAp = miellat de *Acyrtosiphon pisum*, MSa = miellat de *Sitobion avenae*.

2. Prédiction de l'hôte d'origine, de la température de développement et de l'histoire nutritionnelle des parasitoïdes femelles capturées sur le terrain

2.1 Hôtes alternatifs

Selon les résultats de la classification, des parasitoïdes classés comme issus des deux hôtes sont retrouvés dans toutes les bandes exceptées dans le blé associé à la vesce à l'automne, mais avec un très faible effectif, et ce même dans les modalités témoin où seul l'hôte *Sitobion avenae* est disponible à l'automne (Figure 3). Les 4 femelles parasitoïdes capturées dans la bande de blé associée à la vesce ont pour hôte d'origine *Sitobion avenae*. Dans les trois autres bandes, on retrouve des parasitoïdes émergeant des deux espèces de pucerons citées plus haut avec des proportions différentes selon la bande, avec 5 *Acyrtosiphon pisum* (44%) et 7 *Sitobion avenae* (56%) dans la bande de blé en monoculture, 6 *Acyrtosiphon pisum* (43%) et 9 *Sitobion avenae* (57%) au sein de la bande de blé associée à la féverole et enfin 8 *Acyrtosiphon pisum* (74%) et 3 *Sitobion avenae* (26%) dans la bande de blé associée au pois (Figure 3). Aucune différence significative dans les proportions des espèces de puceron hôtes d'origine n'a pu être observée entre les quatre bandes ($P = 0.08$), certainement à cause des très faibles effectifs capturés (Figure 3). Des comparaisons d'abondances moyennes de pucerons à l'automne 2020 ont montré qu'*Acyrtosiphon pisum* était significativement plus abondant au niveau de la modalité blé-féverole (GLMM, $P < 0.001$, voir Annexe G). Dans l'expérience sur l'arrangement spatial de l'association au printemps, sur un total de 95 femelles *Aphidius ervi* capturées, la

proportion de chacun des hôtes ne varie pas selon les modalités d'arrangement spatial ($\chi^2=2.4272$, $df = 4$, $P= 0.65$) et oscille entre 49 et 70% de parasitoïdes issue de *Acyrtosiphon pisum* (Figure 3).

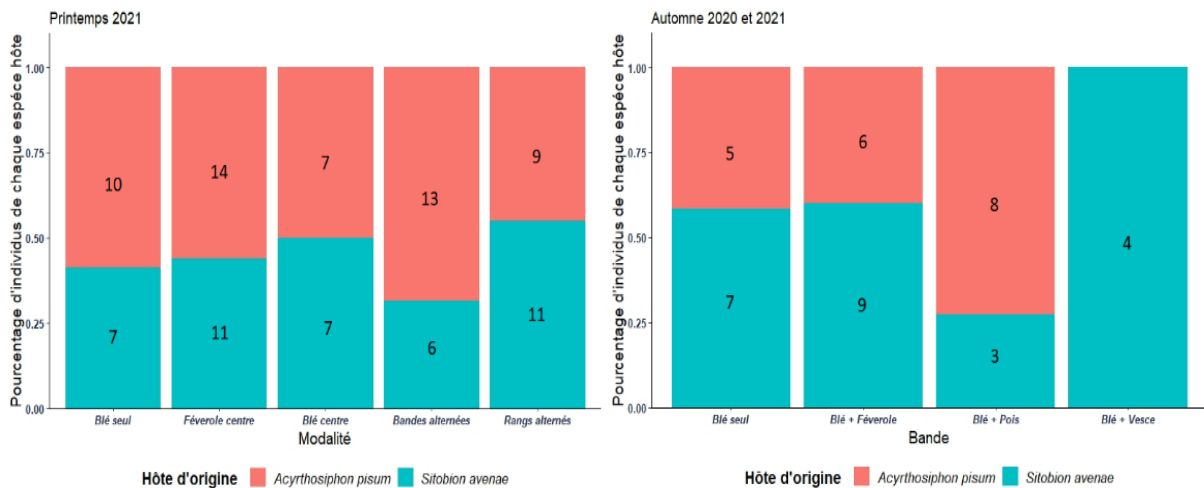


Figure 3. Estimation de la fréquence relative des espèces de pucerons hôtes d'origine des femelles *Aphidius* spp. dans les cultures de blé pur et les cultures de blés associées avec des légumineuses à l'automne (figure à droite) et la féverole suivant différents arrangements spatiaux au printemps (figure à gauche). Les chiffres indiquent le nombre d'individus de chaque classe d'espèce hôte d'origine. Ces résultats ont été obtenus par une classification avec la méthode *Gaussian Mixture Model* suivie d'une estimation de la prévalence avec *Adjusted Counting*.

2.2 Température de développement

Les femelles *Aphidius ervi* étaient plus abondantes durant la phase d'échantillonnage tardive faite lors de la deuxième aspiration (Figure 4). Une différence significative des proportions relatives des individus s'étant développés aux 3 classes de température a été observée selon la période d'aspiration ($\chi^2=9.3434$, $df = 2$, $P = 0.009$, Figure 4). La classification et la prédiction faite par le modèle utilisé montre que les trois températures de développement 4 °C, 7 °C et 19 °C étaient présentes parmi les femelles *Aphidius ervi* capturées au printemps. En effet, nous avons observé un total de 38 femelles qui sont classées comme s'étant développées à 19 °C (les deux aspirations confondues) ce qui représente une proportion importante des parasitoïdes échantillonnés. La proportion de femelles *Aphidius ervi* ayant effectué leur développement à 4 °C était plus élevée chez les parasitoïdes capturés lors de la première aspiration (45%) comparée à la deuxième aspiration (11%), tandis que la proportion des individus ayant fait leurs cycles de vie à 19 °C étaient plus élevée chez les parasitoïdes capturés lors de la deuxième aspiration (47%) comparée à la première aspiration (31%) (Figure 4).

