

# **Les phéromones sexuelles: utilisées comme moyen de lutte, évaluation de leur efficacité et mesure de leur impact physiologique sur les vers de la grappe**

Thèse présentée à la Faculté des Sciences  
Institut de Biologie  
Université de Neuchâtel

Pour l'obtention du grade de docteur ès sciences

Par

Françoise Briand

Acceptée sur proposition du jury composé de :

Dr. Patrick Guerin, Université de Neuchâtel, Directeur de thèse

Dr. Katia Gindro, Agroscope Changins-Wädenswil, Rapporteur

Dr. Patrik Kehrli, Agroscope Changins-Wädenswil, Rapporteur

Dr. Michel Brossard, Université de Neuchâtel, Rapporteur

Soutenue le 3 avril 2009

Université de Neuchâtel

2009



## IMPRIMATUR POUR LA THESE

Les phéromones sexuelles: utilisées comme moyen de  
lutte, évaluation de leur efficacité et mesure de leur im-  
pact physiologique sur les vers de la grappe

# Françoise BRIAND

UNIVERSITE DE NEUCHATEL

FACULTE DES SCIENCES

La Faculté des sciences de l'Université de Neuchâtel,  
sur le rapport des membres du jury

Mme K. Gindro (Agroscope Changins-Wädenswil, Nyon),  
MM. P. Guerin (directeur de thèse), M. Brossard et  
P. Kehrlı (Agroscope Changins-Wädenswil, Nyon)

autorise l'impression de la présente thèse.

Neuchâtel, le 11 juin 2009

Le doyen :  
F. Kessler

UNIVERSITE DE NEUCHATEL  
FACULTE DES SCIENCES  
Secrétariat - décanat de la faculté  
Rue Emile-Argand 11 - CP 158  
CH-2009 Neuchâtel  
*Felix Kessler*





*« Si vous torturez les données assez longtemps, la nature finira par se confesser »*

COASE, Ronald



# Table des matières

RESUME .....	1
SUMMARY .....	3
LISTE DES ABREVIATIONS .....	5
<b>1. INTRODUCTION GENERALE.....</b>	<b>7</b>
1.1. LA VIGNE ET SES RAVAGEURS .....	7
1.2. SYSTEMATIQUE.....	8
1.3. DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE ET HISTORIQUE .....	8
1.3.1. <i>Eupoecilia ambiguella</i> .....	8
1.3.2. <i>Lobesia botrana</i> .....	9
1.4. MORPHOLOGIE.....	10
1.5. BIOLOGIE.....	12
1.5.1. <i>Plantes hôtes</i> .....	12
1.5.2. <i>Accouplement</i> .....	12
1.5.3. <i>Cycle biologique</i> .....	14
1.6. LA COMMUNICATION CHEZ LES INSECTES .....	16
1.6.1. <i>Types de médiateurs pour la communication chimique</i> .....	16
1.6.2. <i>Transmission du signal</i> .....	17
1.6.3. <i>Le signal phéromonal chez E. ambiguella et L. botrana</i> .....	20
1.6.4. <i>La réponse comportementale aux phéromones sexuelles et autres odeurs</i> .....	21
1.7. LE METABOLISME ENERGETIQUE DU VOL.....	22
1.7.1. <i>L'approvisionnement en oxygène</i> .....	23
1.7.2. <i>La température du corps de l'insecte</i> .....	23
1.7.3. <i>Les carburants pour le vol</i> .....	23
1.7.4. <i>La mobilisation des carburants</i> .....	24
1.7.5. <i>La respiration cellulaire</i> .....	24
1.8. DEGATS ET NUISIBILITES ECONOMIQUES.....	27
1.9. LES METHODES DE LUTTE .....	28
1.9.1. <i>Les moyens de lutte chimique</i> .....	29
1.9.2. <i>Les moyens de lutte biologique</i> .....	29
1.9.3. <i>Les moyens de lutte biotechniques</i> .....	30
1.10. LA CONFUSION SEXUELLE .....	30
1.11. INTERET DE LA RECHERCHE .....	32
1.12. REFERENCES .....	34
<b>2. LES PHEROMONES SEXUELLES : EBAUCHE D'UN APPAT « ATTRACT &amp; KILL ».....</b>	<b>41</b>
2.1. INTRODUCTION .....	42

2.2.	MATERIEL ET METHODES .....	44
2.2.1.	<i>Les insectes</i> .....	44
2.2.2.	<i>Sources phéromonales</i> .....	44
2.2.3.	<i>Procédures expérimentales</i> .....	47
2.2.4.	<i>Traitement des données</i> .....	51
2.3.	RESULTATS.....	52
2.3.1.	<i>Eupoecilia ambiguella</i> .....	52
2.3.2.	<i>Lobesia botrana</i> .....	57
2.4.	DISCUSSION .....	62
2.5.	REFERENCES .....	67
<b>3.</b>	<b>LES PHEROMONES SEXUELLES: METHODE SIMPLE POUR EVALUER L'INFLUENCE SUR LES ACCOUPLEMENTS.....</b>	<b>73</b>
3.1.	INTRODUCTION .....	74
3.2.	MATERIEL ET METHODES .....	77
3.2.1.	<i>Les insectes</i> .....	77
3.2.2.	<i>Traitements</i> .....	77
3.2.3.	<i>Localisation des essais</i> .....	79
3.2.4.	<i>Méthode générale</i> .....	80
3.3.	RESULTATS.....	85
3.3.1.	<i>Cage à grand volume</i> .....	85
3.3.2.	<i>Cage de petit volume avec diffuseur au centre</i> .....	86
3.3.3.	<i>Cage de petit volume sans diffuseur au centre</i> .....	87
3.3.4.	<i>Amélioration de la toile des petites cages</i> .....	89
3.3.5.	<i>Durée optimale d'exposition des couples d'E. ambiguella au sein d'une petite cage</i> .....	90
3.3.6.	<i>Densité optimale des couples d'E. ambiguella au sein d'une petite cage</i> .....	91
3.4.	DISCUSSION .....	93
3.5.	REFERENCES .....	98
<b>4.</b>	<b>LES PHEROMONES SEXUELLES: IMPACT SUR LE METABOLISME .....</b>	<b>103</b>
4.1.	INTRODUCTION .....	104
4.2.	MATERIEL ET METHODES .....	107
4.2.1.	<i>Les insectes</i> .....	107
4.2.2.	<i>Mesure du métabolisme</i> .....	107
4.2.3.	<i>Evaluation du métabolisme basal</i> .....	110
4.2.4.	<i>Le potentiel de vol</i> .....	111
4.2.5.	<i>Influence du vol sur le métabolisme</i> .....	113
4.2.6.	<i>Influence de la phéromone sur le métabolisme</i> .....	114
4.2.7.	<i>Comparaison des populations ACW avec une population naturelle</i> .....	115
4.3.	RESULTATS.....	117
4.3.1.	<i>Evaluation du métabolisme basal</i> .....	117

4.3.2.	<i>Potentiel de vol.....</i>	122
4.3.3.	<i>Influence du vol sur le métabolisme.....</i>	123
4.3.4.	<i>Influence de la phéromone sur le métabolisme.....</i>	126
4.3.5.	<i>Comparaison des populations naturelles et d'élevage.....</i>	128
4.4.	DISCUSSION.....	130
4.5.	REFERENCES.....	139
<b>5.</b>	<b>DISCUSSION GENERALE.....</b>	<b>147</b>
5.1.	REFERENCES.....	153
	<b>LISTE DES DOCUMENTS.....</b>	<b>157</b>
	<b>ANNEXE I: MICROSCOPIE ELECTRONIQUE A BALAYAGE (MEB).....</b>	<b>163</b>
	<b>ANNEXE II: COMPOSITION DU MILIEU ARTIFICIEL.....</b>	<b>165</b>
	<b>ANNEXE III: PRINCIPE DE L'ECOTAPE.....</b>	<b>167</b>
	<b>ANNEXE IV: EVALUATION DE LA PERMEABILITE A L'AIR DE LA GAZE.....</b>	<b>169</b>
	<b>ANNEXE V: METABOLISME BASAL.....</b>	<b>171</b>
	<b>ANNEXE VI: INFLUENCE DU VOL SUR LE METABOLISME.....</b>	<b>175</b>
	<b>ANNEXE VII: POIDS MOYENS DES INDIVIDUS AYANT VOLES OU NON.....</b>	<b>177</b>
	<b>ANNEXE VIII: INFLUENCE DE LA PHEROMONE SUR LE METABOLISME.....</b>	<b>179</b>
	<b>ANNEXE IX: COMPARAISON DES POPULATIONS.....</b>	<b>181</b>
	<b>REMERCIEMENTS.....</b>	<b>183</b>



## Résumé

Les vers de la grappe *Eupoecilia ambiguella* Hb. et *Lobesia botrana* Den. et Schiff. (*Lepidoptera, Tortricidae*) sont les principaux ravageurs des vignobles européens. Les larves engendrent des dégâts directs en se nourrissant des organes reproducteurs de la plante, et indirects en favorisant l'infection des baies de raisins par des pathogènes saprophytes. Cela entraîne des pertes économiques importantes. La confusion sexuelle est une méthode alternative aux insecticides pour contrôler les populations des vers de la grappe. Elle présente toutefois certaines limites d'application tant au niveau économique que pratique. C'est dans l'objectif de pallier ces limites que s'inscrit ce travail par l'ébauche d'un attracticide, l'appréciation de l'efficacité de ce type de lutte et l'évaluation de l'impact des composés phéromonaux sexuels sur la physiologie de l'insecte.

Les essais comparatifs de piégeage réalisés en vignoble et les observations faites en tunnel de vol à l'aide de sources contenant différentes charges en phéromones ne permettent pas de déduire la quantité optimale à utiliser dans un appât attracticide. Ils soulignent la difficulté de combiner le contact de l'insecte avec la source et la rémanence de l'attractivité sur l'ensemble de la saison. Les deux espèces étudiées présentent des comportements différents face aux charges phéromonales exposées. Les charges relativement élevées semblent plus attractives pour *E. ambiguella*, tandis que *L. botrana* tend à s'orienter vers des charges plus faibles. Les faibles densités de populations de vers de la grappe généralement présentes dans les vignobles engendrent des difficultés pour l'évaluation de nouvelles méthodes de lutte. L'utilisation d'une petite cage offre désormais une méthode simple, rapide, fiable et peu coûteuse pour mesurer l'influence des phéromones sexuelles sur l'accouplement des insectes. Pour cela, huit couples de vers de la grappe sont exposés, durant une nuit, dans une enceinte cubique 35 cm de côté installée au centre d'un vignoble, traité ou non par l'application de phéromones sexuelles. Le dénombrement des spermatophores issus de l'accouplement permet d'évaluer l'influence de ces composés phéromonaux sur le comportement de reproduction. Ces résultats donnent désormais des indices objectifs sur l'efficacité du mélange testé et l'intérêt d'installer des essais à grande échelle. Au cours des essais pour élaborer ces cage, il a pu être démontré que l'augmentation du taux d'émission par des appâts phéromonaux entraîne une diminution des accouplements. Bien que l'impact des phéromones sexuelles sur le comportement d'accouplement des insectes ait suscité un vif intérêt chez les chercheurs, peu se sont intéressés à l'effet de ces composés sur la physiologie de ces insectes. Aussi, l'approche plus

fondamentale de ce travail fournit des informations concernant le vol, la physiologie et le métabolisme énergétique de *L. botrana*. L'important potentiel de vol de *L. botrana* a été mis en évidence à l'aide des méthodes du carrousel de vol et du tunnel de vol. Avec une durée de vol moyenne de 12 minutes sans pause, *L. botrana* peut parcourir jusqu'à 35 kilomètres sur 24 heures d'observation. Les conséquences de ce vol observées sur le métabolisme et la physiologie de l'insecte montrent une diminution significative des réserves énergétiques. Mesurés par spectrophotométrie, les lipides semblent être les principaux carburants utilisés par *L. botrana* pour répondre à la demande énergétique du vol, avec une concentration en lipides totaux représentant un cinquième de la masse de l'organisme. L'exposition à la phéromone indique une tendance non significative à la réduction de ces réserves. La charge énergétique cellulaire, calculée à l'aide de la quantification des adénylates par HPLC, augmente durant les stades de croissance de l'insecte, puis diminue brusquement au moment de l'émergence de l'adulte. Elle tend à se stabiliser tout au long de ce stade, pour chuter de manière importante au moment de la mort lorsque les réserves énergétiques disponibles sont épuisées. Cependant, cette étude n'a pas permis de mettre en évidence l'influence du vol et de l'exposition à la phéromone sur l'état énergétique cellulaire de l'insecte.

Les résultats obtenus dans ce travail offrent de nouvelles perspectives pour l'élaboration et l'évaluation de l'attractivité d'appâts contenant des composés sémiochimiques. Les méthodes développées peuvent apporter des informations sur le comportement des insectes utiles pour la pratique, mais également en recherche fondamentale.

**Mots clés:** *Lobesia botrana*, *Eupoecilia ambiguella*, confusion sexuelle, charge phéromonale, tunnel de vol, piégeage, cage, accouplement, carrousel de vol, potentiel de vol, HPLC, métabolisme, réserves énergétiques, charge énergétique.

## Summary

The grape moths *Eupoecilia ambiguella* Hb. et *Lobesia botrana* Den. et Schiff. (Lepidoptera, Tortricidae) are the two main pests of European vineyards. By feeding on the reproductive organs of plants larvae can harm vines directly and indirectly. The latter is provoked by favouring the infection of berries with pathogenic saprophytes and these infections can cause major economic losses. Mating disruption is a well established alternative to insecticides for controlling the two pest species. However, this control method presents some limits in terms of application and expenses. The aim of this work was to recoup these limits by developing an attracticide, by facilitating the evaluation of mating disruption's efficiency and by quantifying the impact of sex pheromones on the physiology of insects.

The disposal of pheromone traps in vineyards and the observations made in a wind tunnel did not allow determining the optimal pheromone concentration deployed in an attracticide. My results emphasise the difficulty between deploying a pheromone lure that permits the contact of insects with the source and the persistence of the lure over the season. Moreover, the two grape moths behave dissimilar confronted with different pheromone concentrations. *Eupoecilia ambiguella* seems to be attracted by high concentrations, whereas *L. botrana* prefers low pheromone loads. Low population densities of grape moths in vineyard pose difficulties to assess new control approaches. The use of a small cage may present a fast, simple and cheap method to evaluate the impact of sex pheromones on insect mating. By exposing eight couples of grape moths for one night in cages of 35 cm side length that are installed in the centre of pheromone treated and untreated vineyards, the impact of pheromones on mating can be assessed by the count of the number of dissected spermatophores. Experiments showed that this novel evaluation method offers a fast and reliable way to measure the impact of pheromones on insect mating. The obtained results may help predicting the value/use of the setup of large-scale field trials. The development of these small field cages also demonstrated that mating suppression increases with the emission rate of pheromone lures. Even though the impact of sex pheromones on mating is well understood, little information is available on their effect on the physiology of insect. This work bridges some of these gaps and provides some more fundamental insights on the flight, physiology and metabolism of *L. botrana*. Tests conducted with a flight mill and in a wind tunnel showed that *L. botrana* can fly up to 12 minutes without a break and that they can cover a distance of 35 kilometres per day. In addition, flight affects insect physiology and metabolism by

decreasing the energetic reserves. Spectrophotometry indicated that lipids are the principal source powering the flight of *L. botrana*. The total amount of lipids can account for a fifth of the fresh weight of adults. However, the exposure of insects to sex pheromones did not significantly decrease these energetic reserves. The energetic charge of moths, calculated by the quantification of adenylates with an HPLC, increases during larval development for sharply decreasing at the emergence of adults. The energetic charge of adults seems to be stable and falls drastically at death. However, flight and the exposure to pheromones had no effect on the energetic charge of *L. botrana* males.

The results obtained in this thesis provide new perspectives in the development and assessment of semiochemical lures. The elaborated methods may deepen our understanding of insect behaviour and the knowledge gained may be of valuable use in fundamental and applied research.

**Key words:** *Lobesia botrana*, *Eupoecilia ambiguella*, mating disruption, pheromone load, wind tunnel, trapping, cage, reproduction, flight mill, flight potential, HPLC, metabolism, energetic reserves, energetic charge.

## Liste des abréviations

ADP: Adénosine diphosphate

AMP: Adénosine monophosphate

ATP: Adénosine triphosphate

CE: charge énergétique

FP: flavoprotéine

h: heure/hauteur selon contexte

HPLC: High pressure liquid chromatography

HR: humidité relative

l: largeur

L: longueur

m: mètre

m/s: mètre par seconde

MEB: microscope électronique à balayage

MV: matière vivante

NAD: nicotinamide adénine dinucléotide

NROs: neurones récepteurs olfactifs

Ø: diamètre

OBP: odorant-binding proteins

OIV: Organisation internationale de la vigne et du vin

PBAN: Pheromone Biosynthesis Activating Neuropeptide

Pi: Phosphate inorganique



# 1. Introduction Générale

## 1.1. La vigne et ses ravageurs

L'histoire de la vigne et du vin est si ancienne qu'elle se confond avec l'histoire de l'homme. La Bible fait remonter la culture de la vigne à Noé, qui "fut le premier agriculteur" à la cultiver. Les caractères historiques et ecclésiastiques de cette culture ont perpétué la plantation et la consommation des produits de la vigne à travers les siècles (Galet, 2000). Qu'elle soit en production ou non, sa présence s'étend sur un peu plus de 7.8 millions d'hectares dans le monde (Figure 1.1).



Figure 1.1: Carte de distribution mondiale de la vigne (selon données OIV 2008).