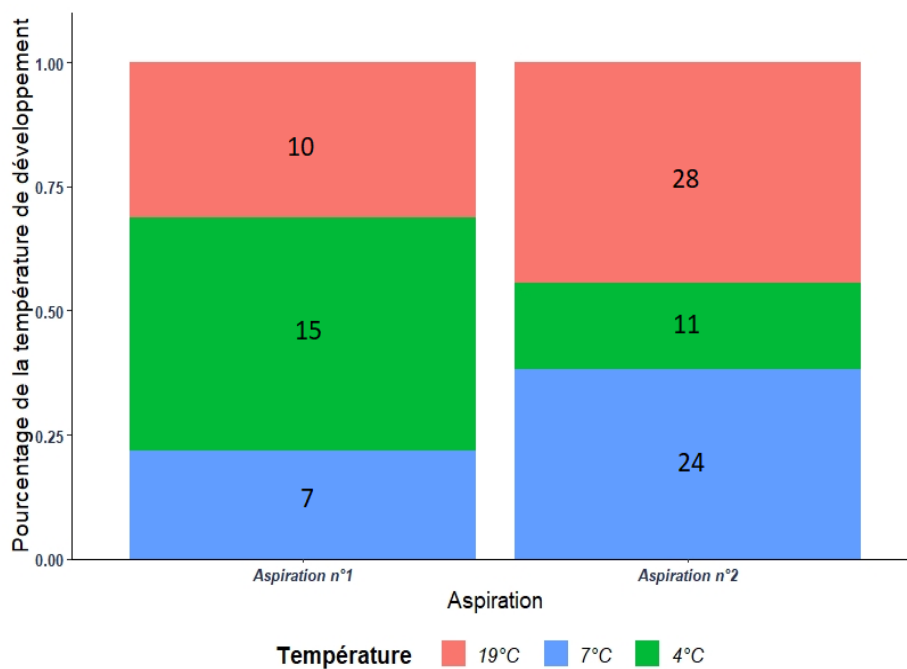


Figure 4. Estimation de la fréquence relative de la température de développement des femelles *Aphidius ervi* au cours de la première et la deuxième aspiration au printemps. Les chiffres indiquent le nombre d'individus de chaque classe de température. Ces résultats ont été obtenus par une classification avec le modèle *Gaussian Mixture Model* suivie d'une estimation de la prévalence avec *Adjusted Counting*.

2.3 Alimentation

L'algorithme de classification *Random Forest* couplé avec *Adjusted Counting* a montré que la majorité des femelles parasitoïdes *Aphidius* spp. capturées à l'automne et toutes celles capturées au printemps se sont nourries dans les heures précédant la capture. Celles s'étant nourries ont consommé principalement du nectar extrafloral à l'automne (Figure 5). A l'automne, la proportion la plus élevée des femelles nourries au nectar extrafloral a été rencontrée dans la bande de blé pur (90%, 8 individus sur 9) et celle des femelles nourries au miellat était au niveau de la bande de blé associée à la féverole (50%, 6 individus sur 12) marquant la seule différence significative trouvée ($P = 0.004$). Au printemps quand on considère toutes les modalités confondues, la proportion des femelles *Aphidius ervi* nourries au nectar extrafloral et celle des femelles nourries au miellat étaient parfaitement similaire (50% nectar extrafloral et 50% miellat pour 40 individus sur 80 pour chaque source alimentaire, Figure 5). La proportion des deux classes d'alimentation (nectar extrafloral et miellat) ne varie pas de manière significative selon les modalités d'arrangement spatial ($\chi^2 = 2.3206$, $df = 4$, $P = 0.67$, Figure 5) et oscille entre 30 et 55% de parasitoïdes nourri de nectar extrafloral (Figure 5).

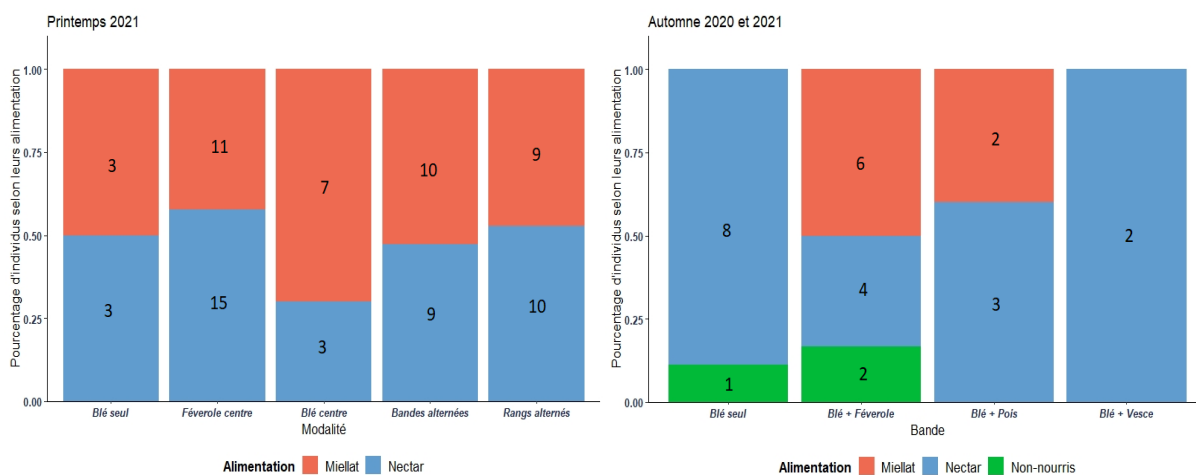


Figure. 5 Estimation de la fréquence relative de l'alimentation des femelles *Aphidius* spp dans les cultures de blé pur et les cultures de blés associées avec des légumineuses à l'automne (figure à droite) et avec la féverole suivant les différents arrangements spatiaux au printemps (figure à gauche). Les chiffres indiquent le nombre d'individus de chaque classe d'alimentation. Ces résultats ont été obtenus par une classification avec l'algorithme *Random Forest* suivie d'une estimation de la prévalence avec *Adjusted Cunting*.

Discussion

1. Méthodes de prédiction et de classification et indicateurs utilisés

D'importantes variabilités ont été observées dans les concentrations moyennes des réserves biochimiques des femelles *Aphidius ervi* selon leur hôte d'origine et la température à laquelle elles se sont développées. Ces résultats sont en accord avec d'autres études qui ont montré que chez les organismes comme les insectes parasitoïdes qui accumulent des réserves durant leurs stade larvaire, les quantités de ces réserves se trouvent être sous l'influence de l'hôte d'origine et de sa taille (Sequeira & Mackauer 1993) mais aussi de la température (IŞITAN et al., 2011; Colinet et al., 2007) résultant dans ce cas en une différence en terme de fitness qui a été corrélée à la masse corporelle et à la longueur du tibia postérieur droit des parasitoïdes (Ellers et al., 1998). Une importante variabilité a également été observée dans les concentrations moyennes des sucres rencontrés chez les femelles *Aphidius ervi* selon leur régime alimentations. Ces différences étaient importantes non seulement entre les individus non-nourris et ceux nourris au miellat et au nectar extrafloral mais également entre deux sources de nectar extrafloral produits par deux plantes de la même famille botanique, les Fabacées. Le ration glucose / (glucose +fructose) souvent utilisé pour différencier entre des insectes nourris et des insectes non-nourris (Hogervorst et al., 2007) montre un léger chevauchement entre les femelles nourries au miellat et les femelles non-nourries, cela est due à une probable similarité entre les profils glucidiques de ces deux classes. Ces résultats sont en accord avec l'étude de

Luquet et al., (2021b) qui ont observé la même variabilité dans les profils glucidiques des femelles *Aphidius ervi* selon leurs alimentations.

2. Hôtes alternatifs

La présence des légumineuses associées au blé ont permis l'installation d'*Acyrtosiphon pisum* dans les champs qui selon l'algorithme de classification a été parasité par certains des parasitoïdes femelles qui ont été capturées. A l'automne au niveau de la bande de blé pur servant de témoin on a trouvé des parasitoïdes appartenant aux deux origines or qu'on s'attendait à ne trouver que *Sitobion avenae* due à l'absence de légumineuses, cela peut être expliqué par le fait que les bandes n'étaient pas séparées entre elles ce qui fait qu'un parasitoïdes ayant émergé au niveau de la bande associée à la féverole ou au pois aurait très bien pu voler jusqu'à la bande témoin attiré par la présence de pucerons ou de miellat. A l'automne 2020 la population d'*Acyrtosiphon pisum* était significativement plus abondante au niveau de l'association blé-féverole et celle de *Sitobion avenae* était plus faible au niveau des deux modalités témoin et culture associé. Il a été démontré que les populations de *Sitobion avenae* faiblissent fortement à de basses températures causées par une mort due à la déshydratation et à la famine (Legrand et al. 2004). L'abondance relativement élevée d'*Acyrtosiphon pisum* comparée à *Sitobion avenae* en automne nous amène à penser que cette espèce de puceron résiste mieux au changement de température qui intervient lors de cette saison amenant un maintien de sa population en automne (Van Den Bosch et al., 1967). Tomanovic et al., (1996) ont montré que plus le parasitisme automnal de la population de pucerons du pois est important, plus important est le nombre de parasitoïdes émergents au printemps suivant, accompagné par une meilleure régulation biologique du ravageur. Cela nous pousse donc à croire que la présence de cet hôte alternatif pour les Aphidiinae permettrait de garder une importante abondance des Aphidiinae pouvant le parasiter dans les champs leurs permettant de se reproduire et leurs évitant un affaiblissement de leur abondance pouvant être causé par l'absence de *Sitobion avenae*. Cela pourrait s'accompagner par une meilleure régulation du puceron du blé lorsqu'il colonisera les champs de nouveau au printemps. La dynamique de la population puceron-parasitoïde dans un agroécosystème a été décrite comme étant une métapopulation marquée par de fréquents événements d'extinction et de recolonisation (Rauch & Weisser, 2017). La présence d'une population hôte dense permet donc au système hôtes-parasitoïdes de persister dans un champ durant toute une saison en maximisant leurs fitness sur différents hôtes alternatifs (Rauch & Weisser, 2017 ; Hufbauer & Roderick 2005). Toutefois nous ne savons pas si cet hôte alternatif est présent durant l'hiver, il serait donc intéressant d'étudier la dynamique de ses populations

durant les deux saisons automne et hiver. L'arrangement spatiale des cultures au printemps n'avait aucun effet sur l'exploitation de l'hôte alternatif *A. pisum* par les parasitoïdes. Le comptage de momies et de pucerons faits sur le terrain au printemps (quasiment pas de momie collectée à l'automne) a montré un taux de parasitisme élevé envers *Sitobion avenae* dans la monoculture de blé comparée aux autres modalités (Branger, 2021 ; Lérault et al., Unpublished). La présence d'hôtes alternatifs peut améliorer le contrôle biologique d'un puceron ravageur via « une compétition apparente » entre ces les deux hôtes (Holt & Lawton, 1994). Ceci est rendu possible lorsque la présence d'un hôte alternatif augmente le parasitisme envers un autre hôte considéré comme plus abondant dans un milieu donné via le partage du même ennemi naturel entre les deux (Holt & Lawton, 1994). Toutefois, au niveau des cultures associées, un faible taux de parasitisme a été observé et l'abondance des Aphidiinae ne différait pas entre la culture pure de blé et les modalités d'associations (Branger, 2021 ; Lérault et al., Unpublished). Nous ne pouvant donc pas savoir si le taux de parasitisme élevé au niveau de la modalité de blé pur est dû ou pas à la présence de cet hôte alternatif. Jeavons et al., (2021) ont eu des résultats qui ressemble aux nôtres, où ils n'ont constaté aucune augmentation du taux de parasitisme envers des pucerons de blé dans des cultures associées. Ils ont attribué cela à l'importante abondance d'hyperparasitoïdes qui ont bénéficié de la présence des hôtes alternatifs ce qui a perturbé le contrôle biologique des pucerons par les parasitoïdes primaires (Jeavons et al., 2021). Dans notre étude au printemps on avait seulement 3 hyperparasitoïdes qui ont émergés des momies collectées (Branger, 2021 ; Lérault et al., Unpublished), éliminons de la sorte cette hypothèse. Des momies appartenant à *Rhopalosiphum padi* ont été collecté sur le terrain (Branger, 2021 ; Lérault et al., Unpublished) qui fait partie des hôtes potentiels d'*Aphidius ervi* (Kavallieratos et al., 2004). Utiliser des profils de références avec d'autres pucerons hôtes permettrait d'avoir une vue plus juste sur les potentiels hôtes alternatifs présents vraiment dans les champs pour les Aphidiinae.

3. Température de développement et hivernation

Les résultats sur les températures de développement ont montré que les parasitoïdes qui arrivent précocement dans les champs ont plus de chance d'être issues d'individus hivernant s'étant développés à de basses températures. On peut donc être amener à penser de l'existence d'une grande proportion de parasitoïdes bénéficiant ainsi d'un succès hivernant. On pourrait émettre l'hypothèse selon laquelle en raison de la faible abondance des pucerons en hiver à l'intérieur même des champs, les femelles parasitoïdes capturées durant l'échantillonnage précoce en début de printemps ont passé l'hiver dans les marges enherbées et les haies se

trouvant à l'extérieur du champ qui leurs confèrent des zones refuges et des hôtes dans lesquelles ils peuvent hiverner pour après revenir coloniser le champ dès la fin de la période d'hivernation. Une étude similaire à la nôtre montre qu'*Anagrus* spp. qui est un parasitoïde qui attaque les œufs de la cicadelle de la vigne, *Erythroneura elegantula*, hiverne sur des hôtes alternatifs appartenant à d'autres espèce de cicadelle en dehors du vignoble car le ravageur ne reste pas dans les champs en hiver (Doutt & Nakata, 1973). La découverte à l'intérieur des parcelles étudiées de parasitoïdes hivernant, montre l'importance de maintenir les bordures de champs non-cultivées qui peuvent jouer un rôle clé en tant que source de parasitoïdes au début de chaque saison de printemps dans des paysages agricoles simplifié (Clem & Harmon-Threatt, 2021). Les résultats obtenus demeurent préliminaires et des travaux plus complets doivent être poursuivies menant à une meilleure compréhension du rôle que peuvent jouer ces bordures de champs non-cultivées dans le succès hivernant des parasitoïdes. Dans de futures études il serait intéressant d'évaluer le succès d'hivernation des parasitoïdes en présence et en absence de ces zones refuge. Il serait aussi intéressant de faire des comptages de momies au niveau même de ces bordures de champs non-cultivées en hiver selon leurs composition floristique.