*Vitis vinifera* L. (*Rhamnales: Vitacea*) est la seule espèce de vigne cultivée sur la zone eurasiatique pour la production de vin, de raisins de table et de raisins secs. Sa culture s'étend sur 4.9 millions d'hectares depuis les bords de la Méditerranée jusqu'à sa limite climatique nord au niveau du 50<sup>ème</sup> parallèle (Simon *et al.*, 1992). Principalement sélectionnée pour ses qualités organoleptiques depuis l'antiquité, la vigne est sensible à un grand nombre d'agents pathogènes et ravageurs qui affectent sa production et sa pérennité. Depuis ces deux derniers siècles, l'apparition de l'oïdium, du mildiou et du phylloxera font de la vigne une des cultures les plus sensibles nécessitant le plus d'application de produits phytosanitaires. Au cours de l'année 2004, en Europe, 1'300 tonnes de matières actives furent appliquées pour protéger la

vigne des ravageurs (Thiéry, 2005). L'utilisation intensive de produits insecticides fait apparaître chez des populations cibles des résistances aux matières actives, mais également des effets néfastes sur la santé humaine (Baldi et Lebailli, 2007; Heudorf *et al.*, 2003; Zeljezic *et al.*, 2008) et l'environnement (Borneck et Bricout, 1984; Tasei et Rivière, 1996). L'agriculture d'aujourd'hui doit prendre en considération ces paramètres et développer de nouvelles techniques culturales pour devenir durable. C'est dans cet objectif que s'inscrit le développement de nouvelles méthodes de lutte basées sur l'emploi de produits biologiques et biotechniques telle que la confusion sexuelle utilisée pour maîtriser les populations de vers de la grappe *Eupoecilia ambiguella* (Hübner) et *Lobesia botrana* (Denis et Schiffermüller) (*Lepidoptera*, *Tortricidae*). Ces deux ravageurs sont considérés, depuis la résolution des problèmes causés par le phylloxera, comme les principaux ravageurs de la vigne cultivée en Europe (Roehrich et Boller, 1991; Arn et Louis, 1995; Stockel, 2000).

## 1.2. Systématique

La cochyliis de la vigne, *Eupoecilia ambiguella*, appelée en anglais « European grape berry moth », et l'eudémis, *Lobesia botrana*, « Grape vine moth », sont des microlépidoptères hétérocères. Les papillons hétérocères, généralement nocturnes, se distinguent des papillons rhopalocères diurnes par leurs ailes souvent de couleurs ternes repliées en toit et par leurs antennes filiformes sétiformes ou pectinées (Benz *et al.*, 1987).

Ces insectes appartiennent à l'ordre des *Lepidoptera*, famille des *Tortricidae*. La cochyliis appartient à la sous-famille des *Tortricinae*, de genre *Eupoecilia* contenant quatre espèces dont *E. ambiguella* (Razowski, 2001). L'eudémis appartient à la sous-famille des *Olethreutinae*, de genre *Lobesia* dont font partie 17 espèces dont *L. botrana* (Razowski, 2001).

## 1.3. Distribution géographique et historique

### 1.3.1. *Eupoecilia ambiguella*

La cochyliis *E. ambiguella* est une tordeuse paléarctique dont l'aire géographique dépasse largement vers le nord celle de la vigne cultivée. Elle est répandue sur la plus grande partie du continent européen, des rivages de la Méditerranée jusqu'au sud de la Scandinavie. On la retrouve dans tous les pays d'Europe centrale jusque dans les régions asiatiques (Bovey, 1966). La cochyliis existait certainement en Europe bien avant l'introduction de la culture de

la vigne. Elle y vivait aux dépens des plantes sauvages, encore seules nourricières dans la partie septentrionale de son aire géographique (Bovey, 1966). Elle a probablement joué un rôle comme ravageur de la vigne dès l'introduction de cette culture en Europe moyenne. Au fur et à mesure que la viticulture s'y est développée, l'importance du ravageur a augmenté parallèlement. Plusieurs textes d'auteurs allemands font allusion aux dégâts de « Würmer », ce qui permet de supposer que cette tordeuse était déjà très nuisible au 15<sup>ème</sup> et 16<sup>ème</sup> siècle (Bovey, 1966). En raison de l'ancienneté et de la gravité de ses dégâts, la cochylis est l'un des premiers insectes nuisibles dont la connaissance de la biologie et du comportement a été une nécessité en vue de le combattre (Bovey, 1966). C'est Bonnet, en 1740, qui donna la première description des dégâts causés dans le vignoble par la chenille rougeâtre de cette tordeuse. Elle fut décrite en 1796 par Hübner sous le nom de *Tinea ambiguella* (Bovey, 1966).

### 1.3.2. *Lobesia botrana*

L'eudémis *L. botrana* est une espèce paléarctique dont l'aire de distribution est beaucoup plus limitée que celle de la cochylis. Celle-ci ne dépasse pas la limite nord de la culture de la vigne. On la retrouve principalement en Europe méridionale et centrale, en Afrique du Nord, au Proche-Orient, en Asie mineure et dans le Caucase (Bovey, 1966). Plus prolifique que *E. ambiguella* dans des conditions chaudes et sèches, *L. botrana* est l'espèce prédominante dans le vignoble méridional. L'eudémis fut décrit pour la première fois en 1776 en Autriche par Denis et Schiffermüller. Puis Jaquin, en 1788, la mentionna comme nuisible aux vignes des environs de Vienne (Galet, 1982). Dès lors elle se propagea de plus en plus, et se montra plus dangereuse que la cochylis. Les premiers ravages de l'eudémis n'ont été signalés que dans le courant du 19<sup>ème</sup> siècle ou dès le début du 20<sup>ème</sup> siècle selon les régions. Son adaptation à la vigne cultivée et sa dispersion dans les vignobles européens sont donc relativement récentes, et correspondraient, chez cet insecte, à une adaptation secondaire due à une attraction massive provoquée par la vigne cultivée aujourd'hui sur des milliers d'hectares (Balachowsky et Mesnil, 1935; Bovey, 1966; Galet, 1982).

#### 1.4. Morphologie

Très comparables par leur taille, 6 à 8 mm, au point de vue morphologique *E. ambiguella* et *L. botrana* sont facilement distinguables par leur couleur que ce soit au stade larvaire ou au stade adulte (Table 1.1). La larve d'*E. ambiguella* est de couleur rougeâtre et possède une capsule céphalique noire. Au stade imago, le papillon est reconnaissable par ses ailes antérieures jaunes-ocres barrées d'une bande brunâtre (Figure 1.2). De couleur jaune verdâtre à brun clair, la larve de *L. botrana* possède une capsule céphalique beaucoup plus claire tendant vers les bruns. Les ailes antérieures de l'imago sont marbrées de taches sombres et ocres (Figure 1.2).

Table 1.1: Caractères principaux des vers de la grappe *E. ambiguella* et *L. botrana* (selon Bovey, 1966; Baggiolini, 1979; Stockel, 2000).

<i>Stades</i>	<i>E. ambiguella</i>	<i>L. botrana</i>
<b><i>Oeuf</i></b>	de forme lenticulaire; 0.6 à 0.9 mm d'abord jaunâtre; devient gris translucide; puis apparaît la capsule céphalique au terme du développement de la néonate	
<b><i>Larve</i></b>		
longueur à son complet développement	10 à 12 mm	10 à 11 mm
couleur	rougeâtre; capsule céphalique noire	jaune verdâtre à brun clair; capsule céphalique brun clair
mouvement	assez lent	très vif
<b><i>Chrysalide</i></b>		
longueur	5 à 8 mm	4 à 7 mm
couleur	brun clair; large	brun olive; fine
<b><i>Imago</i></b>		
Longueur / envergure	7 à 8 mm / 12 à 15 mm	6 à 7 mm / 10 à 13 mm
coloration	ailes antérieures jaunes-ocres, barrées d'une bande brunâtre	ailes antérieures marbrées de taches sombres et ocres

*Eupoecilia ambiguella*

*Lobesia botrana*

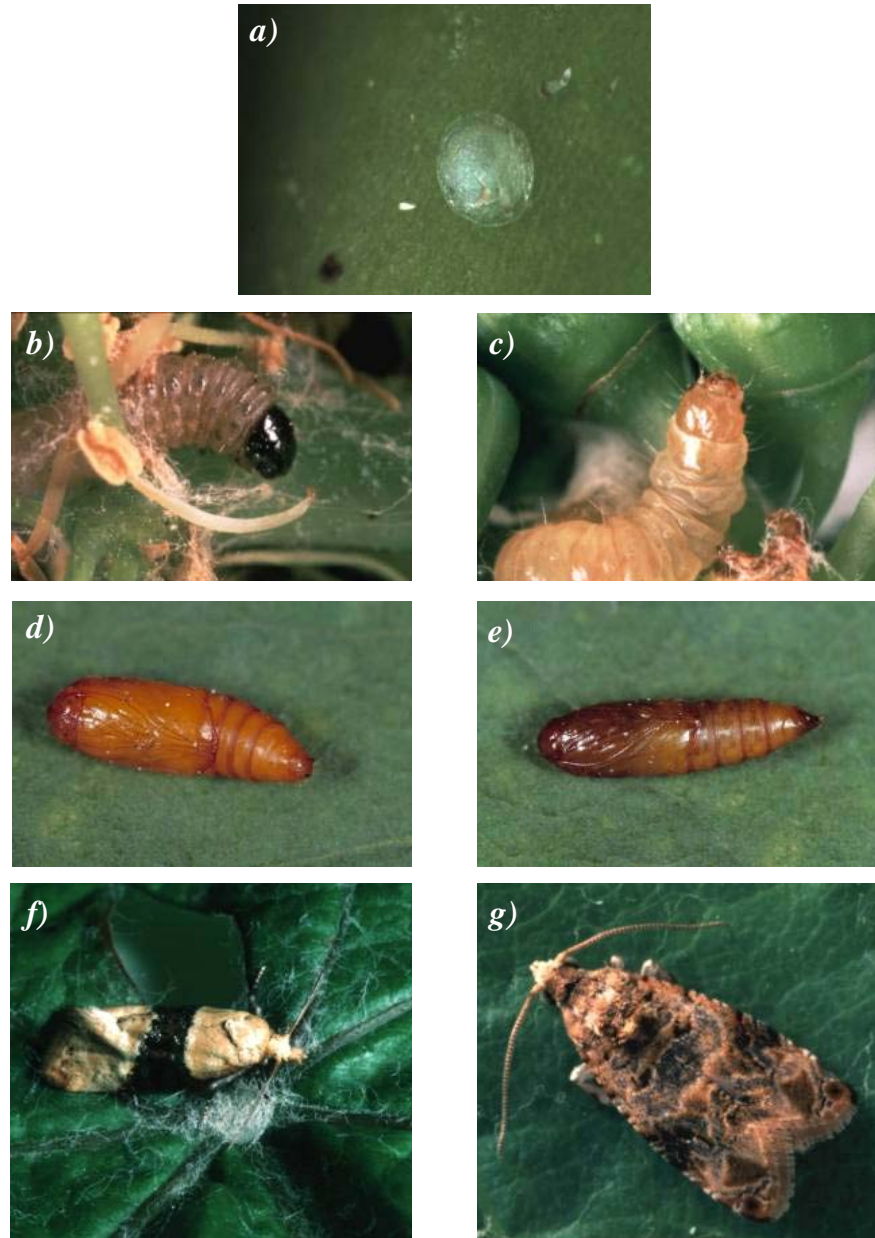


Figure 1.2: Stade de développement des vers de la grappe (Source ACW): a) œufs sur feuille de vigne; b-d-f) *E. ambiguella*; c-e-g) *L. botrana*; b-c) Chrysalide; d-e) Larve; f-g) Imago.

## 1.5. Biologie

Bien qu'éloignées spécifiquement l'une de l'autre dans la classification des *Tortricoidea*, *E. ambiguella* et *L. botrana* présentent beaucoup de traits communs dans leur cycle évolutif et leur comportement (Bovey, 1966).

### 1.5.1. Plantes hôtes

Ces ravageurs sont polyphages (Bovey, 1966). Ils ne sont pas inféodés à la vigne et leur cycle s'accomplit normalement sur un grand nombre de plantes sauvages (Balachovsky et Mesnil, 1935). La plupart de ces plantes sont communes aux deux espèces (Bovey, 1966). Plus de 40 espèces sont répertoriées comme plantes hôtes appartenant à des familles différentes (Balachovsky et Mesnil, 1935; Gabel et Thiéry, 1994), notamment: *Vitis sp.*, *Cornus sp.*, *Lonicera sp.*, *Viburnum sp.*, *Ribes sp.*. *Daphne gnidium* est une plante hôte spécifique à l'eudémis, considérée comme une plante hôte primitive de ce ravageur (Bovey, 1966). Cependant, la vigne représente l'hôte le plus disponible grâce à la longue période de floraison-fructification leur permettant de réaliser le cycle biologique dans sa totalité (Galet, 1982).

### 1.5.2. Accouplement

La femelle est la première à initier la parade nuptiale en déployant ses ailes et émettant un attractif sexuel spécifique. Stimulé par le faisceau odoriférant, le mâle déclenche un comportement de recherche caractéristique de nombreuses espèces (Schmieder-Wenzel et Schruft, 1990). Le comportement d'accouplement se traduit ensuite par une succession d'événements qui aboutit à l'acceptation du mâle par la femelle se concluant par l'accouplement (Schmieder-Wenzel et Schruft, 1990). Le transfert du sperme à la femelle est un processus différent de celui de la fertilisation des œufs. Le mâle injecte ses spermatozoïdes par l'intermédiaire d'un « spermatophore » gélatineux qui les contient (Figure 1.3c-f). Ce dernier glisse jusqu'à la « bourse copulatrice » de la femelle (Figure 1.3b-e). Un très fin conduit permet aux spermatozoïdes de migrer de la « bourse » vers la spermathèque où ils sont stockés pour féconder les ovules (Chapman, 1975). Lors de la dissection des genitalia de la femelle, on observe souvent des vestiges de "spermatophores", résultant des accouplements successifs de la femelle durant sa vie.

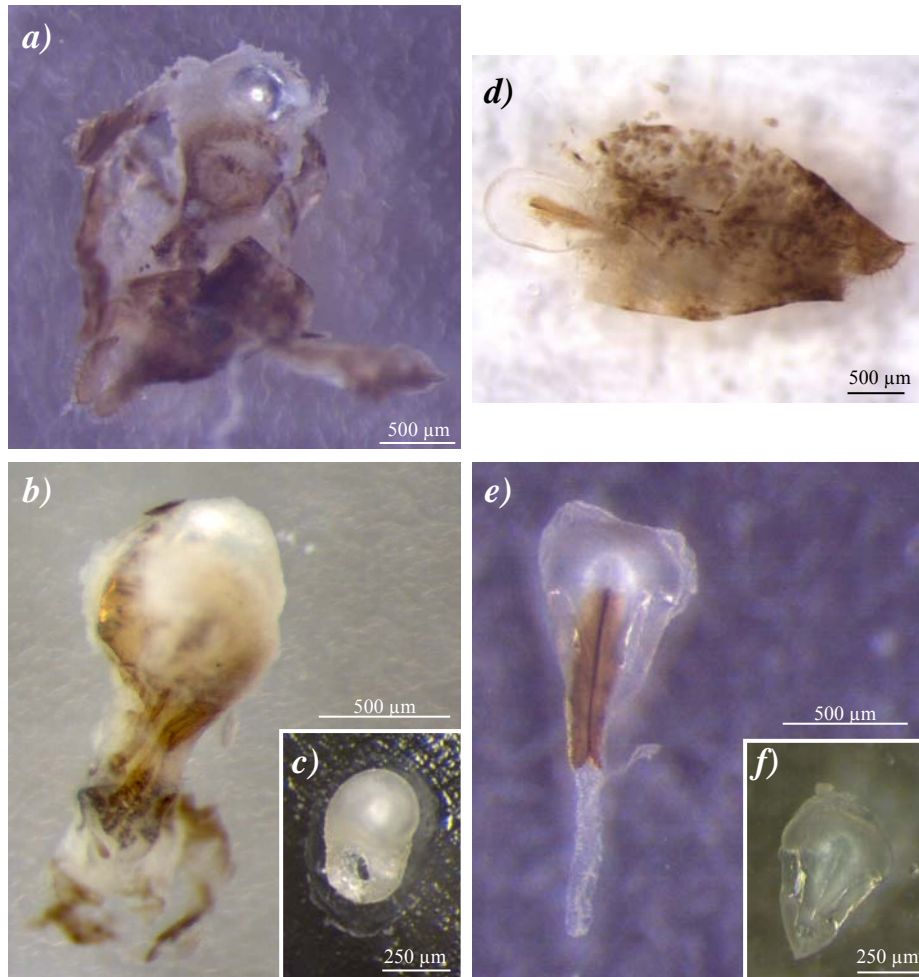


Figure 1.3: Système reproducteur femelle de *E. ambiguella* (a-c) et *L. botrana* (d-f). a-d) extrémité de l'abdomen contenant la bourse copulatrice; b-e) bourse copulatrice contenant un spermatophore; c-f) spermatophore.

### 1.5.3. Cycle biologique

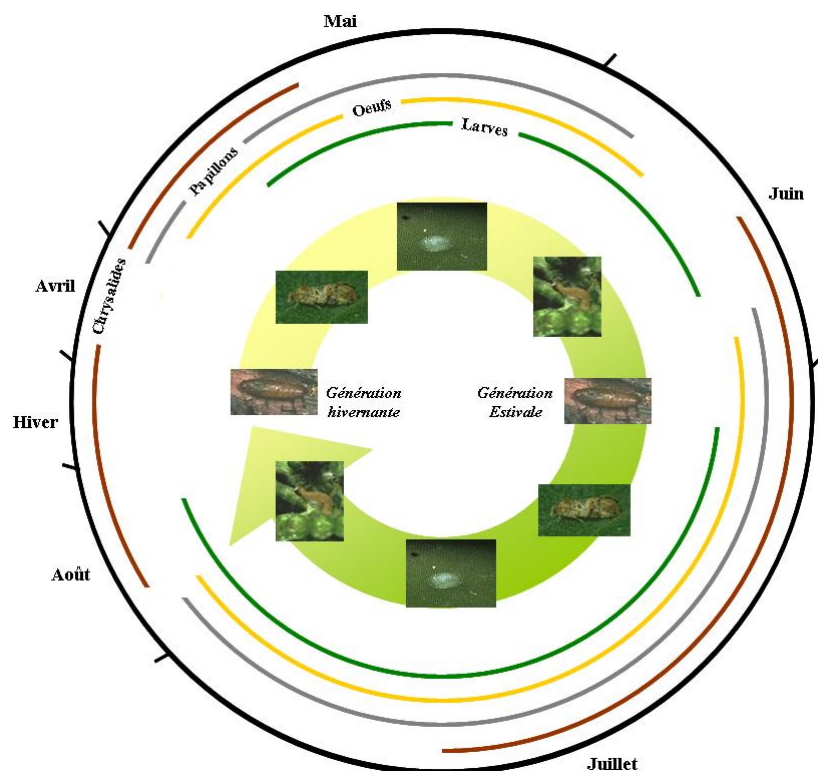


Figure 1.4: Cycle biologique des vers de la grappe basé sur 2 générations par année (Photos Source INRA).