4. Alimentation des parasitoïdes

Tous les parasitoïdes capturés au niveau de la modalité de blé pur au printemps et la majorité de ceux capturés à l'automne (excepté un individu) se sont nourris de nectar ou de miellat. Ceci semble contredire la théorie de l'approvisionnement en nectar (Heimpel et Jervis, 2005) et montre que les parasitoïdes ne sont pas vraiment limités en nourriture sucrée dans les monocultures. Lavandero et al. (2005) ont constaté que *Diadegma semiclausum* s'était nourri de sucres y compris dans la culture pure de brocolis dépourvue de sarrasin *Fagopyrum esculentum* qui était la plante productrice de nectar floral dans cette étude. Luquet et al., (2021b) ont trouvé que la proportion de femelles *Aphidius* spp. s'étant nourrie était la même et ce quel que soit la distance par rapport à la bordure du champ abritant des plantes productrices de nectar. Winkler (2005) a trouvé qu'une grande majorité de *Diadegma semiclausum* s'était nourrie d'aliments sucrés sans différence apparente entre les champs de choux de Bruxelles avec diverses bordures fleuries ou des bordures enherbées servant de traitement témoin dans cette étude. Les auteurs de chacune de ces études sont arrivés à la conclusion que le grand nombre de parasitoïdes s'étant nourri de ressources sucrées (nectar ou bien miellat) était due à leur capacité de dispersion au sein de leur environnement entre les traitements témoins et les traitements pourvus de nectar floral ou extrafloral dont la distance était respectivement de 60m, 50m et 35m dans ces études. Dans notre étude la modalité témoin « Blé seul » était situé à 15m

des autres modalités associées à la féverole au printemps et adjacente des autres bandes associant le blé avec des légumineuses productrices de nectar extrafloral (vesce et féverole) à l'automne. La faible abondance de *Sitobion avenae* à l'automne (Tougeron, 2017) réduisant ainsi la disponibilité du miellat de cette espèce de puceron dans les cultures de blé seul, aurait pu contraindre les femelles parasitoïdes à se déplacer vers les bandes voisines pour se nourrir de nectar extrafloral. Une grande distance entre l'environnement où les hôtes sont présents et celui pourvu de nectar ou de miellat peut rendre le « commuting » peu profitable aux parasitoïdes leur consommant du temps et de l'énergie (Chapman, 1998). On a pu constater dans notre étude qu'au printemps le taux de parasitismes envers *Sitobion avenae* était significativement plus élevés dans la modalité « Blé seul » comparé aux autres modalités (Branger, 2021) ce qui nous pousse à croire que la distance parcourue par les parasitoïdes à la recherche de nourriture (15m) n'était pas contraignante. A l'automne 2020 un faible nombre de puceron *Sitobion avenae* et aucune momie du même puceron n'a été observée dans les champs rendant impossible le calcul du taux de parasitisme.

Au printemps comme à l'automne l'exploitation du nectar extrafloral par les parasitoïdes n'a pas augmenté dans les cultures associées de blé avec des légumineuses. Au printemps la proportion de parasitoïdes consommant le miellat était la même que ceux s'étant nourris de nectar extrafloral (50%), sans différence significative entre les arrangements spatiaux des microparcelles, à l'automne nous avons observé 49% d'individus alimentés de miellat et 51% alimenté de nectar dans les cultures associées, toutefois, le peu de parasitoïdes analysés pour les sucres solubles à l'automne (28 individus) les rends peu représentatifs des populations d'*Aphidius* spp. se trouvant sur le terrain. On constate dans ce cas que même pourvu de nectar extrafloral au sein de leurs environnements de grandes proportions de femelles *Aphidius* spp. consomment du miellat de puceron. Nos résultats viennent encore une fois contredire la théorie de l'approvisionnement en nectar (Heimpel et Jervis, 2005), montrant que même en apportant ce dernier dans l'agroécosystème en grande quantité sa consommation par les parasitoïdes n'augmente pas forcément. En effet, bien que le miellat soit inférieur au nectar d'un point de vue nutritionnel pour les parasitoïdes (Wäckers et al. 2008), dans notre étude, sa consommation demeure quand même importante par les femelles *Aphidius* spp. Luquet et al., (2021b) ont trouvés des résultats similaires montrant que la consommation de nectar extrafloral par *Aphidius* spp. n'augmentait pas au sein des cultures de blé associées à la féverole comparées aux cultures de blé pur. Bien que nous n'ayons pas fait d'étude des préférences alimentaires des femelles *Aphidius* spp. et afin d'expliquer cette consommation récurrente de miellat par les parasitoïdes

même en présence de nectar dans leurs environnements, on peut émettre deux hypothèses : La première hypothèse voudrait que les sucres contenues dans le miellat de puceron suffisent aux besoins métaboliques des parasitoïdes. Lenaerts et al., (2016) ont montré que les adultes d'*Aphidius ervi* ont une préférence pour les sucres surreprésentés dans le miellat de pucerons, ils sont arrivés à la conclusion que dans les systèmes de production agricole dépourvu de source alimentaire autre que le miellat, les parasitoïdes associés à ces ravageurs ont mis en place des adaptations leurs permettant de se contenter de cette source alimentaire. Dans cette étude nous n'avons pas comparé entre le miellat et le nectar extrafloral de par ce qu'il procure en termes d'énergie pour les parasitoïdes. Il serait donc intéressant de tester par exemple l'effet que peuvent avoir ces deux sources alimentaires sur la capacité de vol qui est connue pour être énergivore pour les insectes (Chapman, 1998) et la recherche de nourriture et de pucerons hôtes afin de mieux comprendre la source de glucides qui optimisera le mieux les performances des parasitoïdes dans les champs. Une deuxième hypothèse émise par Wäckers et al., (2008) est que la pertinence d'une source alimentaire particulière ne dépend pas seulement de ses caractéristiques nutritionnelles vu précédemment, mais dépend également de comment est-ce qu'elle attire les consommateurs les menant à son exploitation. Dans cette théorie les auteurs ont catégorisé les parasitoïdes en deux groupes : un premier groupe avec des parasitoïdes dont les hôtes ne sont pas associés à une source de glucides appropriée. Un deuxième groupe qui comprend des parasitoïdes dont les hôtes sont étroitement liés à des aliments riches en glucides. Les parasitoïdes des hôtes sécréteurs de miellat étudiés ici sont un important exemple de cette dernière catégorie. On pourrait donc penser que pour les femelles *Aphidius* spp. la recherche de pucerons hôtes et de nourriture riche en glucides se résume en une seule tâche leurs économisant ainsi du temps et de l'énergie et réduisant le risque de mortalité. Une autre hypothèse émise par Luquet et al., (2021b) est que la disponibilité élevée du miellat dans l'environnement pourrait compenser sa qualité nutritionnelle plus faible amenant une prise alimentaire fréquente et à moindre coût pour les parasitoïdes.

Conclusion et perspectives

En monoculture, la capacité d'alimentation en sucres des Aphidiinae ne semble pas être limitante et les cultures associant blé et légumineuses ne semble pas l'améliorer. La faible distance séparant les traitements témoins de blé pur et les traitements en culture associés rend leurs comparaisons difficiles du fait de la capacité de dispersion des parasitoïdes entre différents patches dans leurs environnements. L'arrangement spatial des cultures au printemps n'avait

aucun effet sur l'exploitation des ressources par les parasitoïdes. Nos résultats sont en accord avec d'autres études qui montrent que le miellat produit par les pucerons demeure une ressource alimentaire appréciée par les parasitoïdes, il serait dans ce cas intéressant d'envisager d'améliorer la qualité et la disponibilité de cette même ressource. Cela peut être fait en commençant par déterminer si le miellat produit par le puceron ravageur de la plante appartenant à la culture de rente est de bonne qualité pour les parasitoïdes comparé au miellat d'autres pucerons. Des comparaisons avec des effets sur la longévité et la fécondité des parasitoïdes pourrait nous aider à choisir qu'elle plante faut-il ajouter en association avec la culture de rente qui permettrait d'attirer l'espèce de puceron produisant un miellat d'une meilleure qualité pour les parasitoïdes tout en s'assurant que ce nouveau puceron introduit dans l'agroécosystème n'affectera pas de manière significative la culture de rente en question. Dans notre étude l'exploitation d'un hôte alternatif dans les cultures associées ne s'est pas accompagnée d'une meilleure régulation biologique du puceron du blé dans ces cultures-là. Aucune augmentation de l'abondance des Aphidiinae entre la modalité d'association et la culture de blé pur n'a été observée au printemps. La possibilité des parasitoïdes de se disperser dans leurs environnements rend cette comparaison difficile. Une meilleure compréhension du caractère limitant de ces ressources en monoculture pourrait être obtenue en travaillant sur de plus grandes parcelles délimitées par des distances plus importantes.

Références bibliographiques

- Boudreau, M. A. (2013). Diseases in intercropping systems. *Annual review of phytopathology*, 51(1), 499-519.
- BRANGER, Johanna (2021). Impact de l'arrangement spatial des cultures associées sur le contrôle biologique des pucerons par les parasitoïdes. Mémoire de Master 2ème année. Master en Biologie et Ecologie des Populations. U.F.R. Sciences Fondamentales et Appliquées, Université de Poitiers, Poitiers, France.
- Breiman, L. (2001). Random forests. *Machine learning*, 45(1), 5-32.
- Chapman, R. F., & Chapman, R. F. (1998). *The insects: structure and function*. Cambridge university press
- Clem, C. S., & Harmon-Threatt, A. N. (2021). Field Borders Provide Winter Refuge for Beneficial Predators and Parasitoids: A Case Study on Organic Farms. *Journal of Insect Science*, 21(3), 2.
- Colinet, H., Renault, D., Charoy-Guével, B., & Com, E. (2012). Metabolic and proteomic profiling of diapause in the aphid parasitoid *Praon volucre*. *PLoS One*, 7(2), e32606.

- Coll, M. (1998). Parasitoid activity and plant species composition in intercropped systems. *Enhancing Biological Control–Habitat Management to Promote Natural Enemies of Agricultural Pests*, 85-119.
- Dedryver, C. A., Le Ralec, A., & Fabre, F. (2010). The conflicting relationships between aphids and men: a review of aphid damage and control strategies. *Comptes rendus biologies*, 333(6-7), 539-553.
- Doutt, R. L., & Nakata, J. (1973). The *Rubus* leafhopper and its egg parasitoid: an endemic biotic system useful in grape-pest management. *Environmental Entomology*, 2(3), 381-386.
- Ellers, J., Van Alphen, J. J., & Sevenster, J. G. (1998). A field study of size–fitness relationships in the parasitoid *Asobara tabida*. *Journal of Animal Ecology*, 67(2), 318-324.
- Foray, V., Desouhant, E., Voituron, Y., Larvor, V., Renault, D., Colinet, H., & Gibert, P. (2013). Does cold tolerance plasticity correlate with the thermal environment and metabolic profiles of a parasitoid wasp?. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 164(1), 77-83.
- Forman, G., 2008. Quantifying counts and costs via classification. *Data Min. Knowl. Disc.* 17 (2), 164–206.
- Fraley, C., & Raftery, A. E. (2007). Bayesian regularization for normal mixture estimation and model-based clustering. *Journal of classification*, 24(2), 155-181.
- Ghaliow, M. E., Petrović, A., Kocić, K., Čkrkić, J., Bogdanović, A., Stary, P., ... & Tomanović, Ž. (2018). Key for identification of the parasitoids (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) of aphids infesting alfalfa in Europe. *Zootaxa*, 4378(1), 98-110.
- Giron, D., & Casas, J. (2003). Lipogenesis in an adult parasitic wasp. *Journal of Insect Physiology*, 49(2), 141-147.
- Heimpel, G. E., & Jervis, M. A. (2005). Does floral nectar improve biological control by parasitoids? Plant-provided food for carnivorous insects: a protective mutualism and its applications, 267-304.
- Hogervorst, P. A., Wäckers, F. L., & Romeis, J. (2007). Detecting nutritional state and food source use in field-collected insects that synthesize honeydew oligosaccharides. *Functional Ecology*, 936-946.
- Holt, R. D., & Lawton, J. H. (1994). The ecological consequences of shared natural enemies. *Annual review of Ecology and Systematics*, 495-520.
- Hullé, M., Turpeau, E., & Chaubet, B. (2018). *Encyclop'aphid*.
- Hutchinson, G. E. (1959). Homage to Santa Rosalia or why are there so many kinds of animals?. *The American Naturalist*, 93(870), 145-159.
- IŞITAN, Ö. V., GÜNDÜZ, N. E. A., & GÜLEL, A. (2011). Protein and lipid amounts of the parasitoid *Bracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) at constant and alternating temperatures. *Turkish Journal of Zoology*, 35(5), 747-753.
- Jamont, M., Crépellière, S., & Jaloux, B. (2013). Effect of extrafloral nectar provisioning on the performance of the adult parasitoid *Diaeretiella rapae*. *Biological Control*, 65(2), 271-277.

- Jeavons, E., Van Baaren, J., Le Ralec, A., Buchard, C., Duval, F., Llopis, S., ... & Le Lann, C. (2022). Third and fourth trophic level composition shift in an aphid–parasitoid–hyperparasitoid food web limits aphid control in an intercropping system. *Journal of Applied Ecology*, 59(1), 300-313.
- Kavallieratos, N. G., Tomanović, Ž., Starý, P., Athanassiou, C. G., Sarlis, G. P., Petrović, O., ... & Veroniki, M. A. (2004). A survey of aphid parasitoids (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) of Southeastern Europe and their aphid-plant associations. *Applied Entomology and Zoology*, 39(3), 527-563.
- 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*, 34(2), 152-158.
- Legrand, M. A., Colinet, H., Vernon, P., & Hance, T. (2004). Autumn, winter and spring dynamics of aphid *Sitobion avenae* and parasitoid *Aphidius rhopalosiphii* interactions. *Annals of applied biology*, 145(2), 139-144.
- Lee, J. C., Heimpel, G. E., & Leibe, G. L. (2004). Comparing floral nectar and aphid honeydew diets on the longevity and nutrient levels of a parasitoid wasp. *Entomologia experimentalis et applicata*, 111(3), 189-199.
- Lenaerts, M., Abid, L., Paulussen, C., Goelen, T., Wäckers, F., Jacquemyn, H., & Lievens, B. (2016). Adult parasitoids of honeydew-producing insects prefer honeydew sugars to cover their energetic needs. *Journal of chemical ecology*, 42(10), 1028-1036.
- Lérault L., Branger J., Lavandero B., Plantegenest M. & Jaloux B. Influence of the spatial arrangement of cereal-leguminous intercrops on the distribution of trophic resources for parasitoids and on the biological control of aphids. (Unpublished).
- Luquet, M., Parisey, N., Hervé, M., Desouhant, E., Cortesero, A. M., Peñalver-Cruz, A., ... & Jaloux, B. (2021a). Inferring insect feeding patterns from sugar profiles: a comparison of statistical methods. *Ecological Entomology*, 46(1), 19-32.
- Luquet, M., Penalver-Cruz, A., Satour, P., Anton, S., Cortesero, A. M., Lavandero, B., & Jaloux, B. (2021b). Aphid honeydew may be the predominant sugar source for *Aphidius* parasitoids even in nectar-providing intercrops. *Biological Control*, 158, 104596.
- Muller, D., Giron, D., Desouhant, E., Rey, B., Casas, J., Lefrique, N., & Visser, B. (2017). Maternal age affects offspring nutrient dynamics. *Journal of Insect Physiology*, 101, 123-131.
- Nafziger Jr, T. D., & Fadamiro, H. Y. (2011). Suitability of some farmscaping plants as nectar sources for the parasitoid wasp, *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae): effects on longevity and body nutrients. *Biological Control*, 56(3), 225-229.
- Navasse, Y., Derocles, S. A. P., Plantegenest, M., & Le Ralec, A. (2018). Ecological specialization in *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) on aphid species from wild and cultivated plants. *Bulletin of entomological research*, 108(2), 175-184.
- Powell, W. (1986). Enhancing parasitoid activity in crops. *Insect parasitoids*.
- Powell, W., & Zhi-Li, Z. (1983). The reactions of two cereal aphid parasitoids, *Aphidius uzbekistanicus* and *A. ervi* to host aphids and their food-plants. *Physiological Entomology*, 8(4), 439-443.