Les développements d'*E. ambiguella* et *L. botrana* sont très liés à la température (Bovey, 1966). Les papillons issus des chrysalides hivernantes apparaissent fin avril, début mai. La durée du premier vol dure deux à trois semaines (Figure 1.4). De mœurs nocturnes, l'activité dépend assez étroitement des conditions météorologiques et en premier lieu de la lumière. *Eupoecilia ambiguella* commence à se manifester au milieu de la nuit et prolonge son vol jusqu'à l'aube. Chez *L. botrana*, l'activité débute au coucher du soleil pour atteindre son maximum peu avant minuit et se poursuivre dans la nuit. Au moment du vol, les femelles attirent les mâles par l'émission de phéromones afin de s'accoupler. La ponte débute un à deux jours après l'accouplement, avant et pendant le vol. Elle se déroule à intervalle de deux à trois jours, où se succèdent des périodes de ponte et des périodes de repos nécessaires à la maturation de nouveaux œufs. La femelle peut pondre 40 à 80 œufs (Bovey, 1966; Galet, 1982). Les œufs de première génération sont déposés individuellement sur les ébauches florales (bractées et boutons floraux), les tiges vertes des sarments et plus rarement sur les feuilles (Bovey, 1966; Galet, 1982; Thiery et Gabel, 2000). Après 7 à 11 jours de développement, la néonate perfore la face superficielle de l'œuf pour en sortir (Stockel,

2000). Elle va ensuite choisir un site où s'établir et construire un fourreau de soie en accolant plusieurs boutons floraux formant un glomérule (Figure 1.5).



Figure 1.5: Tissage formé par la larve d'*E. ambiguella* pour former un glomérule (Source ACW).

Les inflorescences attaquées vont avorter et faner (Galet, 1982). La chenille passe par cinq stades larvaires. Au terme du dernier stade, elle s'écarte de son glomérule et tisse un fourreau de soie qu'elle fixe à proximité sur la grappe ou le revers de la feuille pour s'y métamorphoser. Après une durée moyenne de nymphose de sept jours chez *L. botrana*, soit deux à trois jours de moins que chez *E. ambiguella* (Galet, 1982), apparaissent les papillons du deuxième vol, généralement aux environs de mi-juillet. Dans les conditions naturelles, les femelles émergent toujours quelques jours après le mâle (protandrie) (Galet, 1982). Le second vol dure trois à cinq semaines selon les conditions climatiques (Baggiolini, 1979). Les pontes issues de l'accouplement des individus de la première génération sont déposées d'une façon plus exclusive sur les baies vertes. En raison des températures estivales élevées, la durée d'incubation ne dépasse pas sept à 10 jours (Bovey, 1966; Galet, 1982; Thiery et Gabel, 2000). Après éclosion, la chenille pénètre dans un organe fructifère, au point de contact entre deux baies. A son complet développement, la chenille migre vers les ceps de vigne pour rechercher un lieu de diapause pour passer l'hiver et s'y nymphoser sous les écorces ou sur les échelas dans un cocon de soie tissé (Bovey, 1966; Galet, 1982). Les conditions microclimatiques qui règnent durant le vol exercent une grande influence sur la longévité et l'activité des papillons, et par conséquent sur l'intensité de la ponte et sur la dynamique des populations.

Les périodes de vol saisonales de ces deux ravageurs sont synchrones. En vignoble, *E. ambiguella* est une espèce bivoltine (Bovey, 1966). Multyvoltine sous nos latitudes,

*L. botrana* réalise deux à trois générations par année selon les conditions climatiques, la troisième génération étant bien souvent partielle (Bovey, 1966).

## 1.6. La communication chez les insectes

Pour l'insecte comme pour toutes les espèces animales, l'échange de signaux entre les individus et la prise d'informations sur le milieu sont des enjeux vitaux. Cette communication implique l'émission active de signaux, leur diffusion dans le milieu, et leur détection par des organes sensoriels spécialisés.

Les insectes transmettent les informations aux moyens de signaux visuels, auditifs, olfactifs (chimiques) et tactiles. Les messages échangés doivent être précis, fiables et spécifiques car beaucoup de comportements, comme la recherche d'un partenaire ou d'un hôte, sont sélectifs et orientés (Renou, 2007).

### 1.6.1. Types de médiateurs pour la communication chimique

Les substances intervenant dans les interactions entre organismes comme médiateurs chimiques, caractérisées par le terme « sémiochimiques », peuvent être émises par la plante ou l'insecte. Ces stimuli sont groupés en deux catégories distinctes: les phéromones et les substances allélochimiques, selon que les interactions sont respectivement intra- ou interspécifiques (Whittaker et Feeny, 1971). Ces dernières se répartissent en plusieurs catégories: les allomones, les kairomones et les synomones. Les allomones sont des substances produites ou acquises par un organisme et induisent chez l'espèce réceptrice une réponse comportementale ou physiologique favorable à l'émetteur, et non au récepteur (telles que les substances défensives pour tenir à l'écart le prédateur éventuel) (Brown *et al.*, 1970). Au contraire, les kairomones sont bénéfiques au récepteur du stimulus et non à l'émetteur (sécrétion détectée par les prédateurs ou parasites) (Brown *et al.*, 1970). Le terme synomone est utilisé lorsque le médiateur chimique est responsable d'interactions mutuelles (odeurs de plantes qui indiquent une source de nectars à l'insecte qui à son tour assurera la pollinisation de la fleur) (Howse *et al.*, 1998).

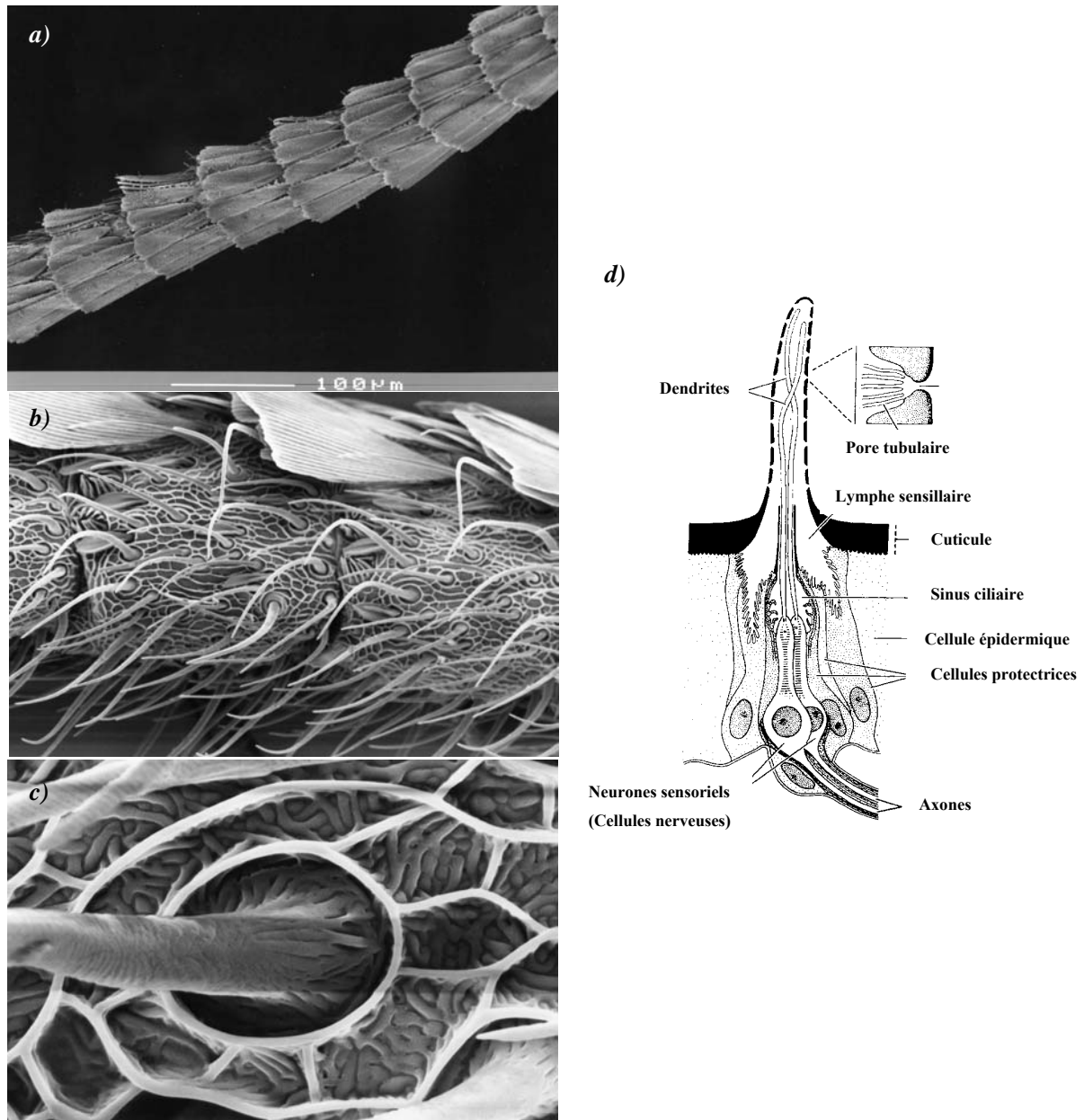
Le terme de phéromones a été défini par le biochimiste allemand Peter Karlson et l'entomologiste suisse Martin Lüscher en 1959 à partir des racines grecques : *pherein* (transporter) et *hormon* (exciter) (Howse *et al.*, 1998). Ainsi, les phéromones furent définies comme des substances sécrétées par des individus A et qui, reçues par des individus B de la

même espèce, provoquent une réaction spécifique, un comportement ou une modification biologique. On distingue deux types de phéromones intervenant dans la communication chimique définis essentiellement à partir des observations d'insectes: les phéromones incitatrices agissant sur le comportement (telles que les phéromones d'agrégation, d'alarme et sexuelle) et les phéromones modificatrices, qui agissent sur la biologie (telles que la synchronisation de la maturité au sein d'une population). Chez beaucoup d'insectes, et en particulier chez les lépidoptères, la fonction des phéromones joue principalement le rôle d'attractif sexuel permettant à l'un des sexes de trouver sa/son partenaire sur de très longues distances (Chapman, 1975).

### 1.6.2. *Transmission du signal*

Chez l'insecte, l'olfaction contribue à la survie de l'espèce. Elle permet à l'animal de trouver sa nourriture, d'identifier ses partenaires sexuels et de choisir une plante hôte pour déposer ses œufs (Belmabrouk *et al.*, 2008). Le système olfactif chez les insectes est impliqué dans la filtration des milliers de molécules odorantes mélangées à l'information principale. Ces odeurs sont perçues par des récepteurs sensoriels et affectent le comportement de l'insecte via le système nerveux central. L'information olfactive transportée par les molécules odorantes est captée, puis transformée en potentiel d'action par les sensilles (Howse *et al.*, 1998).

Des milliers de sensilles recouvrent les branches antennaires et répondent de façon spécifique à une molécule chimique ou à une famille de molécules chimiques, ce qui explique la grande diversité morphologique (Howse *et al.*, 1998). Sur la base de leur spécificité chimiosensorielle, on reconnaît plusieurs types de sensilles olfactives telles que les sensilles trichodéiques, larges, épaisses et allongées (25-35 mm), impliquées dans la réception des molécules de phéromone sexuelle et largement répandues sur l'antenne des mâles et notamment chez les papillons de nuit. Par ailleurs, les sensilles basiconiques sont plus petites (15-25 mm), présentes dans les deux sexes chez une grande variété d'insectes, impliquées dans la reconnaissance de molécules odorantes généralistes (les molécules volatiles des plantes, des œufs ou des larves) (Schneider; 1964; Howse *et al.*, 1998). Toutes ont une architecture commune (Figures 1.6).



Elles consistent en un système de pores tubulaires qui connecte le milieu extérieur à la lumière sensillaire renfermant les dendrites des neurones récepteurs olfactifs (NROs) dont les axones se projettent dans les lobes antennaires du cerveau. Les pores cuticulaires et l'entrée des molécules odorantes sont séparées des cellules nerveuses cibles par un fluide aqueux protecteur, la "lymphe sensillaire". Cette lymphe constitue une véritable barrière pour les molécules odorantes très hydrophobes. Le processus par lequel le stimulus est converti en potentiel d'action implique de nombreuses étapes. Pour traverser la lymphe et atteindre les neurones sensoriels, des petites protéines acides, très concentrées, permettent le transport des molécules odorantes. Ces protéines, qui se lient aux molécules odorantes à la périphérie des neurones olfactifs, sont appelées "odorant-binding proteins" (OBP) (Pelosi, 1994). Les "odorant-binding proteins" sont des chaînes polypeptidiques simples (environ 150 acides aminés) caractérisées par six cystéines reliées par trois ponts disulfures, donnant aux "odorant-binding proteins" une structure spécifique (Sandler *et al.*, 2000). Lorsque les tubules cuticulaires sont au contact direct des neurones sensoriels à l'intérieur de la sensille, les molécules odorantes débouchant du tubule activent les récepteurs moléculaires olfactifs, les "odorant-binding proteins" agissent alors en inhibiteurs précoces, libérant le récepteur des molécules odorantes et présentant ces molécules aux enzymes de dégradation (Vogt et Riddiford, 1981). Une fois que les molécules odorantes ont pénétré à l'intérieur de la sensille, plusieurs interactions sont alors possibles, conduisant soit à l'activation du récepteur, soit à l'inactivation et à l'élimination de la molécule odorante par une enzyme de dégradation, l'estérase sensillaire.

Au niveau du site récepteur, la molécule odorante se lie à une protéine G couplée aux récepteurs olfactifs. Ce pont initie une cascade d'événements au niveau de la dendrite générant l'ouverture des pores ioniques engendrant un flux de  $K^+$  et  $Ca^{2+}$ . Il en résulte un potentiel d'action se propageant via le neurone le long du lobe antennaire (Jacquin-Joly et Merlin, 2004). Le lobe antennaire est constitué de nombreux neurones récepteurs olfactifs qui convergent dans des structures nommées glomérules, dont le nombre peut varier selon les espèces. Chaque glomérule ne reçoit d'informations que d'un seul type de neurone récepteur. Généralement, les insectes mâles possèdent des glomérules plus gros, spécifiquement dédiés à la reconnaissance de la phéromone sexuelle émise par la femelle. Ces macroglomérules, forment un complexe macroglomérulaire avec les glomérules isomorphiques (Belmabrouk *et al.*, 2008). Ces derniers constituent uniquement le lobe antennaire de la femelle pour la reconnaissance des volatiles issus de plantes.

La liaison des molécules phéromonales aux récepteurs membranaires active la cascade de transduction olfactive. Elle regroupe des processus biochimiques (production de seconds messagers) et électriques (ouverture de canaux ioniques) qui génèrent une dépolarisation du neurone récepteur olfactif, le potentiel de récepteur. L'amplitude de cette dépolarisation est corrélée à la sensibilité du neurone pour l'odeur détectée et à sa dose ce qui correspond à un codage en amplitude (Rochat *et al.*, 2008). Au niveau du segment initial de l'axone, la dépolarisation du neurone ouvre des canaux ioniques sensibles au potentiel, générant ainsi l'émission de potentiels d'action soit un codage en fréquence. Le message olfactif est transmis par l'axone du neurone récepteur sous forme de potentiels d'action vers le centre primaire olfactif situé au niveau du cerveau, le lobe antennaire (Rochat *et al.*, 2008). Chaque neurone récepteur olfactif indique en temps réel au cerveau la détection d'un composé odorant donné et la fréquence de ses potentiels d'action en précise la quantité.

### 1.6.3. Le signal phéromonal chez *E. ambiguella* et *L. botrana*

Comme pour la majorité des lépidoptères, les femelles vierges d'*E. ambiguella* et *L. botrana* produisent un bouquet phéromonal pour attirer les mâles de son espèce. Sa production est sous la dépendance de la neurohormone PBAN (Pheromone Biosynthesis Activating Neuropeptide) produite dans le ganglion sous-oesophagien et entreposée dans les corps cardiaques (Raina *et al.*, 1989 ; Raina, 1997; Schal *et al.*, 1997). Le PBAN est libéré dans l'hémolymphe pour agir directement sur la glande à phéromone (Raina *et al.*, 1989) sauf chez certaines espèces de tordeuses nord-américaines, telle que *Argyrotaenia velutinana* où il agit sur la bourse copulatrice afin de favoriser l'émission d'un second peptide responsable de l'activation proprement dite de la glande à phéromone pour stimuler la synthèse du bouquet attractif (Raina, 1997).

Feytaud (1917) a été un des précurseur à observer l'attractivité des mâles de l'espèces *L. botrana* par les femelles de leur propre espèce (Iorriatti *et al.*, 2004). C'est au début des années 1970 que Roelofs *et al.* (1973) ainsi que Buser *et al.* (1974) ont identifié les premières composantes du bouquet phéromonal de *L. botrana*. Ainsi, 15 chaînes hydrocarbonées associées à des groupements alcools et acétates ont été mises en évidence dans les extraits de glandes des femelles de cette espèce. Seule la molécule (E,Z)-7,9-dodécadienyl acétate (E7,Z9-12:Ac) s'est montrée essentielle dans l'attractivité vis-à-vis des mâles. L'attraction des mâles s'est montrée améliorée par l'adjonction de deux composantes mineures que sont le (E,Z)-7,9-dodécadien-1-ol (E7,Z9-12:OH) et le (Z)-9-dodécényl acétate (Z9-12:Ac) (Arn *et*

*al.*, 1988; Witzgall et Arn, 1990; Witzgall, 1997; El-Sayed *et al.*, 1999) (Figure 1.7a). Ce mélange peut également être amélioré par l'addition d'autres composantes mineures du bouquet phéromonal: le (E)-9-dodécényl acétate, le  $\Delta$ 11-dodécényl acétate (El-Sayed *et al.*, 1999), (E)-7-dodécényl acétate (Bengtsson *et al.*, 2004). Ces composantes mineures présentent un effet synergique en présence de la composante principale.

Les études successives des effluves émises par *E. ambiguella* ont mis en évidence neuf composés alcools et acétates identifiés dans les extraits de glandes et d'effluves de *E. ambiguella* (Arn *et al.*, 1976; Saglio *et al.*, 1977; Arn *et al.*, 1988). Cependant, seuls trois d'entre eux sont considérés comme ayant un effet majeur dans le bouquet phéromonal. La principale composante, (Z)-9-dodécényl acétate (Z9-12:Ac) est le seul composé présentant une influence sur la réceptivité des mâles. Elle est nécessaire pour l'attraction des mâles. Deux autres composantes, le dodécyl acétate (12:Ac) et l'octadécyl acétate (18:Ac) ne sont pas attractives lorsqu'elles sont utilisées seules, mais leur ajout à la première augmente l'attractivité du mélange (Arn *et al.*, 1986; Rauscher *et al.*, 1984) (Figure 1.7b).

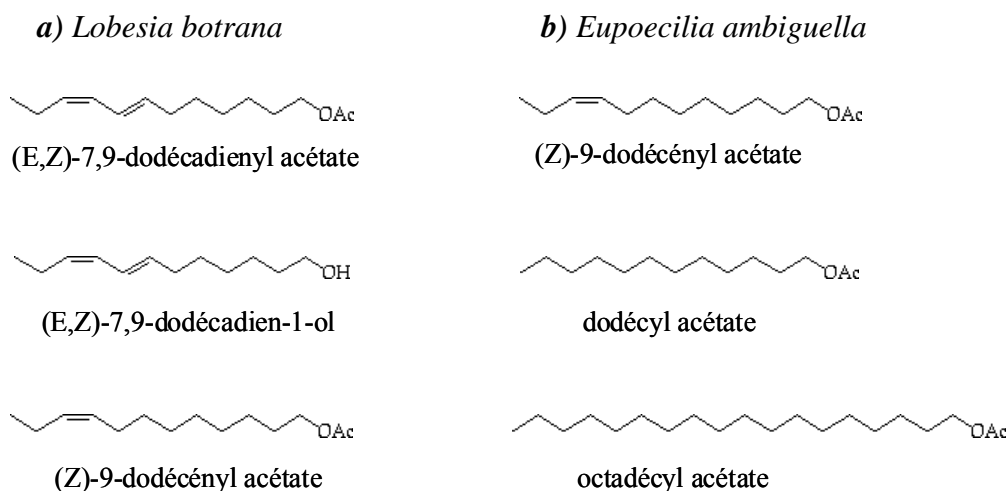


Figure 1.7: Structures chimiques des principales phéromones sexuelles de: a) *L. botrana*; b) *E. ambiguella*.

(Source Pherolist)

#### 1.6.4. La réponse comportementale aux phéromones sexuelles et autres odeurs

A une certaine distance de la source, les turbulences désagrègent le nuage odorant formant un nuage hétérogène et non filiforme (Murlis *et al.*, 1992; Vickers et Baker, 1994). Au fur et à mesure que le faisceau odoriférant s'éloigne de la source, les absences d'odeurs se multiplient

et le faisceau s'élargit (Murlis *et al.*, 1992). Lorsque le signal odoriférant est perçu par les récepteurs sensoriels et transmis au système nerveux central, l'insecte engage un vol anémotactique positif en réponse au mouvement de l'air et optomoteur. L'insecte se baserait alors sur la direction du vent transportant ces odeurs et/ou sur une orientation visuelle pour se rapprocher de la source recherchée. En raison des turbulences et des variations de concentration le long du faisceau phéromonal, la stratégie de vol est de progresser en zigzag sur un plan horizontal contre le vent afin d'augmenter les probabilités de rencontrer plusieurs faisceaux (Cardé et Knols, 2000; Justus *et al.*, 2002). Cette stratégie conduit parfois le mâle à s'éloigner de la source et sortir du faisceau phéromonal (Justus *et al.*, 2002). Il est à noter que l'hétérogénéité de la concentration des molécules odorantes des masses d'air est une condition pour que les mâles soutiennent leur progression contre le vent; ils ne continuent pas à voler contre le vent s'ils entrent dans un nuage odoriférant homogène, mais uniquement si ce nuage est alterné avec de l'air sans odeur spécifique (Baker *et al.*, 1985). En effet, en présence d'un nuage phéromonal homogène, le signal perçu par les récepteurs sensoriels est également homogène, engendrant un impact sur la transmission de l'information au système nerveux central (Justus et Cardé, 2002). Ainsi cette structure intermittente du signal a un rôle important dans l'initiation et le maintien en vol.

### 1.7. Le métabolisme énergétique du vol

Les muscles des insectes sont reconnus pour appartenir aux tissus les plus demandeurs en énergie, ce qui implique un métabolisme très élevé et soutenu durant le vol (Van der Horst *et al.*, 2002). Le vol exige beaucoup de puissance pour soulever l'insecte du sol et le conduire dans la direction souhaitée. Les forces exercées par les muscles du vol sont peu communes, et en raison des inefficacités chimiques et mécaniques, seule une petite proportion d'énergie dépensée par les muscles est effectivement disponible. Environ 80% de l'énergie consommée par les muscles est perdue sous forme de chaleur, et seule la moitié du travail mécanique effectué peut être aérodynamiquement utile. Par conséquent, 5 à 10% de l'énergie consommée par les muscles du vol contribuent réellement au vol. Le métabolisme d'un insecte pendant le vol est 50 à 100 fois plus élevé que celui d'un insecte au repos (Chapman, 1975; Kammer et Heinrich, 1978; Canavoso *et al.*, 2001). Toutefois ce niveau élevé de métabolisme dépend de nombreux paramètres, tels que la disponibilité en oxygène, la température adaptée des muscles du vol ou encore l'abondance de carburant pour le vol tel que les hydrates de carbone ou les lipides.

### **1.7.1. L'approvisionnement en oxygène**

Le vol des insectes dépend très majoritairement du métabolisme aérobie. L'oxygène est transporté vers les muscles du vol via le système trachéal, constitué de fines branches qui pénètrent profondément dans les fibres musculaires. Il peut arriver cependant, que durant le vol, la respiration cellulaire se fasse en anaérobie (Chapman, 1975).

### **1.7.2. La température du corps de l'insecte**

La température du thorax limite les transmissions d'informations venant du système nerveux central et les réactions métaboliques, et limite par conséquent le travail musculaire (Kammer et Heinrich, 1978). Durant cette phase, l'insecte doit produire de la chaleur pour réchauffer son organisme (Kammer, 1968). Aussi, durant la phase qui précède le vol, la demande en énergie et le métabolisme augmentent de manière exponentielle.

### **1.7.3. Les carburants pour le vol**

Les carburants fournissant l'énergie pour le vol varient selon les insectes. Chez les lépidoptères en général, et notamment ceux reconnus pour se nourrir occasionnellement par le nectar des fleurs ou la miellée lors de l'hydratation comme *E. ambiguella* et *L. botrana*, la production de l'énergie dépend majoritairement des graisses emmagasinées durant le stade larvaire (Chapman, 1975; Kammer et Heinrich, 1978; Beenackers *et al.*, 1985). Ils utilisent également les hydrates de carbone durant des vols de très courtes durées ou lors des premiers instants de vol plus soutenus (Beenackers *et al.*, 1985). Les réserves stockées dans les muscles du vol sont utilisées en priorité pour fournir de l'énergie. Mais chez la plupart des insectes, elles sont en quantité insuffisante et permettent de couvrir uniquement les besoins de vols très courts. Les carburants sont donc mobilisés dans les cellules de stockage des réserves nommées corps gras ou trophocytes. Le glycogène et les triacylglycérols sont respectivement les principales formes de stockage des hydrates de carbone et des lipides. La majorité des triacylglycérols sont des acide gras insaturés tels que l'acide palmitoléique, l'acide linoléique, l'acide oléique et l'acide palmitique (Buckner *et al.*, 2004). Ils constituent plus de 90% des lipides stockés (Beenackers *et al.*, 1985; Arrese et Wells, 1997; Buckner *et al.*, 2004).

#### 1.7.4. *La mobilisation des carburants*

L'hydrolyse des triacylglycérols est commandée par une triacylglycérol-lipase présente dans le cytosol des corps gras (Arrese et Wells, 1997). Le produit final de la lipolyse est le *sn*-1,2-diacylglycérol qui est relargué dans l'hémolymphe. Fixé sur une lipoprotéine, il a pour fonction de les transporter vers les autres tissus et notamment les muscles du vol (Arrese et Wells, 1997; Van der Horst *et al.*, 2002).

L'hydrolyse des triacylglycérols stockés dans les corps gras est régulée hormonalement par deux types d'hormones: l'octopamine (Canavoso *et al.*, 2001) qui régule la synthèse de l'hormone adipokinétique (AKH) (Beenackers *et al.*, 1985) dans les *corpora cardiaca*. L'hormone adipokinétique déclenche une réaction en cascade dépendante de la *cAMP*-kinase et de  $Ca^{2+}$  (Kammer et Heinrich, 1978; Canavoso *et al.*, 2001). L'action de l'hormone adipokinétique contribue à l'homéostasie de la concentration en sucre dans l'hémolymphe, mais également à la mobilisation du glycogène et des lipides dans les corps gras lors d'une activité demandeuse en énergie (Auerswald *et al.*, 2003; Gäde et Auerswald, 2003).

Issu majoritairement de l'oxydation du glycogène par des phosphorylases dans les corps gras, le tréhalose est la forme de transport des hydrates de carbone dans l'hémolymphe (Childress et Sacktor, 1970). Il représente une source de réserves importantes rapidement mobilisables. Il ne pénètre pas directement dans la cellule musculaire sous cette forme, mais est hydrolysé par une tréhalase en glucose. La concentration de l'hémolymphe en sucre est influencée par deux hormones hyperglycémique et hypoglycémique. La première est produite par les cellules intrinsèques neurosécrétrices des *corpora cardiaca*, la seconde par les cellules médiales neurosécrétrices du cerveau (Childress et Sacktor, 1970).

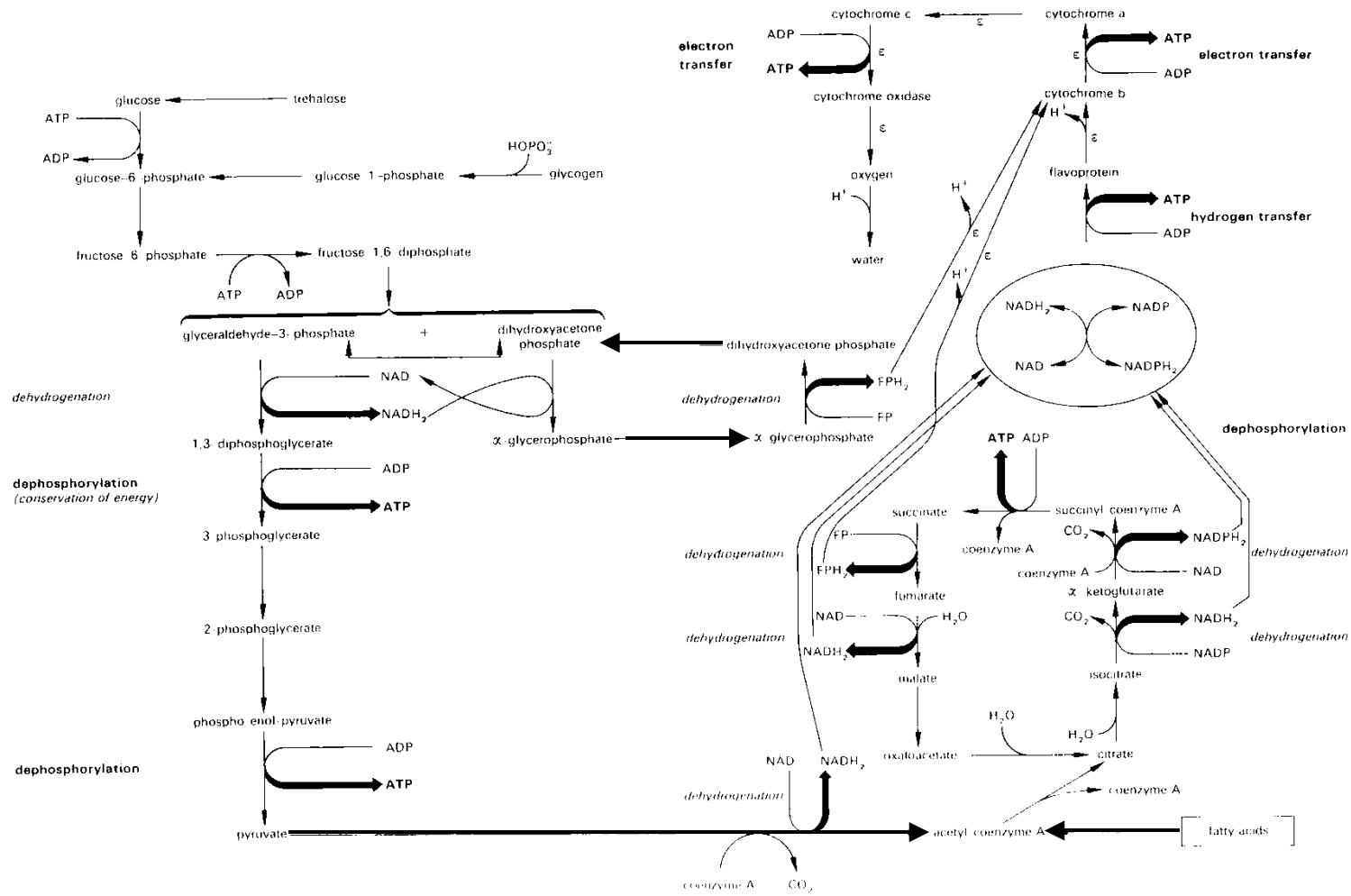
#### 1.7.5. *La respiration cellulaire*

L'initiation du vol entraîne une activation rapide des processus neuronaux et métaboliques. L'activation des muscles est initiée par des inter-neurones descendant du cerveau vers les ganglions thoraciques. Le signal neuronal active les muscles, les ailes sont avancées, et le battement commence (Kammer et Heinrich, 1978). La respiration cellulaire constitue la voie catabolique majoritaire pour fournir l'énergie nécessaire à la contraction des muscles de l'insecte. Elle comprend trois stades métaboliques (Figure 1.8): 1) la glycolyse, 2) le cycle de Krebs et 3) la chaîne de transport des électrons et la phosphorylation oxydative.

*La glycolyse* (Chapman, 1975; Alberts *et al.*, 2004): Le glucose pénètre dans le cytosol de la cellule musculaire pour être soumis à une réaction en chaîne de glycolyse d'où résultera la formation de molécules de pyruvate et d' $\alpha$ -glycérophosphate en quantité équimolaire. Dix étapes métaboliques constituent ce processus. Chacune d'elles est catalysée par une enzyme spécifique. La phase d'investissement d'énergie comprend les cinq premières étapes où se déroule la phosphorylation des molécules combustibles. Les cinq étapes suivantes constituent la phase de libération de l'énergie. Pendant la formation du pyruvate et de l' $\alpha$ -glycérophosphate, deux moles d'ATP et une mole de  $\text{NADH}+\text{H}^+$  sont produites.

*De la glycolyse au cycle de krebs* (Chapman, 1975; Alberts *et al.*, 2004): Après son entrée dans la mitochondrie, la dégradation de l' $\alpha$ -glycérophosphate permet la production d'une mole de  $\text{FPH}_2$ . Chaque mole de pyruvate est convertie en une mole d'un composé appelé acétyl-CoA avec libération de  $\text{CO}_2$ . Cette étape charnière entre la glycolyse et le cycle de Krebs, est catalysée par un complexe multi-enzymatique. De grandes quantités d'acétyl-CoA sont également produites par les étapes de dégradation et d'oxydation des acides gras.

*Le cycle de Krebs* (Chapman, 1975; Alberts *et al.*, 2004): Par l'intermédiaire de l'acétyl-CoA, le groupement acétyle entre dans une série de réactions appartenant au cycle de Krebs également nommé cycle de l'acide citrique. Le cycle de Krebs comprend huit étapes. L'acétate entre dans le cycle lorsqu'une enzyme le lie à l'oxaloacétate, ce qui forme du citrate. Les étapes subséquentes dégradent le citrate en oxaloacétate, et libèrent le dioxyde de carbone. C'est la régénération de l'oxaloacétate qui cyclise ce processus. Il en résulte la formation d'une grande quantité de transporteurs d'électrons sous forme de  $\text{NADH}+\text{H}^+$ . Pour chaque mole d'acétate qui entre dans le cycle, trois moles de  $\text{NAD}^+$  se font réduire en  $\text{NADH}+\text{H}^+$ . Lors d'une des étapes d'oxydation, les électrons ne sont pas transférés au  $\text{NAD}^+$ , mais à un autre accepteur d'électrons, une flavoprotéine (FP).



Cycle de la Glycolyse se déroulant dans le cytoplasme

Cycle de Krebs et Phosphorylation oxydative se déroulant dans la mitochondrie

Figure 1.8: Schéma synthétique de la respiration cellulaire (selon Chapman, 1975).

*La chaîne de transport des électrons et la phosphorylation oxydative* (Chapman, 1975; Albert et al., 2004): Les électrons, transportés par  $\text{NADH}+\text{H}^+$  et  $\text{FPH}_2$ , sont transférés dans la membrane mitochondriale interne où ils entrent dans la chaîne de transport des électrons. Ils sont alors combinés à l' $\text{O}_2$  par le biais de la chaîne respiratoire ayant lieu dans la membrane mitochondriale. L'importante quantité d'énergie libérée est exploitée par la membrane interne pour activer la conversion  $\text{ADP} + \text{P}_i$  en ATP. Près de 90% de l'ATP engendrée par la respiration cellulaire aérobie proviennent de la phosphorylation oxydative.

La chaîne de transport des électrons est un ensemble de molécules enchâssées dans la membrane interne de la mitochondrie. Grâce à ses crêtes, cette membrane possède une surface accrue qui permet à chaque mitochondrie de contenir des milliers d'exemplaires de la chaîne. La chaîne comprend principalement des protéines liées à des groupements prosthétiques. Pendant le transport des électrons dans la chaîne, ces groupements oscillent entre l'état réduit et l'état oxydé, suivant qu'ils acceptent ou cèdent des électrons. Les électrons extraits des nutriments au cours de la glycolyse et du cycle de Krebs sont transférés par le  $\text{NADH}+\text{H}^+$  et  $\text{FPH}_2$  à la chaîne de transport. Le transfert des électrons est couplé à l'absorption et la libération orientée de  $\text{H}^+$  ainsi qu'à des modifications allostériques des pompes protéiques de conversion énergétique. Il en résulte un pompage de  $\text{H}^+$  au travers de la membrane interne, de la matrice à l'espace intermembranaire. Ce mouvement des  $\text{H}^+$  engendre un gradient de pH à travers la membrane mitochondriale interne, le pH étant supérieur dans la matrice par rapport au cytosol. Le gradient de pH active le retour de  $\text{H}^+$  dans la matrice. Or, les ATP-synthases constituent les seuls segments membranaires perméables aux  $\text{H}^+$ . Ces ions sont utilisés pour actionner la réaction de phosphorylation de l'ADP en ATP. La synthèse d'ATP n'est pas le seul processus actionné par le gradient électrochimique de protons. Le pyruvate, et le  $\text{P}_i$ , sont co-transportés avec le  $\text{H}^+$  du cytosol à l'intérieur de la matrice.