- Rakhshani, E., Barahoei, H., Ahmad, Z., Stary, P., Ghafouri-Moghaddam, M., Mehrparvar, M., ... & Tomanović, Ž. (2019). Review of Aphidiinae parasitoids (Hymenoptera: Braconidae) of the Middle East and North Africa: key to species and host associations. *European Journal of Taxonomy*, (552).
- Rivero, A., & Casas, J. (1999). Incorporating physiology into parasitoid behavioral ecology: the allocation of nutritional resources. *Researches on Population Ecology*, 41(1), 39-45.
- Rauch, G., & Weisser, W. W. (2007). Local and spatial dynamics of a host–parasitoid system in a field experiment. *Basic and Applied Ecology*, 8(1), 89-95.
- Sequeira, R., & Mackauer, M. (1993). The nutritional ecology of a parasitoid wasp, *Ephedrus californicus* Baker (Hymenoptera: Aphidiidae). *The Canadian Entomologist*, 125(3), 423-430.
- Sigsgaard, L. (2000). The temperature-dependent duration of development and parasitism of three cereal aphid parasitoids, *Aphidius ervi*, *A. rhopalosiphi*, and *Praon volucre*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 95(2), 173-184.
- Singh, R., & Singh, G. (2016). Aphids and their biocontrol. In *Ecofriendly pest management for food security* (pp. 63-108). Academic Press.
- Stary, P. (1970). Biology of Aphid Parasites (Hymenoptera: Aphidiidae) with respect to integrated control. *Series entomologica.*, 6.
- Tomanovic, Z., Brajkovic, M., Krunic, M., & Stanisavljevic, L. (1996). Seasonal dynamics, parasitization and colour polymorphism of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum* (Harris)(Aphididae: Homoptera) on alfalfa in the South part of the Pannonian area. *Tiscia*, 30, 45-48.
- Tougeron, K., Le Lann, C., Brodeur, J., & van Baaren, J. (2017). Are aphid parasitoids from mild winter climates losing their winter diapause?. *Oecologia*, 183(3), 619-629.
- Van Den Bosch, R., Lagace, C. F., & Stern, V. M. (1967). The interrelationship of the aphid, *Acyrtosiphon pisum*, and its parasite, *Aphidius smithi*, in a stable environment. *Ecology*, 48(6), 993-1000.
- Villegas, C. M., Žikić, V., Stanković, S. S., Ortiz-Martínez, S. A., Peñalver-Cruz, A., & Lavandero, B. (2017). Morphological variation of *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Braconidae) associated with different aphid hosts. *PeerJ*, 5, e3559.
- Wäckers, F. L., Van Rijn, P. C., & Heimpel, G. E. (2008). Honeydew as a food source for natural enemies: making the best of a bad meal?. *Biological Control*, 45(2), 176-184.
- Wäckers, F. L., Van Rijn, P. C. J., & Bruin, J. (Eds.). (2005). *Plant-provided food for carnivorous insects: a protective mutualism and its applications*. Cambridge University Press.
- Winkler, K., Wäckers, F. L., Stingli, A., & Van Lenteren, J. C. (2005). *Plutella xylostella* (diamondback moth) and its parasitoid *Diadegma semiclausum* show different gustatory and longevity responses to a range of nectar and honeydew sugars. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 115(1), 187-192.

Annexes

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Bruno et Ainara de m'avoir fait confiance en me donnant l'opportunité de réaliser ce stage sur un sujet très intéressant. J'ai pris beaucoup de plaisir à travailler sur les insectes parasitoïdes et les pucerons faisant naître en moi une vraie passion pour l'entomologie.

Un grand MERCI à Bruno pour ton aide précieuse lors de la rédaction de ce mémoire, désolé pour toutes les théories fumeuses (j'avoue que j'en ai sorti pas mal). Merci de m'avoir appris ce qu'est la rigueur scientifique, merci pour tes encouragements et merci de m'avoir donné le goût pour la recherche.

Chaque résultat présenté dans ce mémoire n'aurait pu être obtenu sans le soutien et l'aide indéfectible d'Ainara. J'ai grandement bénéficié de ta perspicacité scientifique. Merci d'avoir pris le temps de m'expliquer (voir me réexpliquer) toutes les manip effectuées durant ce stage et d'avoir répondu à toute mes questions (même les plus farfelues). Merci surtout pour ta disponibilité durant tout le stage (sans oublier tous les week-ends où tu m'as accompagné au labo) malgré ton planning surchargé.

Merci à Pascale SATOUR pour toutes les analyses HPLC.

Merci à Pierre-Antoine pour ta bonne humeur quotidienne, j'espère que le Stade lavallois finira par passer en première division, peut-être une éventuelle ligue des champions ? (Faut pas rêver).

Merci à Christelle pour ta bonne humeur, ton énergie et ta joie de vivre. Ça me fait toujours plaisir de discuter avec toi.

Merci à Ferréol pour toutes les conversations enrichissantes qu'on a eu ensemble.

Merci à Martin pour tes précieuses explications sur le fonctionnement des algorithmes et pour tes conseils.