### 1.8. Dégâts et nuisibilités économiques

Les dégâts occasionnés par *E. ambiguella* et *L. botrana* sont très irréguliers d'une année à l'autre, mais également entre les différentes générations. Il en découle deux types de nuisibilités:

- *La nuisibilité directe*: La destruction des boutons floraux réalisée par les larves de première génération a peu d'incidence sur la récolte. Cette dernière peut même parfois être bénéfique en réalisant un éclaircissage naturel (Stockel, 2000). Les larves de génération hivernante attaquent les baies avoisinant du lieu de ponte les unes après les autres (Figure 1.9a). Dans le

cas de raisins de table, les pertes de rendements peuvent être importantes par la non commercialisation de la grappe entière.

- *La nuisibilité indirecte*: S'alimentant des baies proches de la véraison, les chenilles favorisent l'installation de la pourriture grise (*Botrytis cinerea*) (Fermaud et Lemenn, 1992). Par temps humide, le développement de *B. cinerea* peut prendre des proportions considérables envahissant progressivement toutes les baies de la grappe (Figure 1.9b). Ces attaques entraînent des effets néfastes sur la vinification comme un ralentissement voir un blocage de la fermentation malo-lactique ou une tendance au développement d'odeurs soufrées (Blayteyron *et al.*, 2005). Les nuisibilités indirectes ont de lourdes conséquences économiques, plus importantes que celles engendrées par la nuisibilité directe.



Figure 1.9: Dégâts causés par les vers de la grappe: a) nuisibilité directe causé par la pénétration larvaire; b) nuisibilité indirecte causé par l'installation de pourriture grise (Source ACW).

### 1.9. Les méthodes de lutte

Les vers de la grappe *E. ambiguella* et *L. botrana*, sont parmi les premiers ravageurs contre lesquels la lutte a été organisée et développée sur des bases rationnelles, dès la fin du 19<sup>ème</sup> siècle. Les premières méthodes préconisées consistaient en la destruction des ravageurs par des procédés physiques et mécaniques, tels que l'attraction dans des pièges lumineux ou l'échenillage, qui se sont révélés peu efficaces (Marchal, 1911). C'est à la fin du 19<sup>ème</sup> siècle que les méthodes de lutte chimique furent introduites dans les pratiques culturales, notamment l'utilisation de la poudre de pyrèthre associée à une solution de savon noir (Bovey, 1966). Vinrent par la suite les produits à base d'arsenic et de nicotine dont l'emploi se généralisa dans les années 1920 (Bovey, 1966). L'apparition du Dichloro-Diphényl-Trichloroéthane (DDT) au milieu du 20<sup>ème</sup> siècle supplanta tous les autres produits par son efficacité. Mais les espoirs fondés sur ce moyen de lutte furent de courte durée, son impact négatif sur l'environnement et

la santé humaine étant trop important (Heudorf *et al.*, 2003). Aujourd'hui, les viticulteurs possèdent une large gamme de produits d'origines chimiques, biologiques et biotechniques homologués pour contrôler les populations de vers de la grappe. Ces méthodes s'inscrivent désormais dans une philosophie de production intégrée qui utilise les ressources et des mécanismes de régulation naturels permettant de concilier exigences agronomiques, écologiques, toxicologiques et économiques.

### **1.9.1. Les moyens de lutte chimique**

Une large gamme d'insecticides de synthèse tels que les organophosphorés, les pyréthriinoïdes et les carbamates est très utilisée dans les vignobles du monde pour contrôler les populations de vers de la grappe (Galet, 1982). Ils agissent généralement sur le système nerveux de l'insecte (neurotoxique) (Stockel, 2000). Cependant les méthodes de lutte basées sur l'utilisation des insecticides chimiques sont de moins en moins considérées en raison de l'apparition de résistance, de présence de résidus sur le fruit mais également dans les sols entraînant des conséquences sur l'environnement et la santé humaine.

### **1.9.2. Les moyens de lutte biologique**

La lutte biologique contre les vers de la grappe utilise des organismes naturels antagonistes des ravageurs. Trois méthodes sont principalement utilisées. La première est basée sur l'application d'un agent pathogène d'origine bactérienne, le *Bacillus thuringiensis* produisant durant la sporulation une protoxine susceptible de se transformer en toxine insecticide dans le système digestif de l'insecte (Charmillot *et al.*, 1991; Scalco *et al.*, 1997; Ruiz de Escudero *et al.*, 2007). La seconde consiste en l'application d'une molécule insecticide produit par une bactérie filamenteuse, *Saccharopolyspora spinosa*, appartenant au groupe des Actinomycètes. Le spinosad, métabolite produit par cet organisme, agit sur les récepteurs acétylcholines nicotiniques du système nerveux central. Un peu moins employé et moins efficace, le lâcher en masse d'insectes auxiliaires hyménoptères tels que *Trichogramma daumale* et *T. cacoeciae*, peut être utilisé pour parasiter les œufs des vers de la grappe (Babi, 1993; Rossi, 1993; El-Monsef, 2004; El-Wakeil, 2008).

### 1.9.3. Les moyens de lutte biotechniques

Ces méthodes alternatives ont pour objectif de perturber le mécanisme naturel de l'insecte à deux niveaux:

- *au niveau de la physiologie*: Spécifique aux arthropodes ils appartiennent à deux familles. Les Inhibiteurs de Croissance d'Insecte (ICI) sont des substances qui au moment de la mue, bloquent la formation de la cuticule par l'inhibition du transport des oligomères formant la structure de la chitine. La cuticule imparfaite ne supporte pas la tension musculaire lors de la mue ce qui provoque l'éclatement de la larve (Charmillot, 1989). Les Régulateurs de croissance d'Insecte (RCI) perturbent le phénomène de mue. Il en existe deux types: les RCI antagonistes de l'hormone de mue, molécules mimétiques de l'ecdysone qui provoquent une mue prématurée en initiant la formation d'une nouvelle cuticule et capsule céphalique sans que la larve ne parvienne à éliminer l'ancienne. Les RCI mimétiques de l'hormone juvénile, n'agissent que sur le dernier stade larvaire en perturbant la nymphose. Sa présence dans l'hémolymphe maintient le caractère larvaire et juvénile des individus (Charmillot, 1989; Charmillot *et al.*, 1994).

- *au niveau du comportement*: Ce procédé biotechnique a pour objectif de perturber le comportement de recherche de partenaire et d'accouplement par l'utilisation de phéromones sexuelles synthétiques (Stockel, 2000). C'est la connaissance du mode de communication chimique entre les sexes qui permet sa mise au point et le développement de cette méthode dite de confusion sexuelle.

### 1.10. La confusion sexuelle

L'utilisation des phéromones sexuelles pour contrôler les ravageurs fut proposé par Götz (1941), pionnier dans l'étude de l'attraction de *E. ambiguella* et *L. botrana*. Ce n'est que 30 ans plus tard que les structures chimiques des phéromones des ravageurs de la vigne sont devenues notoires (Roelofs *et al.*, 1973; Buser *et al.*, 1974; Arn *et al.*, 1976; Saglio *et al.*, 1977; Arn *et al.*, 1988). Le phénomène d'attraction du mâle vis à vis de la phéromone sexuelle spécifique à son espèce est la base de la lutte. Mais, bien que le piégeage de masse par l'attractivité d'un appât contenant de la phéromone sexuelle se soit montré inefficace pour maîtriser les populations de vers de la grappe, la méthode de piégeage est largement utilisée pour la phénologie du vol des ravageurs. Depuis plusieurs années, la méthode de confusion sexuelle permet la manipulation du comportement d'accouplement des vers de la grappe à l'aide des phéromones sexuelles.

Ce procédé consiste en l'application de nombreuses sources phéromonales dans le vignoble émettant une grande quantité de phéromone sexuelle synthétique, soit un peu plus de 400 mg de phéromone par diffuseur et par jour (D. Pasquier, communication personnelle). Appliquée sur plus de 50% de la surface viticole en Suisse, cette méthode de lutte est spécifique au ravageur cible et ne laisse aucun résidu sur le fruit (Günter et Pasquier, 2008). Les phéromones utilisées sont le (Z)-9-dodécenyl acétate, composante majeure du bouquet phéromonal de *E. ambiguella* et (E,Z)-7,9-dodécadienyl acétate, composante principale du bouquet phéromonal de *L. botrana*.

Bien que la méthode de confusion sexuelle se soit montrée efficace en permettant la limitation des dégâts, cette méthode de lutte présente parfois des échecs inexplicables. Malgré l'ancienneté de cette méthode, les mécanismes affectant le comportement des mâles dans leur recherche de partenaire sont encore mal compris. La confusion sexuelle correspond à une perturbation de l'orientation du mâle dans sa recherche de partenaire (Sanders, 1997), et plusieurs hypothèses de mécanismes mis en jeu sont proposées telles que la compétition entre une femelle et une source synthétique, le camouflage du faisceau phéromonal naturel, le déséquilibre sensoriel ou l'habituation et l'adaptation sensorielle (Bartell, 1982; Cardé et Minsk, 1995; Miller *et al.*, 2006). Cependant, beaucoup de scientifiques s'accordent à dire que l'occupation du mâle par la poursuite de fausses traces phéromonales est le premier comportement entrant en jeu dans l'efficacité de la confusion sexuelle. En effet, le faisceau phéromonal de la femelle se mêle à la phéromone synthétique présente dans le vignoble. Le mâle est alors confondu, et réalise un vol orienté en poursuivant un faisceau phéromonal synthétique émis par un diffuseur sans pouvoir retrouver sa partenaire, limitant ainsi les accouplements (Arn et Louis, 1997). Le succès de ce mécanisme dépend de trois facteurs: 1) l'attractivité de chaque diffuseur doit être au moins équivalente à celle d'une femelle en appel pour entrer en compétition avec les sources naturelles; 2) il doit y avoir suffisamment de diffuseurs pour que la probabilité de rencontre d'une femelle soit nettement inférieure à celle de rencontrer un diffuseur; 3) le diffuseur doit être suffisamment attractif pour occuper longtemps le mâle en direction ou face à la source afin de diminuer la probabilité de rencontrer un faisceau phéromonal naturel (Sanders, 1997).

### 1.11. Intérêt de la recherche

Malgré l'intérêt porté à la confusion sexuelle par les viticulteurs suisses, mais également allemands ou autrichiens, l'application de la confusion sexuelle reste bien plus coûteuse qu'une lutte classique par insecticide (2 à 3.5 fois) en raison de la main d'œuvre nécessaire pour l'installation et le coût de la synthèse phéromonale (Arn et Louis, 1997; Degen *et al.*, 2005). Ceci limite son expansion dans les pays tels que la France, l'Italie ou l'Espagne ou le coût de la stratégie de lutte reste prépondérant par rapport aux enjeux environnementaux. De plus, en raison des contraintes d'application auxquelles cette méthode est soumise, telles que les surfaces et les densités de population du vignoble, son installation est parfois limitée. Pour pallier ces contraintes, d'autres méthodes, déjà élaborées pour d'autres espèces sont actuellement en développement pour maîtriser les populations de vers de la grappe. C'est dans cet objectif que s'inscrit **le second chapitre** de ce mémoire. L'une des méthodes proposées consiste à multiplier le nombre des sources tout en réduisant la quantité de phéromone utilisée et émise, afin de diminuer le coût de production des procédés et d'améliorer la protection de la culture. Ce type de procédé peut également être associé à un insecticide afin d'attirer puis éliminer l'insecte (l'attracticide). L'adaptation de ces méthodes pour maîtriser les populations de vers de la grappe apporterait un soulagement financier aux viticulteurs. Les premières étapes de l'élaboration d'une nouvelle méthode de lutte sont étudiées dans ce mémoire. A l'aide d'essais de piégeage par compétitivité en vignoble, des charges variables en phéromones sont étudiées afin d'essayer de déterminer l'optimale à utiliser dans les appâts pour attirer les mâles de *E. ambiguella* et *L. botrana*. La réponse comportementale des mâles face à la source est également observée en tunnel de vol.

L'installation de ces essais a toutefois mis en évidence des difficultés, notamment des densités de populations variables entre les essais, souvent rencontrées lors de l'évaluation de nouveaux procédés de lutte basés sur l'utilisation de la confusion sexuelle. Pour y pallier, une méthode simple est développée pour permettre de mesurer l'influence des phéromones sexuelles sur le comportement d'accouplement des ravageurs. Les étapes de l'élaboration d'un système de cage permettant cette observation est présentée dans **le troisième chapitre**. Les paramètres de la méthode et l'efficacité ont été mesurés à l'aide de différents moyens de lutte par confusion sexuelle.

La réponse comportementale du mâle à une stimulation phéromonale, qu'elle soit naturelle ou synthétique, correspond à une poursuite de la trace phéromonale pour retrouver sa partenaire. Les durées de vol engendrées par cette stimulation vont avoir un impact non négligeable sur

l'état physiologique du ravageur. Les coûts énergétiques du vol sont encore méconnus chez les vers de la grappe. Ces informations pourraient cependant apporter des indices sur la stimulation des mâles exposés à un bouquet phéromonal. Dans l'objectif d'élaborer une méthode permettant de mesurer l'influence de ces stimulations phéromonales sur l'état physiologique des vers de la grappe, **le quatrième chapitre** présente une étude préliminaire mesurant le potentiel de vol de *L. botrana*, ainsi que l'impact de celui-ci et de la phéromone sur les réserves énergétiques et l'état physiologique de ce ravageur.

En dernier lieu, dans **le cinquième chapitre**, une synthèse générale intégrative de l'ensemble des résultats sera présentée puis discutés afin de proposer des perspectives d'avenir pour la lutte contre les vers de la grappe.

En conclusions, le but de ce travail était dans un premier temps de trouver une charge optimale à utiliser dans une méthode de lutte « attracticide » pour maîtriser les populations de vers de la grappe. Puis, par la suite, il parut important de développer des méthodes simples permettant d'évaluer rapidement l'effet des phéromones sur ces ravageurs en conditions naturelles et de laboratoire, en considérant l'impact de celles-ci sur les accouplements, le vol et la physiologie des insectes.

## 1.12. Références

- Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P., 2004. Conversion énergétique: Mitochondries et Chloroplastes. Dans: Biologie moléculaire de la cellule. Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P., Editions Médecine-Sciences, Flammarion, Paris: 767-831
- Auerswald L., Siegert K.J., Gäde G., 2003. Activation of triacylglycerol lipase in the fat body of a beetle by adipokinetic hormone. *General and Comparative Endocrinology*, **132**: 10-20
- Arn H., Rauscher S., Guerin P.M., Buser H.R., 1976. Sex pheromone of *Eupoecilia ambiguella*: cis-9-dodecenyacetate as a major component. *Zeitschrift für Naturforschung*, **31**: 499-503
- Arn H., Rauscher S., Buser H.R., Guerin P.M., 1986. Sex pheromone of *Eupoecilia ambiguella* female: analysis and male response to ternary blend. *Journal of Chemical Ecology*, **12**: 1417-1429
- Arn H., Rauscher S., Guerin P., Buser H.R., 1988. Sex pheromone blends of three tortricid pests in European vineyards. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **21**: 111-117
- Arn H. et Louis F., 1997. Mating disruption in European vineyards. Dans: Insect pheromone research. New directions. Cardé R.T. et Minsk A., Editions Chapman et Hall, London & New York: 377-383
- Arrese E.L. et Wells M.A., 1997. Adipokinetic hormone-induced lipolysis in the fat body of an insect, *Manduca sexta*: synthesis of sn-1,2-diacylglycerols. *Journal of Lipid Research*, **38**: 68-76
- Babi A., 1993. Bioécologie de *Trichogramma cacoediae* Marchal et *T. daumale* Dugast et Voegel (Hym. Trichogrammatidae). Utilisation en lutte biologique contre *Lobesia botrana* Den. et Schiff. (Lép. Tortricidae). Thèse de Doctorat, Université de Aix-Marseille, 143 p.
- Baggiolini M., 1979. Vers de la vigne. Dans: La défense des plantes cultivées. Bovey R., Baggiolini M., Bolay E., Corbaz R., Mathys G., Meylan A., Murbach R., Pelet F., Savary A., Trivelli G., Editions Payot, Lausanne: 180-186
- Baker T.C., Willis M.A., Haynes K.F., Phelan P.L., 1985. A pulsed cloud of sex pheromone elicits upwind flight in male moths. *Physiological Entomology*, **10**: 257-265
- Balachowsky A.S. et Mesnil L., 1935. Les insectes nuisibles à la vigne. Dans: Les Insectes nuisibles aux Plantes Cultivées. Balachowsky A.S. et Mesnil L., Editions L. Méry, Paris, 1138 p.
- Baldi I. et Lebailly P., 2007. Cancers et pesticides. *La Revue du praticien*, **57**: 40-44
- Bartell R.J., 1982. Mechanisms of communication disruption by pheromone in the control of Lepidoptera: a review. *Physiological Entomology*, **7**: 353-364

- Beenackers A.M.T., Van der Horst D.J., Van Marrewijk W.J.A., 1985. Insect lipids and their role in physiological processes. *Progress in Lipid Research*, **24**: 19-67
- Belmabrouk H.B., Rospars J.P., Ezzine J., Martinez D., 2008. Rôle de l'inhibition intra et inter glomérulaire dans la synchronisation neuronale et le codage phéromonal chez *Manduca sexta*. Deuxième conférence française de Neurosciences Computationnelles, "Neurocomp08", Marseille
- Bengtsson M., Ioriatti C., Lofqvist J., Tasin M., Witzgall P., 2004. Patternt of *Lobesia botrana* pheromone components (Z7,E9-11-12-dodecatrienyl acetate and dodecenyl acetate). Dans : Ioriatti C., Bagnoli B., Lucchi A., Veronelli V., 2004. Vine moths control by mating disruption in Italy: results and future prospects. *Redia*, **87**: 117-128
- Benz E., Bryner R., Buser H., Etmüller W., Feldtrauer J.J., Geiger W., Joos R., Joste B., Jutzeler D., Pleisch E., Reser L., Schiess-Bülher H., Schmid J., Sonderegger P., Stierli E., Wymann H.P., Ziegler H., 1987. La vie des papillons et leurs stades de développement. Dans: Les papillons de jour et leurs biotopes: Espèces; Dangers qui les menacent; Protection. Editions Ligue Suisse pour la Protection de la Nature, 512 p.
- Blayteron L., Bonnet N., Drouillard J.B., Rousseau J., 2005. Tordeuses de la grappe et moisissures associées: incidences sur la vinification et la qualité du vin. *Phytoma*, **37**: 13-16
- Borneck R. et Bricout J.P., 1984. Evaluation de l'incidence économique de l'entomofaune pollinisatrice en agriculture. *Bulletin Technique Apicole*, **11**: 117-124
- Bovey P., 1966. Super-famille des Tortricidae. Dans: Entomologie Appliquée à l'Agriculture. Tome II (1), Lépidoptères. Balachowsky A.S., Editions Masson et Cie, Paris, 456-893
- Brown W.L., Eisner T., Whittaker R.H., 1970. Allomones and kairomones: transpacific chemical messengers. *Bioscience*, **20**: 21-22
- Buckner J.S., Kemp W.P., Bosch J., 2004. Characterization of triacylglycerols from overwintering prepupae of the Alfalfa pollinator *Megachile rotundata* (Hymenoptera: Megachilidae). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, **57**: 1-14
- Buser H.R. Rauscher S., Arn H., 1974. Sex pheromone of *Lobesia botrana*: (E,Z)-7,9-dodecadienyl acetate in the female grape vine moth. *Zeitschrift für Naturforschung*, **29**: 781-783
- Canavoso L.E., Jouni Z.E., Karnas K.J., Pennington J.E., Wells M.A., 2001. Fat metabolism in insect. *Annual Review of Nutrition*, **21**: 23-46
- Cardé R.T. et Minsk A.K., 1995. Control of moth pests by mating disruption: Successes and Constraints. *Annual Review of Entomology*, **40**: 559-585
- Cardé R.T. et Knols B.G.J., 2000. Effects of light levels and plume structure on the orientation manoeuvres of male gypsy moths flying along pheromone plumes. *Physiological Entomology*, **25**:141-150

Chapman R.F., 1975. The insects: Structure and Function. Chapman R.F., Editions: The English Universities Press Ltd, London, 819 p.

Charmillot P.J., 1989. Les régulateurs de croissance d'insectes (RCI), mimétiques de l'hormone juvénile, en tant que moyens de lutte morphogénétique et ovicide contre les tordeuses des vergers. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **51**: 59-69

Charmillot P.J., Pasquier D., Antonin P., 1991. Efficacité et rémanence de quelques préparations à base de *Bacillus thuringiensis* (BT) dans la lutte contre les vers de la grappe eudémis et cochylis. *Revue suisse Viticulture, Arboriculture et Horticulture*, **23**: 187-194

Charmillot P.J., Favre R., Pasquier D., Rhyn M., Scalco A., 1994. Effet du régulateur de croissance d'insectes (RCI) tébufénozide sur les œufs, les larves et les papillons des vers de la grappe *Lobesia botrana* Den. & Schiff. et *Eupoecilia ambiguella* Hb. *Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft*, **67**: 393-402

Childress C.C. et Sacktor B., 1970. Regulation of glycogen metabolism in insect flight muscle. Purification and properties of phosphorylases in vitro and in vivo. *Journal of Biological Chemistry*, **254**: 2927-2936

Degen T., Chevallier A., Fischer S., 2005. Evolution de la lutte phéromonale contre les vers de la grappe. *Revue suisse de Viticulture, Arboriculture, Horticulture*, **37**: 273-280

El-Monsef A.R., 2004. Biological control of grape berry moths *Eupoecilia ambiguella* and *Lobesia botrana* by using egg parasitoids of the genus *Trichogramma*. Thèse de Doctorat, Université de Giessen, 79 p.

El-Sayed A., Gödde J., Witzgall P., Arn H., 1999. Characterization of pheromone blend for grapevine moth, *Lobesia botrana* by using flight track recording. *Journal of Chemical Ecology*, **25**: 389-400

El-Wakeil N.E., Farghaly H.T., Ragab Z.A., 2008. Efficacy of inundative releases of *Trichogramma evanescens* in controlling *Lobesia botrana* in vineyards in Egypt. *Journal of Pest Science*, **81**: 49-55

Fermaud M. et Lemenn R., 1992. Transmission of *Botrytis-cinerea* to grapes by grape berry moth larvae. *Phytopathology*, **82**: 1393-1398

Feytaud J., 1917. A propos de l'attraction des sexes chez les microlépidoptères. Procès verbaux de la Société Linnéenne, Bordeaux: 1-4

Gabel B. et Thiéry D., 1994. Non-host plant odor (*Tanacetum vulgare*, Asteracea) affects the reproductive behavior of *Lobesia botrana* Den. et Schiff. (Lepidoptera, Tortricidae). *Journal of Insect Behavior*, **7**: 149-157

Gäde G. et Auerswald L., 2003. Mode of action of neuropeptides from the adipokinetic hormone family. *General and Comparative Endocrinology*, **132**: 10-20

Galet P., 2000. Précis de viticulture. Galet P., Editions Galet P., 602 p.

- Galet P., 1982. Les maladies et les parasites de la vigne. Tome II. Galet P., Editions Paysans du Midi, Montpellier, 1870 p.
- Götz B., 1941. Der Sexualduftstoff als Bekämpfungsmittel gegen die Traubenwickler im Freiland. *Wein und Rebe*, **23**: 75
- Gullan P.J. et Cranston P.S., 1994. Sensory systems and behaviours. Dans: The insect: an outline of entomology. Gullan P.J. et Cranston P.S., Editions Chapman et Hall, London & New York: 83-111
- Günter M. et Pasquier D., 2008. Verwirrungstechnik im Weinbau – eine Erfolgsgeschichte. *Schweizerisch Zeitschrift für Obst und Weinbau*, **21**: 6-8
- Heudorf U., Angerer J., Drexler H., 2003. Current internal exposure to pesticides in children and adolescents in Germany: Blood plasma levels of pentachlorophenol (PCP), lindane (gamma-HCH), and dichloro(diphenyl)ethylene (DDE), a biostable metabolite of dichloro(diphenyl)trichloroethane (DDT). *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, **206**: 485-491
- Howse P.E., 1998. Insect semiochemicals and communication. Dans: Insect pheromones and their use in pest management. Howse P.E., Stevens I.D.R., Jones O.T., Editions Chapman & Hall, New York: 1-32
- Ioriatti C., Bagnoli B., Lucchi A., Veronelli V., 2004. Vine moths control by mating disruption in Italy: results and future prospects. *Redia*, **87**: 117-128
- Jacquín-Joly E. et Merlin C., 2004. Insect olfactory receptors: contributions of molecular biology to chemical ecology. *Journal of Chemical Ecology*, **30**: 2359
- Justus K.A. et Cardé R.T., 2002. Flight behaviour of males of two moths, *Cadra cautella* and *Pectinophora gossypiella*, in homogeneous clouds of pheromone. *Physiological Entomology*, **27**: 67-75
- Justus K.A., Schofield S.W., Murlis J., Cardé R.T., 2002. Flight behaviour of *Cadra cautella* males in rapidly pulsed pheromone plumes. *Physiological Entomology*, **27**: 58-66
- Kammer A.E. et Heinrich B., 1978. Insect flight metabolism. *Advances in Insect Physiology*, **13**: 133-228
- Kammer A.E., 1968. Motor patterns during flight and warm-up in Lepidoptera. *Journal of Experimental Biology*, **48**: 89-109
- Marchal P., 1911. Rapport sur les travaux accomplis par la mission d'étude de la cochyliis et de l'eudémis pendant l'année 1911. Librairie Polytechnique, Paris, 317 p.
- Miller J.R., Gut L.J., De Lame F.M., Stelinski L.L., 2006. Differentiation of competitive vs. non-competitive mechanism mediating disruption of moth sexual communication by point sources of sex pheromone (Part 1): Theory. *Journal of Chemical Ecology*, **32**: 2089-2114

- Murlis J., Elkinton J.S., Cardé R.T., 1992. Odor plumes and how insects use them. *Annual Review of Entomology*, **37**: 505-532
- Pelosi P., 1994. Odorant-binding proteins. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, **29**: 199-228
- Raina A.K., Jaffe H., Kempe T.G., Keim P., Blacher R.W., Fales H.M., Riley C.T., Klun J.A., Ridgway R.L., Hayes D.K., 1989. Identification of a neuropeptide hormone that regulates sex pheromone production in female moths. *Science*, **244**:796–798.
- Raina A.K., 1997. Control of pheromone production in moths. Dans: Insect pheromone research. New directions. Cardé R.T. et Minsk A., Edition Chapman et Hall, London & New York: 21-31
- Rauscher S., Arn H., Guerin P., 1984. Effect of dodecyl acetate and Z-10-tridecyl acetate on attraction of *Eupoecilia ambiguella* males to the main sex pheromone component, Z-9-dodecenyl acetate. *Journal of Chemical Ecology*, **10**: 253-264
- Razowski J., 2001. Die Tortriciden (Lepidoptera, Tortricidae) Mitteleuropas. Bestimmung – Verbreitung – Flugstandort – Lebensweise der Raupen. Razowski J., Editions Frantisek Slamka, Bratislava, 318 p.
- Renou M., 2007. La communication chez les insectes. Conférence à la Cité des Sciences, Paris
- Rochat D., Anton S., Jacquin-Joly E., Lucas P. et Renou M., 2008. La communication chimique chez les Insectes, analyse d'un message.  
[http://www.inra.fr/la\\_sciences\\_et\\_vous/apprendre\\_experimenter/communication\\_chimique\\_chez\\_les\\_insectes](http://www.inra.fr/la_sciences_et_vous/apprendre_experimenter/communication_chimique_chez_les_insectes)
- Roehrich R. et Boller E., 1991. Tortricids in Vineyards. Dans: Tortricids pests – Their biology, Natural enemies and Control. Van der Geest L.P.S. et Evenhuis H.H., Editions Elsevier: 507-514
- Roelofs W.L., Hill A.S., Cardé R.T., Arn H., Rauscher S., 1973. Sex attractant of the grapevine moth, *Lobesia botrana*. *Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft*, **46**: 71-73
- Rossi M.M., 1993. Etude bioécologique des parasitoïdes oophages *Trichogramma cacoeciae* Marchal et *Trichogramma evanescens* West. (Hym.: Trichogrammatidae) et du parasitoïde nymphal *Dibrachys affinis* Masi (Hym.: Pteromalidae) utilisés en lutte biologique contre *Lobesia botrana* Den. & Schiff. (Lep.: Tortricidae). Thèse de Doctorat, Université de Rennes1, 109 p.
- Ruiz de Escudero I., Estela A., Escrìche B., Caballero P., 2007. Potential of the *Bacillus thuringiensis* toxin reservoir for the control of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae), a major pest of grape plant. *Applied and Environmental Microbiology*, **73**: 337-340

Saglio P., Descoins C., Gallois M., Lettéré M., Jaouen D., Mercier J., 1977. Etude de la phéromone sexuelle de la cochylys de la vigne *Eupoecilia (Clysia) ambiguella*, Hb. Lépidoptère Tortricoida Cochylidae. *Annales de zoologie et écologie animale*, **9**: 553-562

Sanders C. J., 1997. Disruption of male Spruce Budworm orientation to female moths by pheromone and pheromone analogs in a wind-tunnel. *Physiological Entomology*, **20**: 71-80

Sandlers B.H., Nikonova L., Leal W.S., Clardy J., 2000. Sexual attraction in the Silkworm moth: structure of the pheromone-binding-protein–bombykol complex. *Chemistry & Biology*, **7**: 143-151

Scalco A., Charmillot P.J., Pasquier D., Antonin P., 1997. Comparaison de produits à base de *Bacillus thuringiensis* dans la lutte contre les vers de la grappe: du laboratoire au vignoble. *Revue suisse Viticulture, Arboriculture et Horticulture*, **29**: 345-350

Schal C., Liang D., Blomquist G.L., 1997. Neural and endocrine control of pheromone production and release in cockroaches. Dans: Insect pheromone research. New directions. Cardé R.T. et Minsk A., Edition Chapman et Hall, London & New York: 3-21

Schmieder-Wenzel C. et Schruft G., 1990. Courtship behaviour of the European grape berry moth, *Eupoecilia ambiguella* Hb., (Lep., Tortricidae) in regard to pheromonal and tactile stimuli. *Journal of Applied Entomology*, **109**: 341-346

Schneider D., 1964. Insect antennae. *Annual Review of Entomology*, **9**: 103-122

Simon J.L., Schwarzenbach J., Fischler M., Eggenberger W., 1992. Viticulture. Simon J.L., Schwarzenbach J., Fischler M., Eggenberger W., Editions Payot, Lausanne - La maison Rustique, Paris, 223 p.

Stockel J., 2000. Les lépidoptères (du groupe des Tordeuses). Dans: Les ravageurs de la vigne. Stockel J., Editions Féret, Bordeaux, 389 p.

Tasei J.N. et Rivière J.L., 1996. Impact des pesticides sur les Abeilles et les autres pollinisateurs. *Courrier de l'environnement de l'INRA* n°29, <http://www.inra.fr/dpenv/taseic29.htm>

Thiéry D. et Gabel B., 2000. Comportement de ponte des femelles d'eudémis de la vigne en présence d'extraits de fleurs de Müller Thurgau. *IOBC/wprs Bulletin*, **23**: 135-138

Thiéry D., 2005. Guide pratique: Les vers de la grappe, les connaître pour s'en protéger. Thiéry D., Editions Vignes et Vins Publications Internationales, Bordeaux, 61 p.

Van der Horst D.J., Van Hoof D., Van Marrewijk W.J.A., Rodenburg K.W., 2002. Alternative lipid mobilization: The insect shuttle system. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **239**: 113-119

Vickers N.J. et Baker T.C., 1994. Reiterative responses to single strands of odor promote sustained upwind flight and odor source location by moths. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **91**: 5756-5760

Vogt R.G. et Riddiford L., 1981. Pheromone binding and inactivation by moth antennae. *Nature*, **293**: 161-163

Whittaker R.H. et Feeny P., 1971. Allelochemicals: chemical interactions between species. *Science*, **171**: 757

Witzgall P. et Arn H., 1990. Direct measurement of the flight behaviour of male moths to calling females and synthetic sex pheromones. *Zeitschrift für Naturforschung*, **45**: 1067-1069

Witzgall P., 1997. Modulation of pheromone-mediated flight in male moths. Dans: Insect pheromone research. New directions. Cardé R.T. et Minsk A., Editions Chapman et Hall, London & New York, 265-274 p.

Zeljezic D., Vrdoljak A.L., Kopjar N., Radic B., Milkovic Kraus S., 2008. Cholinesterase-Inhibiting and genotoxic effects of acute carbofuran intoxication in man: A case report. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, **103**: 329-335

## **2. Les phéromones sexuelles :** **Ebauche d'un appât « attract & kill »**

### ***Résumé***

En vue de l'élaboration d'une méthode de lutte attracticide basée sur l'utilisation d'appâts « attract & kill » pour contrôler les populations de vers de la grappe *Eupoecilia ambiguella* et *Lobesia botrana*, une série d'essais est réalisée en vignoble et en tunnel de vol pour évaluer la charge phéromonale optimale d'un appât attracticide. Les résultats obtenus en vignoble mettent en évidence une meilleure attractivité des appâts contenant une charge relativement élevée pour piéger *E. ambiguella*. A l'inverse, *L. botrana* présente une préférence pour les appâts contenant de faibles charges en phéromones. Les essais réalisés en tunnel de vol confirment partiellement les résultats obtenus en vignoble. Les faibles charges en phéromone encouragent, pour les deux espèces, les réponses comportementales. Cette étude indique que seules les faibles charges phéromonales favorisent le contact avec l'appât. Des études complémentaires, telle que l'ajout de composants phéromonaux mineurs ou d'odeur de plantes et l'interaction entre les composés phéromonaux et l'insecticide, sont recommandées afin d'améliorer cet attracticide.

## 2.1. Introduction

Les viticulteurs disposent, aujourd'hui, d'une large gamme de traitements et techniques pour lutter contre les vers de la grappe *Eupoecilia ambiguella* (Hübner) et *Lobesia botrana* (Denis et Shiffermüller.), ravageurs principaux de la vigne (Stockel *et al.*, 1994; Gabel et Roehrich, 1995; Anfora *et al.*, 2008). Homologuée depuis une dizaine d'années, la confusion sexuelle est le moyen utilisé le plus respectueux de l'environnement pour la lutte contre les vers de la grappe (Charmillot *et al.*, 1998). Adoptée sur la moitié du vignoble suisse, cette technique connaît un essor considérable. Cependant, malgré son intérêt environnemental, elle reste coûteuse en raison de la quantité de phéromones synthétisées nécessaire et du temps requis pour l'application (Descoin, 1990; Charmillot *et al.*, 1995). De plus, son utilisation exige le respect de certaines contraintes telles qu'une surface minimum de cinq hectares, une topographie adéquate, une pente régulière, et des plantations homogènes (Alma *et al.*, 2001). C'est pour ces raisons que des recherches sont en cours pour développer d'autres techniques de lutte moins exigeantes en phéromones et tout aussi efficaces permettant une application moins contraignante.

L'un des principaux effets de la confusion sexuelle est la compétition entre les phéromones émises par les diffuseurs synthétiques et les phéromones naturelles émises par les femelles (Schmitz *et al.*, 1995). Les mâles sont ainsi occupés à poursuivre de fausses traces phéromonales, réduisant leur chance de rencontrer une femelle (Bartell, 1982; Cardé, 1990; Sanders, 1997). La multiplication du nombre de sources (Palaniswamy *et al.*, 1982; Epstein *et al.*, 2006) combinée à la réduction de la charge en phéromones permettraient d'augmenter cette compétition, et surpasserait les difficultés engendrées par la non-homogénéité et la taille de la parcelle traitée. L'ajout d'un insecticide, ayant une propriété de "knock-down" par action de contact, à la formulation phéromonale favorisera l'élimination des mâles attirés puis entrés en contact avec la source, ce qui diminuera ainsi les probabilités d'accouplement et par conséquent les dégâts. Cette combinaison de deux méthodes de lutte complémentaires pourrait permettre une réduction du coût (Downham *et al.*, 1995; Arn et Louis, 1997; Charmillot *et al.*, 2000).