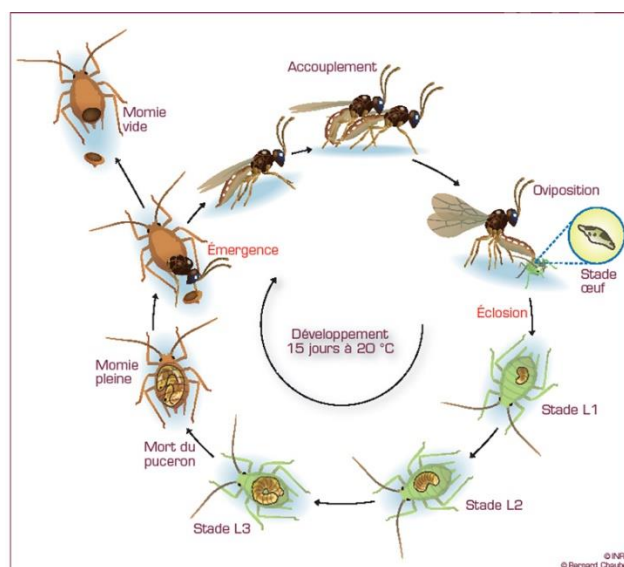
Merci à Sylvia pour ta gentillesse et pour les bons gâteaux.

Merci à Anne pour ta gentillesse et ta serviabilité.

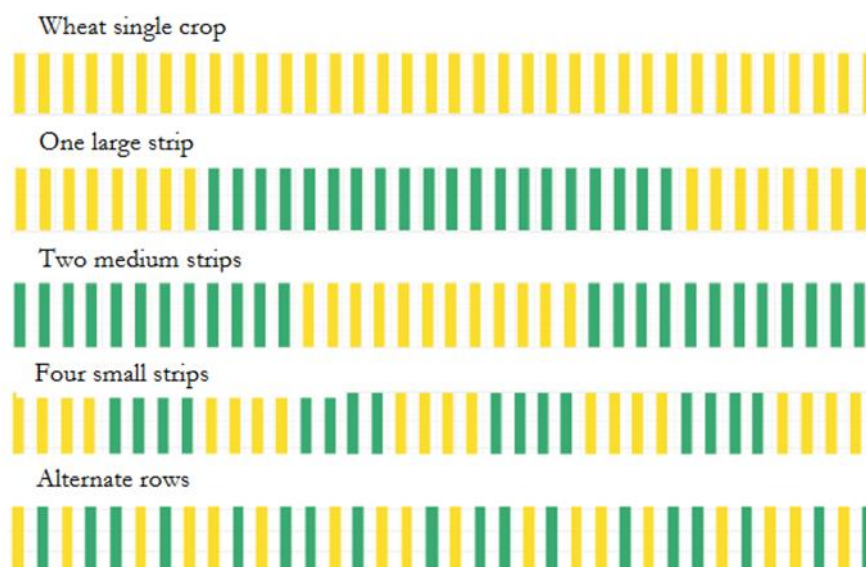
Merci à Clément, Louise (félicitations encore pour ta thèse) et Elie, ça m'a fait plaisir de partager avec vous le même bureau je vous souhaite plein de réussite pour la suite.

Merci à Hugo, Thaïs, Adeline, Simon et Hatem.

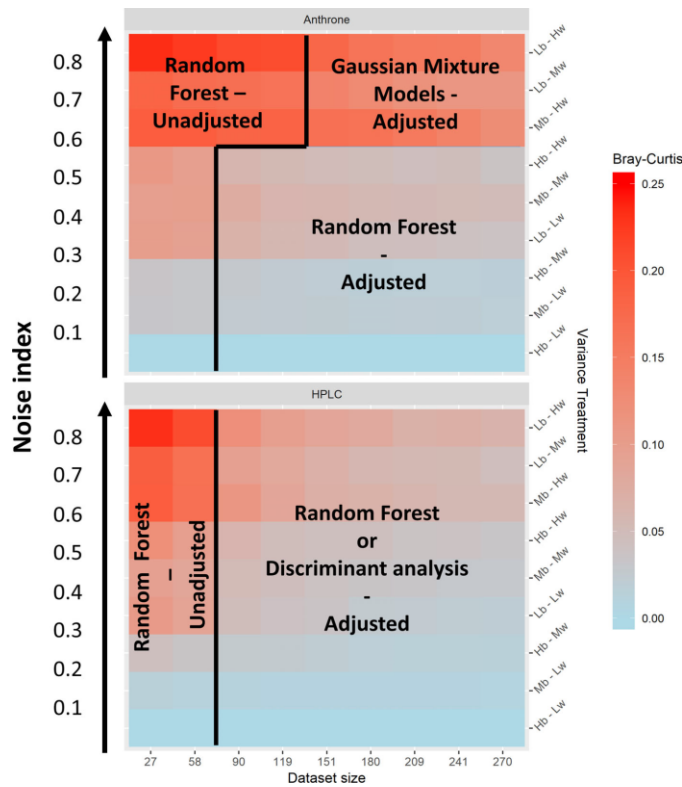
Merci à tous les gens du département d'Écologie de l'Institut Agro d'Angers.



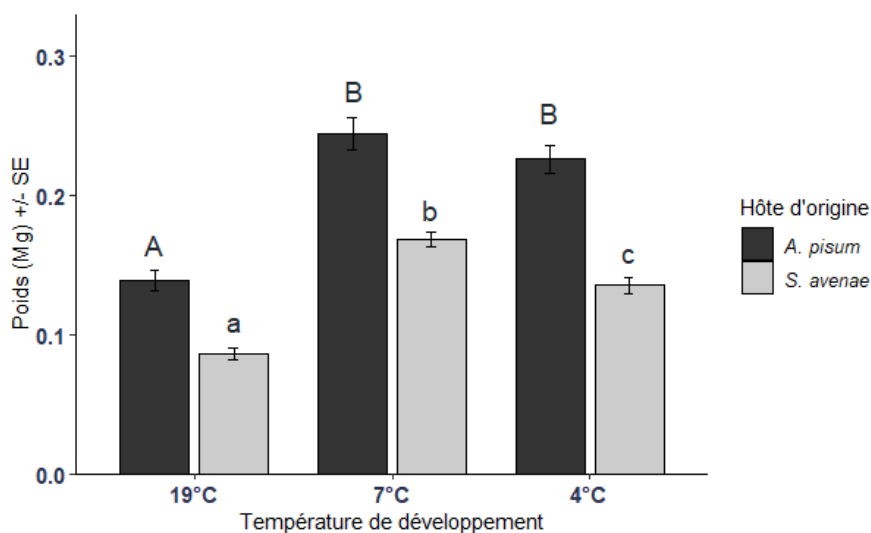
Annexe A. Le cycle biologique des Aphidinae. (Encyclop'Aphid : l'encyclopédie des pucerons. (<https://www6.inrae.fr>))



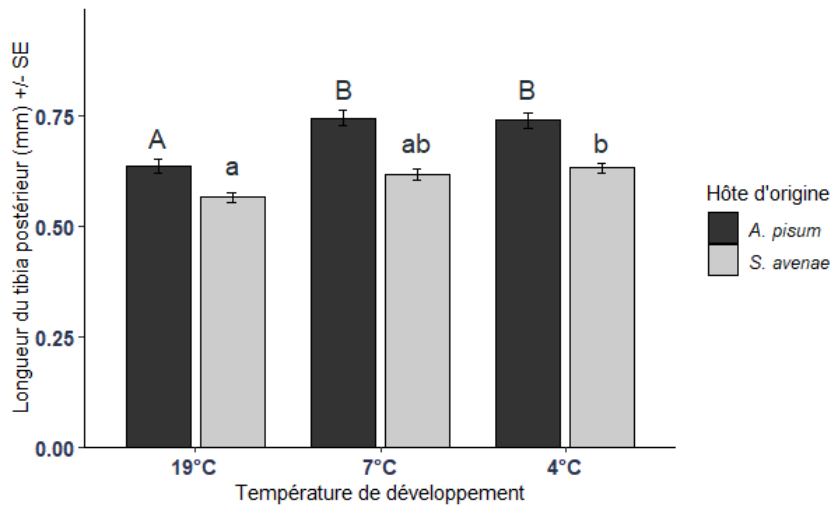
Annexe B. Organisation et arrangement spatial des cultures de blé et de féverole dans les cinq microparcelles à l'automne (Lérault et al., Unpublished).



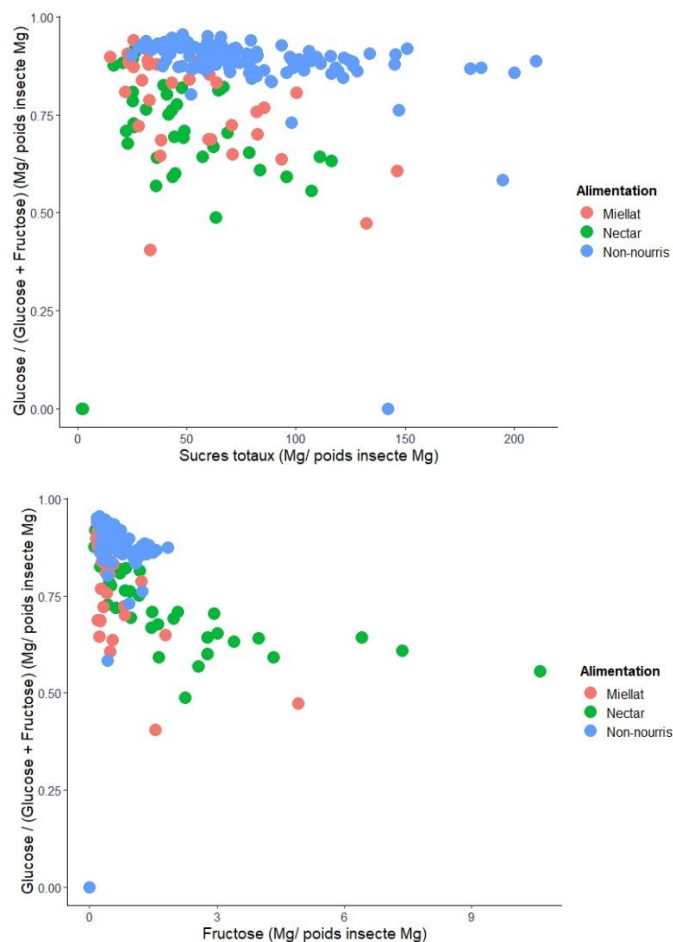
Annexe C. Carte thermique montrant la dissimilarité moyenne de Bray-Curtis (BC) obtenue pour chaque taille de jeu de données de références (axe des x) et traitement de la variance des parasitoïdes (axe des y à droite), en utilisant la méthode qui a été identifiée comme la plus performante pour chaque situation par Luquet et al., (2021a). La correspondance entre la couleur et BC est décrite à droite de la figure. Hb, variance interclasse élevée ; Mo, variance moyenne entre les classes ; Lw, faible variance intra-classe, etc. (Luquet et al., 2021a).



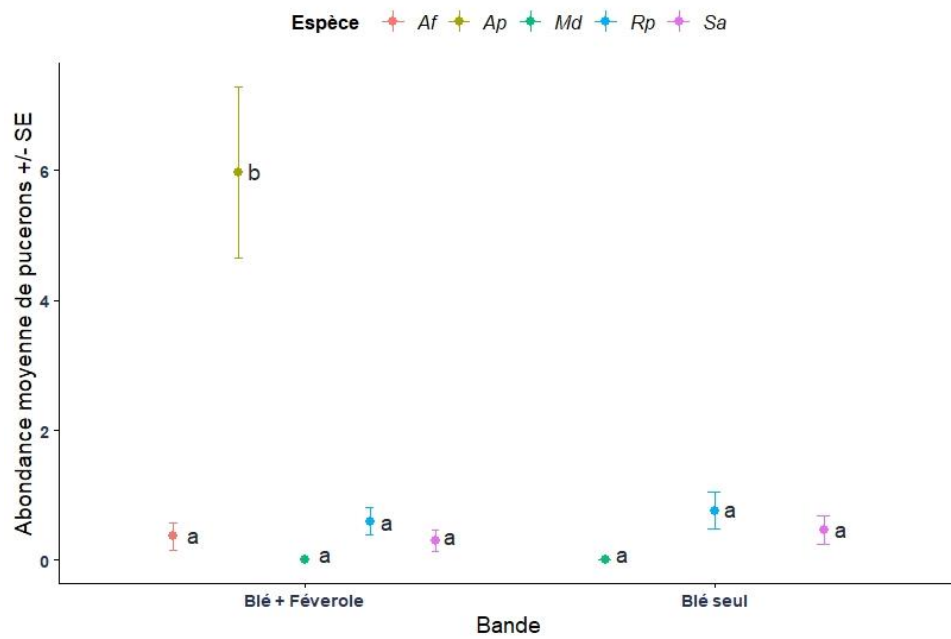
Annexe D. Poids moyens \pm SE des femelles *Aphidius ervi* sous l'effet de différentes températures de développement et deux espèces hôtes d'origines de puceron. Bars en noir : *A. pisum* / Bars en gris : *S. avenae*. Les moyennes ayant des lettres différentes sont significativement différentes (Tukey-Kramer HSD, $P < 0.05$). (*A. pisum* : lettres en majuscule / *S. avenae* : lettres en minuscule).



Annexe E. Tailles moyennes du tibia postérieur droit \pm SE des femelles *Aphidius ervi* sous l'effet de différentes températures de développement et deux espèces hôtes d'origines de puceron. Bars en noir : *A. pisum* / Bars en gris : *S. avenae*. Les moyennes ayant des lettres différentes sont significativement différentes (Tukey–Kramer HSD, $P < 0.05$). (*A. pisum* : lettres en majuscule / *S. avenae* : lettres en minuscule).



Annexe F. Concentration moyenne de la teneur totale en sucres totaux (Mg/poids insectes Mg) en fonction du ratio glucose/fructose (en haut) et la concentration moyenne de la teneur totale en fructose (Mg/poids insectes Mg) en fonction du ratio glucose/fructose (en bas) des femelles *Aphidius ervi* de laboratoire selon leurs alimentations.



Annexe G : Nombre moyen de pucerons \pm SE observés dans les bandes de blé pur et les bandes de blé associées à la féverole à l'automne 2020. Les moyennes ayant des lettres différentes sont significativement différentes. (Af = *Aphis faba*, Ap = *Acyrtosiphon pisum*, Md = *Metopolophium dirhodum*, Rp = *Rhopalosiphum padi*, Sa = *Sitobion avenae*). (GLMM, $P < 0.001$).