Un tel procédé est déjà homologué pour lutter contre le carpocapse *Cydia pomonella* L. en verger. Dénommée "Sirène CM", cette méthode consiste en l'application manuelle, sur les branches des arbres, de gouttes isolées contenant un insecticide de type pyréthrianoïde et de la codlémone, composante principale du bouquet phéromonal de *C. pomonella* (Charmillot *et al.*, 2000). L'adaptation de ce principe a été réalisée pour contrôler les populations de

tordeuses orientales du pêcher (*Grapholita molesta* Busck) (Evenden *et al.*, 2005; Evenden et Mc Cloughlin, 2005) et du vers de la grappe (Degen, rapport interne 2003-2004). Cependant, dans ce dernier cas, les résultats obtenus ont montré que le dépôt des gouttes isolées sur les ceps de vigne est fastidieux et demande beaucoup de temps. Cette méthode de lutte nécessite deux applications par saison, avant le début de chaque vol. C'est dans ce but qu'une nouvelle méthode de lutte dénommée EcoTape est élaborée pour pallier ces contraintes. L'application mécanisée de ce système procurerait un gain de temps considérable. En effet, ce traitement consiste à dérouler, le long des palissages, dans les parcelles de vigne, un ruban contenant des sources de phéromones distantes d'environ 60 cm. Chaque source a pour principe d'entrer en compétition avec les femelles en attirant les mâles. L'intégration d'un insecticide au mélange phéromonal permet l'élimination des mâles. Le principe EcoTape permet également d'alterner les appâts contenant la phéromone de l'une ou l'autre espèce pour éviter l'influence du bouquet phéromonal de l'espèce concurrente (Degen, rapport interne 2003, 2004), ce qui augmenterait l'efficacité de cette méthode "attracticide" basée sur l'utilisation d'appâts « attract and kill ».

Le développement de la méthode EcoTape se trouve actuellement au stade de détermination de la charge optimale de phéromone à utiliser dans les appâts afin de développer un moyen de lutte efficace contre les vers de la grappe tout en limitant son coût. Cette étude consiste en l'évaluation du caractère attractif de sources contenant différentes quantités de phéromones synthétiques. Pour cela, un essai de piégeage par compétitivité des appâts est mis en place en vignoble. La réponse comportementale des mâles face à la source EcoTape en tunnel de vol est également observée.

## 2.2. Matériel et méthodes

### 2.2.1. Les insectes

Les souches d'*E. ambiguella* et *L. botrana* utilisées pour la réalisation de ces essais sont issues de l'élevage permanent d'Agroscope Changins-Wädenswil (ACW). Les individus sont issus d'une souche sauvage collectés dans les vignobles de Suisse romande au cours de l'été 1998. Elles sont élevées de l'œuf jusqu'au dernier stade larvaire sur milieu artificiel (légèrement modifié selon Rauscher et *al.*, 1984) (Annexe II), en cellule climatisée ( $24\pm 1^\circ\text{C}$  et  $70\pm 10\%$  HR) à longue photopériode (16h de jour/8h de nuit). Pour leur offrir un lieu de nymphose, des cartons ondulés sont déposés dans les boîtes d'élevage. Au stade nymphal, mâles et femelles sont séparés puis placés dans des éclosoirs différents. Après émergence, les adultes sont maintenus dans une boîte cylindrique ( $\text{Ø}$ : 10.5 cm, h: 16 cm), dans les mêmes conditions que précédemment, en photopériode inverse. Ils ont à leur disposition un abreuvoir contenant une solution à 10% de glucose.

### 2.2.2. Sources phéromonales

#### ➤ Type EcoTape

Un premier essai réalisé durant l'année 2005, est basé sur l'utilisation d'appâts EcoTape de fabrication "artisanale" (Figure 2.1a) afin d'évaluer l'attractivité de plusieurs charges phéromonales.

a)



b)



Figure 2.1: a) Appât EcoTape de fabrication artisanale ; b) Appât EcoTape de fabrication industrielle.

Pour cela, quatre formulations, sans insecticide, sont préparées par la firme AgriSense (Royaume Uni) pour chacune des deux espèces. Les appâts, destinés à piéger les mâles de

l'espèce *E. ambiguella*, sont chargés de 1, 2, 4 et 8 mg de mélange composé de 25% de la composante principale, le Z9-12:Ac, ainsi que de 25% de 12:Ac et 50% de 18:Ac, deux composantes saturées présentes dans le bouquet phéromonal de cette espèce. Ces quatre diffuseurs possèdent respectivement une émission phéromonale approximative de 0.4 µg, 0.7 µg, 1.5 µg, et 3 µg par heure de Z9-12:Ac. Dans le cas de *L. botrana*, les mélanges retenus pour cet essai sont 0.5, 1, 2 et 4 mg de la molécule E7,Z9-12:Ac, composante principale pour cette espèce. Les émissions approximatives moyennes sur l'ensemble de la saison d'exposition de ces diffuseurs sont respectivement de 0.2, 0.4, 0.5, 0.9 µg par heure.

Dans une seconde étape, réalisée au cours de l'été 2006, les appâts testés sont issus du procédé de fabrication "industrielle" (Figure 2.1.b, Annexe III).

Ce sont de petites bandes de 2 x 1 cm contenant la phéromone de l'espèce visée. Les charges choisies pour l'espèce *E. ambiguella*, sont 4 mg et l'association de deux appâts de 4 mg du bouquet phéromonal contenant 25% de la composante principale le Z9-12:AC, ainsi que de 25% de 12:AC et 50% de 18:Ac. Dans le cas de *L. botrana*, les appâts retenus pour cet essai contiennent 2 mg et 2 x 2 mg de la molécule E7,Z9-12:Ac. Pour des raisons de logistique de fabrication, des appâts de 8 mg pour *E. ambiguella* et de 4 mg pour *L. botrana* n'ont pu être produits.

#### ➤ Capsule en caoutchouc

Afin de mieux comprendre le comportement d'attraction des vers de la grappe vis-à-vis d'une large gamme de charges faibles à élevées de phéromones, des capsules en caoutchouc sont imprégnées du mélange phéromonal à tester. Six charges du composant majoritaire de chaque espèce sont choisies. Ainsi, dans le cas de *E. ambiguella*, les charges 20 µg, 100 µg, 500 µg, 1 mg, 2 mg et 10 mg de Z9-12:Ac (99%, Plant Research International, Netherlands) sont testées en mélange avec les composés 12:Ac (>96%, BASF, Germany) et 18:Ac (>97%, TCI Europe N.V., Belgium), selon les proportions 1:1:2. Le bouquet phéromonal de *L. botrana* composé du E7,Z9-12:Ac (>97%, Plant Research International, Netherlands), associé aux deux composantes secondaires le E7,Z9-12:OH (>94%, Plant Research International, Netherlands) et du Z9-12:Ac dans les proportions de 10:2:0.5 est testé aux charges de 10, 50, 100, 500 µg, 1 mg et 5 mg. Les mélanges phéromonaux optimums sont préparés, dans les proportions données, en solution dans du dichlorométhane (Merck) puis déposés manuellement dans les diffuseurs à l'aide de capillaires dans la cavité de la capsule. Le solvant s'évapore en quelques heures laissant ainsi le mélange phéromonal.

➤ **Pheronet**

Ces capsules sont utilisées comme standard de piégeage (Pheronet; Suède) contenant 100 µg de Z9-12:Ac, 100 µg de 12:Ac et 200 µg de 18:Ac, pour une émission moyenne de 60-80 ng par heure de Z9-12:Ac (Mc Donough, 1978) pour l'espèce *E. ambiguella*. La capsule attractive de référence (Pheronet; Suède) de l'espèce *L. botrana* contient 100 µg de E7,Z9-12:Ac.

➤ **Femelles**

Des pièges appâtés d'une femelle vierge encagée sont également mis en compétitions avec les sources phéromonales synthétiques. Une femelle de l'espèce *E. ambiguella* produit en moyenne 1.2 ng/h de Z9-12:Ac, une femelle de *L. botrana* émet environ 0.3 ng/h de E7,Z9-12:Ac (Witzgall et al., 2005). Les cages (Ø: 2 cm, L: 4 cm), munies d'un abreuvoir, sont constituées d'un tube en plastique fermé aux deux extrémités par une grille de tissu en polyester laissant passer les phéromones émises par la femelle (Figure 2.2).



Figure 2.2: Cage munie d'un abreuvoir utilisée pour contenir la femelle.

A chaque relevé, les femelles sont remplacées par de nouveaux individus. Les femelles sont disposées dans les cages à maturité sexuelle, soit 3 jours après l'émergence (Torres-Vila et al., 1995).

### 2.2.3. Procédures expérimentales

#### ➤ Essai en vignoble

Les essais réalisés en vignoble sont présentés Table 2.1. Chaque appât est disposé dans un piège triangulaire muni d'une bande engluée à l'aide d'une épingle. Les pièges sont placés à hauteur de grappe sur la ligne de palissage des ceps de la vigne. La séparation entre deux pièges d'une même espèce est de 20 m. Les pièges sont séparés les uns des autres par des pièges de l'autre espèce. Ainsi, la séparation entre deux pièges d'espèces différentes est de 10 m. La disposition des pièges est élaborée aléatoirement. Afin de limiter les effets de positions qui seraient susceptibles d'influencer les résultats, l'emplacement de chaque piège est modifié par une rotation lors de chaque contrôle. Le relevé des captures est effectué trois fois par semaine.

Table 2.1: Description des essais réalisés en vignoble.

Date	Lieu	Espèce	Sources	Charges	Composantes	Ratio
2005	Nyon/ Riex	<i>E. ambiguella</i>	EcoTape	1, 2, 4, 8 mg	Z9-12:Ac, 12:Ac, 18:Ac	1:1:2
			Pheronet	100 µg	Z9-12:Ac, 12:Ac, 18:Ac	1:1:2
			Femelle			
		<i>L. botrana</i>	EcoTape	0.5, 1, 2, 4 mg	E7, Z9-12:Ac	1
			Pheronet	100 µg	E7, Z9-12:Ac	1
			Femelle			
2006	Alsace	<i>E. ambiguella</i>	EcoTape	4, 2 x 4 mg	Z9-12:Ac, 12:Ac, 18:Ac	1:1:2
			Pheronet	100 µg	Z9-12:Ac, 12:Ac, 18:Ac	1:1:21
		<i>L. botrana</i>	EcoTape	2, 2 x 2 mg	E7, Z9-12:Ac	1
			Pheronet	100 µg	E7, Z9-12:Ac	1
	Arnex sur Orbe	<i>E. ambiguella</i>	Capsule caoutchouc	0, 100, 500 µg 1, 2, 10 mg	Z9-12:Ac, 12:Ac, 18:Ac	1:1:2
	Arnex sur Nyon	<i>L. botrana</i>	Capsule caoutchouc	0, 50, 100, 500 µg 1, 5 mg	E7, Z9-12:Ac, E7, Z9-12:OH, Z9-12:Ac,	10:2:0.5

Un **premier essai** est réalisé au cours de l'été 2005 à l'aide d'appâts de type EcoTape fabriqués artisanalement. Les appâts, destinés à piéger les mâles de l'espèce *E. ambiguella* sont chargés de 1, 2, 4 et 8 mg de phéromones, tandis que ceux destinés à *L. botrana* de 0.5, 1, 2 et 4 mg. Ces appâts sont comparés aux capsules standard de piégeage (Pheronet; Suède) visant chacune des espèces étudiées, ainsi qu'aux pièges appâtés d'une femelle vierge en cage. Cet essai est installé au sein de vignobles situés sur le canton de Vaud. Un premier site, en deux répétitions, est localisé dans la région du Lavaux, sur la commune de Riex. Une réplique de cet essai est située sur le vignoble de « la Côte », à Nyon. Ces vignobles sont

protégés contre les vers de la grappe par une lutte classique à l'aide d'un insecticide, de type tébufénozide, en seconde génération. La pression des deux ravageurs étant faible sur le site de Nyon, des lâchers de mâles sont effectués trois fois par semaine. Lors de chaque contrôle, des mâles âgés de 1 à 4 jours sont lâchés en plusieurs positions à distance équivalente des pièges. Ces lâchers ont pour objectif d'augmenter la population présente mais également de poursuivre les observations au-delà des périodes de vol. Les pièges sont installés le 13 mai 2005 sur l'ensemble des sites d'essais. L'essai s'est arrêté le 19 août pour le site de Riex, et le 31 août 2005 pour le site de Nyon.

En raison de la faible densité de population présente dans le vignoble suisse, **le second essai**, réalisé en 2006, est installé dans un vignoble alsacien en France. Celui-ci consiste à valider les premiers résultats obtenus au terme de l'essai précédent à l'aide de sources EcoTape fabriquées de manière "industrielle". Ainsi, les appâts contenant 4 et 2 x 4 mg sont installés dans les pièges pour appâter les mâles de l'espèce *E. ambiguella* ainsi que 2 et 2 x 2 mg pour piéger *L. botrana*. Ces traitements sont également mis en comparaison avec la capsule standard de piégeage (Pheronet, Suède) de chaque espèce. Ce vignoble est protégé contre les vers de la grappe par une lutte biologique basée sur l'application d'un traitement au *Bacillus thuringiensis*. Chaque appât testé est répété deux fois. Les pièges sont installés le 29 avril 2006. Le relevé des captures est effectué jusqu'au 8 août 2006.

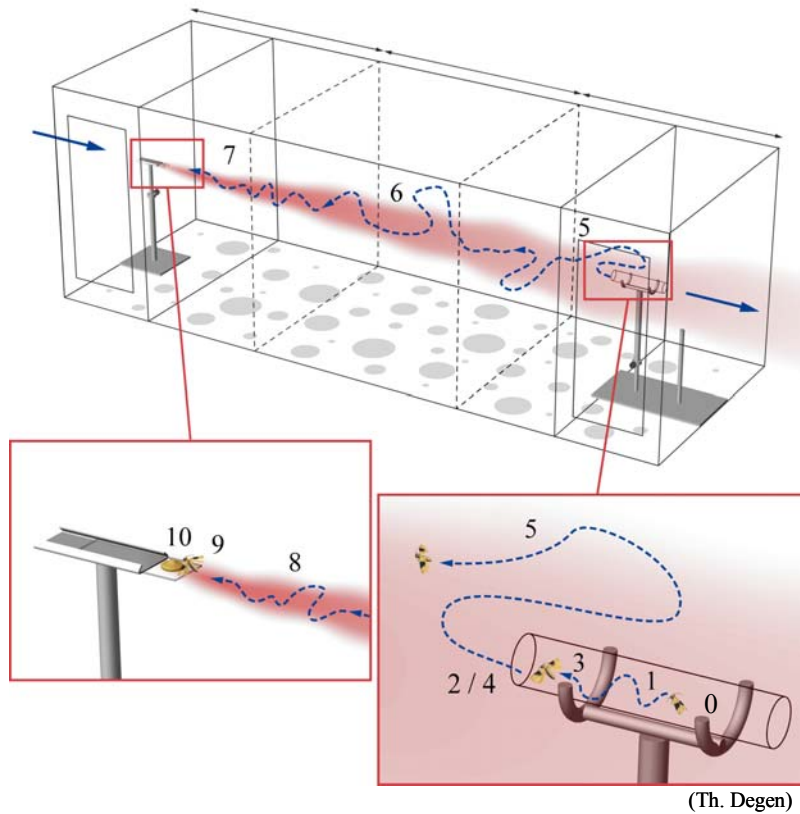
**Un troisième essai**, réalisé simultanément à ce dernier durant la période estivale 2006 à l'aide de capsules en caoutchouc, est installé sur deux vignobles situés dans le canton de Vaud. Ces vignobles sont choisis en fonction de la densité de population évaluée lors du premier vol et de leur éloignement d'une zone en confusion sexuelle. Les pièges à *E. ambiguella*, contenant les charges 20 µg, 100 µg, 500 µg, 1 mg, 2 mg et 10 mg de Z9-12:Ac, sont placés dans un vignoble localisé sur la commune d'Arnex sur Orbe. Ceux à *L. botrana*, abritant les appâts de 10, 50, 100, 500 µg, 1 mg et 5 mg sont mis en place dans un vignoble de la commune d'Arnex sur Nyon. Dans cette étude, les pièges à *L. botrana* sont contrôlés tous les jours au cours de la période d'émergence maximale puis deux fois par semaine. Les pièges à *E. ambiguella* sont contrôlés une fois par semaine. Ces deux types de pièges sont placés le 17 juillet 2006, peu après le début du second vol. Le retrait des pièges s'est effectué le 1<sup>er</sup> août 2006, au terme du second vol.

➤ **Test en tunnel de vol**

Le tunnel de vol utilisé dans cette étude est une enceinte cubique de 185 cm de long, 65 cm de large et 65 cm de hauteur. Les vitres le constituant sont en Perspex. Un ventilateur compact (Fischbach Ventilation LTD) est situé dans les deux extrémités du tunnel de vol. L'air entrant dans le système passe au travers de 4 x 4 filtres à charbon (Camcarb, Camfil AG) et un filtre à poussière (3CPM-24246-90, Camfil AG). Il est ensuite « nettoyé » en passant au travers d'un autre filtre à charbon. Le système est parcouru par un flux d'air transportant le signal chimique depuis sa source (femelle ou source phéromonale de synthèse) jusqu'au récepteur: 1 mâle. Un papier blanc installé sur le sol de l'enceinte est couvert de 54 formes circulaires noirs de diamètres différents ( $\varnothing$ : 2-12 cm) afin de fournir un marquage visuel à l'insecte. Le seul éclairage présent est une lumière rouge d'une intensité de 5 lux située au-dessus du système (24 ampoules de lumière blanche, 2.5 lux; 15W, E14 clair; 10 ampoules de lumière rouge, 2.5 lux, Osram belcolor 25W E 27). La température, l'humidité relative et la vitesse du vent sont des paramètres contrôlés, soit  $19\pm 1^{\circ}\text{C}$  pour *E. ambiguella* et  $22\pm 1^{\circ}\text{C}$  pour *L. botrana*,  $80\pm 10\%$  HR et  $0.35\pm 0.03$  m/s. Ils sont mesurés avant et après chaque observation à l'aide d'un Testo 452 « anémomètre » (Testo GmbH & Co, Leuzkirch, Germany).

Les individus testés sont âgés de 3 jours. Afin de pouvoir effectuer les observations durant la journée, la photopériode est inversée avec une nuit commençant à 9h00. Les deux espèces étudiées diffèrent dans leur période d'activité. *Lobesia botrana* est actif au cours des deux premières heures de la scotophase tandis que *E. ambiguella* a une période d'activité au cours des 5 et 6 heures suivantes. Il est donc possible de maintenir les deux espèces dans la même salle climatisée et de les observer l'une après l'autre. Le jour du test, mâles et femelles sont placés individuellement dans un tube de verre ( $\varnothing$ : 2.5 cm; l: 15 cm) fermé aux deux extrémités par un tissu de polyester perforé laissant passer l'air, puis transporté dans la salle climatisée où se trouve le tunnel de vol, et cela trois heures avant le début de l'observation.

Les sources phéromonales EcoTape testées sont fabriquées de manière artisanale. Constituées de 1, 2, 4 et 8 mg, pour *E. ambiguella* et 0.5, 1, 2 et 4 mg pour *L. botrana*, elles sont placées sur une lame de verre située à 15 cm de l'extrémité du tunnel et 30 cm de hauteur. Une femelle est utilisée comme contrôle. Le tube renfermant celle-ci sera placé au même endroit. Le mâle testé est lâché à une distance d'environ 140 cm de la source. Le tube le contenant est déposé sur un support d'une hauteur de 30 cm. Le tissu permettant la fermeture du tube est immédiatement retiré au moment de l'exposition à la source. Chaque mâle est observé pendant une durée variable selon qu'il présente ou pas un comportement influencé par la source.



Index des comportements:

---

*Phase inactive*

- 0 Pas d'activité

*Phase d'activation par la source*

- 1 Mouvement à l'intérieur du tube
- 2 Envol immédiat, sans stimulation par la source
- 3 Stimulation par la source: battement rapide des ailes, recherche du nuage phéromonal au sein du tube

*Phase de recherche de la source*

- 4 Envol après stimulation par la source
- 5 Recherche du nuage phéromonal; Vol orienté en direction de la source (172 à 112 cm de la source)
- 6 Vol orienté (112 à 52 cm de la source)
- 7 Vol orienté (52 à 10 cm de la source)

*Phase d'approche*

- 8 Approche à 10 cm de la source (10 à 1 cm de la source)
  - 9 Approche à 1 cm de la source
  - 10 Contact avec la source
- 

Figure 2.3: Séquences comportementales du mâle enregistrées pendant l'exposition à la source phéromonale.

L'observation se termine après deux minutes lorsque le mâle ne présente aucun signe d'activation au sein du tube, soit un battement des ailes ou une danse. Dix étapes du comportement allant du battement des ailes (activation) au contact, en passant par l'envol, le vol orienté en direction de la source et la phase d'approche sont enregistrées selon un index décrit Figure 2.3. Dans le cas où la source phéromonale est une femelle, le contact se définit indirectement lorsque le mâle se pose sur le tissu de polyester.

Un total de 200 mâles de l'espèce *L. botrana* et de 175 mâles de l'espèce *E. ambiguella* ont été testés dans cet essai.

#### **2.2.4. Traitement des données**

Les données de piégeage issues des essais appâtés à l'aide des sources EcoTape sont traitées statistiquement à l'aide d'une analyse de variance réalisée avec le logiciel le XLstat® 2007. Pour déterminer les différences entre les traitements un test post-hoc de "Bonferoni" est réalisé avec un seuil de signification de 5%.

La courte durée des essais réalisés à l'aide des capsules, combinée au faible nombre de contrôles des pièges (3 pour *E. ambiguella* et 5 pour *L. botrana*) n'a pas permis d'effectuer un test statistique sur les données obtenues.

Dans l'étude en tunnel de vol, seule une analyse graphique est réalisée en raison du nombre variable d'individus testés selon les traitements.

## 2.3. Résultats

Afin de faciliter la compréhension des résultats, les deux espèces étudiées sont présentées séparément.

### 2.3.1. *Eupoecilia ambiguella*

#### ➤ Essais en vignoble

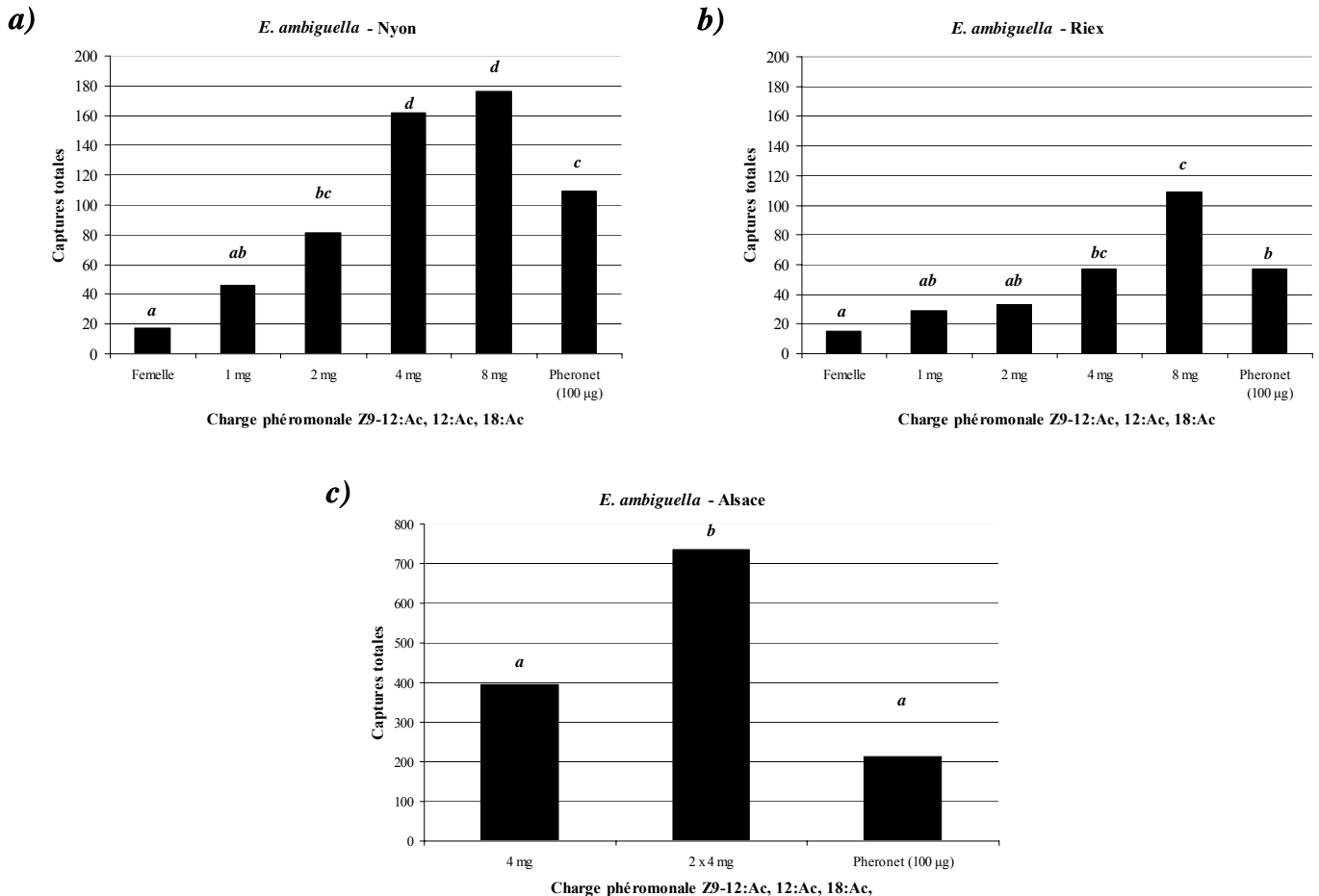


Figure 2.4: Influence de la charge du bouquet phéromonal contenu dans un appât EcoTape sur le piégeage de *E. ambiguella* sur les sites de a) Nyon, b) Riex et c) Alsace. Les nombres de captures totales possédant des lettres différentes sont significativement différents ( $P < 0.05$ ).

Dans le cas de l'espèce *E. ambiguella*, 591 individus ont été piégés sur le site de Nyon et 301 sur le site de Riex durant l'étude réalisée en 2005. L'analyse statistique des résultats montre des différences significatives entre les captures des différents pièges et cela pour les deux sites étudiés ( $F_{5;408}=19.72$ ;  $P < 0.0001$  sur le site de Nyon;  $F_{5;242}=8.34$ ;  $P < 0.0001$  à Riex). Les pièges installés sur les deux répétitions au sein d'un même site se comportent de la même façon ( $F_{5;408}=0.98$ ;  $P=0.431$  dans le cas de Nyon, et  $F_{5;242}=1.85$ ;  $P=0.102$  dans le cas de Riex). Sur

les deux sites, la tendance est à l'augmentation des captures lorsqu'on augmente la charge en phéromones dans les appâts (Figure 2.4). Sur le site de Nyon, les appâts contenant 4 et 8 mg de phéromones sont les plus attractifs avec un nombre de captures égal à 162 et 176 mâles (Figure 2.4.a). A Riex, seul l'appât contenant 8 mg de phéromones se démarque des autres pièges avec 106 captures (Figure 2.4.b). L'appât de type Pheronet, possède une attractivité intermédiaire entre les appâts à charge basse (1 et 2 mg) et les appâts à charge haute (4 et 8 mg), et cela dans les deux sites étudiés. Dans les deux sites, la femelle est l'appât ayant le moins capturé avec respectivement 17 et 15 captures sur les sites de Nyon et Riex.

Afin d'obtenir de plus amples informations sur l'attractivité des appâts contenant 4 et 8 mg de phéromone Z9-12:Ac, cet essai est également répété sur un vignoble alsacien au cours de la période de vol des vers de la grappe de l'année 2006. Ces deux appâts, fabriqués de manière industrielle, sont mis en comparaison avec une capsule standard de piégeage de type Pheronet. Dans le cas de l'analyse des captures obtenues pour *E. ambiguella*, aucun effet de position n'a été mis en évidence ( $F_{5,69}=0.21$ ;  $P=0.957$ ). Un total de 1343 individus est capturé tout au long de cet essai (Figure 2.4.c). Le traitement statistique global des données démontre une différence significative entre le nombre de captures obtenues dans les pièges contenant les différentes sources étudiées ( $F_{2,69}=11.79$ ;  $P<0.0001$ ). Avec un nombre d'individus piégés égal à 736, la source contenant la plus forte charge en phéromone (2 x 4 mg) est significativement la plus attractive. Il n'y a pas de différence significative entre l'attractivité de l'appât contenant 4 mg de phéromone (soit 394 individus) et la capsule standard Pheronet (soit 213 individus). La Figure 2.5.c, montre que l'augmentation de la charge phéromonale de l'appât permet une augmentation des captures.

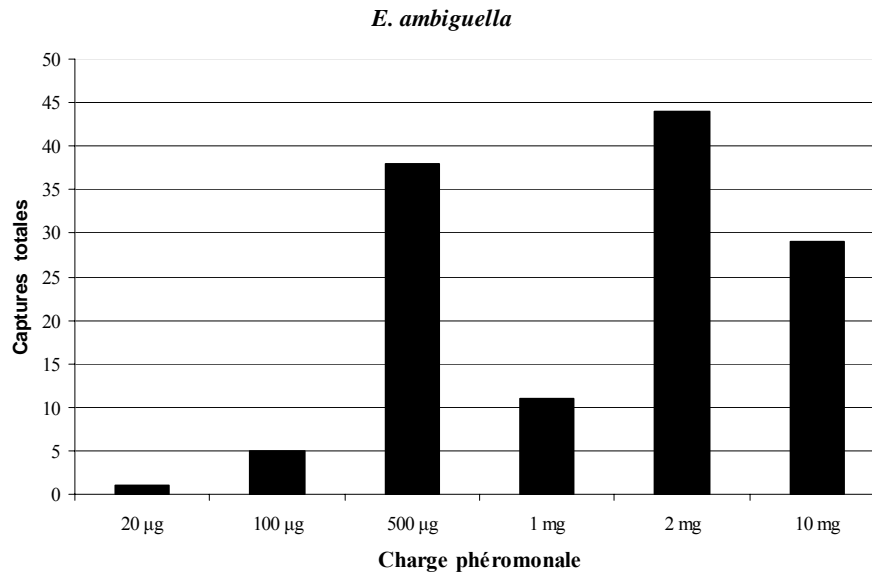


Figure 2.5: Distribution des captures totales d'*E. ambiguella* appâtées, en vignoble, avec une capsule en caoutchouc contenant différentes charges du bouquet phéromonal Z9-12:Ac, 12:Ac, 18:Ac (1:1:2)

L'étude réalisée à l'aide des capsules en caoutchouc a permis de piéger au total 128 individus. Les résultats obtenus (Figure 2.5) montrent la même tendance que ceux obtenus lors de l'étude avec les EcoTapes. En effet, les très faibles charges, 20 et 100 µg, ont piégé un petit nombre d'individus soit respectivement 1 et 5 individus. Les pièges munis de capsules contenant 500 µg et 2 mg sont les pièges ayant capturé le plus d'individus, soit 38 et 44 mâles. Il est à noter le faible nombre de mâles capturés par le piège appâté de 1 mg de phéromones. Aucune tendance ne semble se distinguer concernant une meilleure attractivité de l'un ou l'autre piège. La seule conclusion que l'on peut tirer de ces résultats est que les capsules contenant une charge importante en phéromones semblent plus attractives.

➤ Tunnel de vol

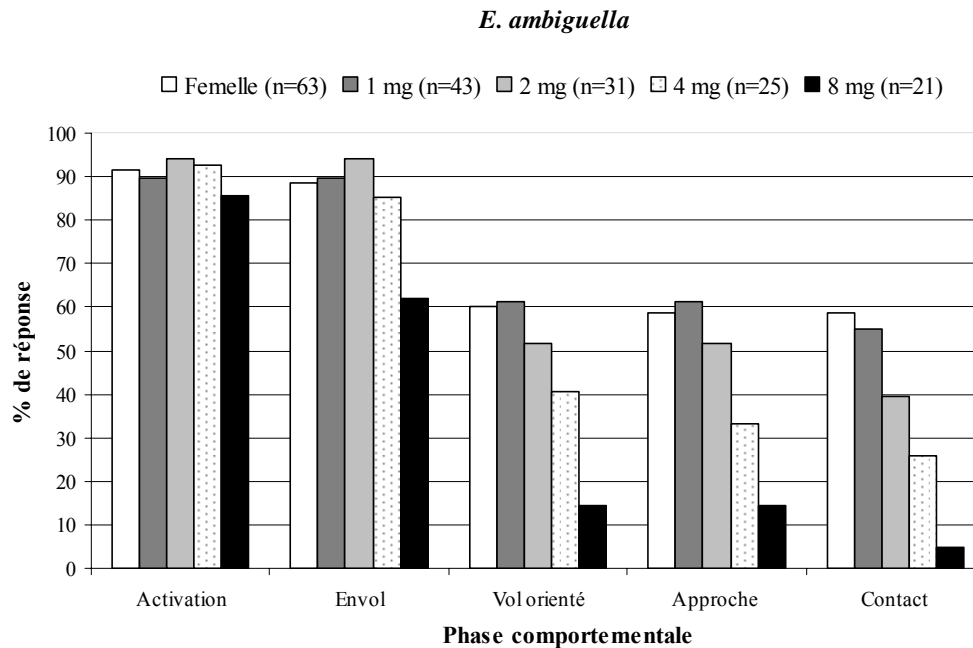


Figure 2.6: Réponse comportementale des mâles de l'espèce *E. ambiguella* exposés en tunnel de vol à différentes charges du bouquet phéromonal Z9-12:Ac, 12:Ac, 18:Ac aux proportions 1:1:2, contenues dans un appât EcoTape. Elle est exprimée en pourcentage d'individus ayant eu un mouvement dans le tube.

L'ensemble des sources naturelles ou synthétiques étudiées entraîne une activation chez la majorité des mâles exposés. La Figure 2.6 montre que deux tiers des mâles activés ont initié un vol orienté en direction des sources. La quasi-totalité de ceux-ci, en présence d'une faible émission phéromonale par la femelle ou la source de 1 mg, entre en contact avec l'appât. La source contenant 1 mg de phéromones favorise le vol orienté, l'approche et le contact de manière équivalente à la femelle, soit un taux de contact de 59% pour la femelle et 55% pour la source de 1 mg. Lorsqu'on augmente la charge en phéromones, le nombre de réponses diminue. Ainsi, la source contenant 8 mg ne permet qu'un contact sur 21 individus testés (soit 5%).

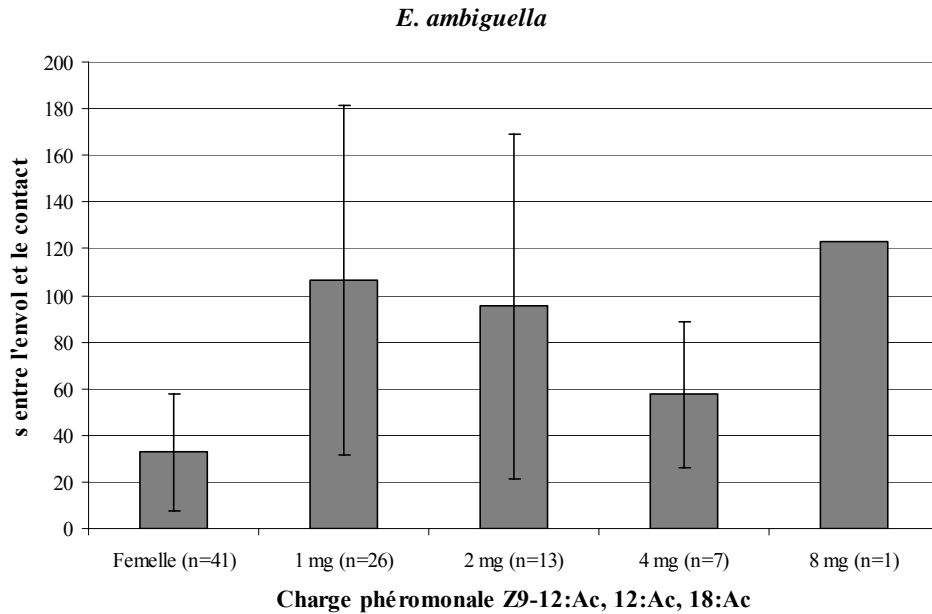


Figure 2.7: Durées moyennes entre la phase d'envol de *E. ambiguella* et le contact avec la source phéromonale exprimées en fonction des charges du bouquet phéromonal Z9-12:Ac, 12:Ac, 18:Ac aux proportions 1:1:2, contenues dans un appât EcoTape exposé en tunnel de vol. Ces données sont exprimées en seconde. La barre d'erreur correspond à l'écart type.

La femelle favorise une durée d'occupation du mâle entre la phase d'envol et le contact la plus courte soit en moyenne 32 secondes (Figure 2.7). Dans le cas d'*E. ambiguella*, lorsqu'on augmente la charge en phéromones la durée moyenne entre la phase d'envol et le contact avec la source a tendance à diminuer, soit 106 secondes pour 1 mg et 57 secondes pour 4 mg. La donnée correspondant aux 8 mg fournit peu d'information car seul un individu est entré en contact avec la source.

### 2.3.2. *Lobesia botrana*

#### ➤ Essais en vignoble

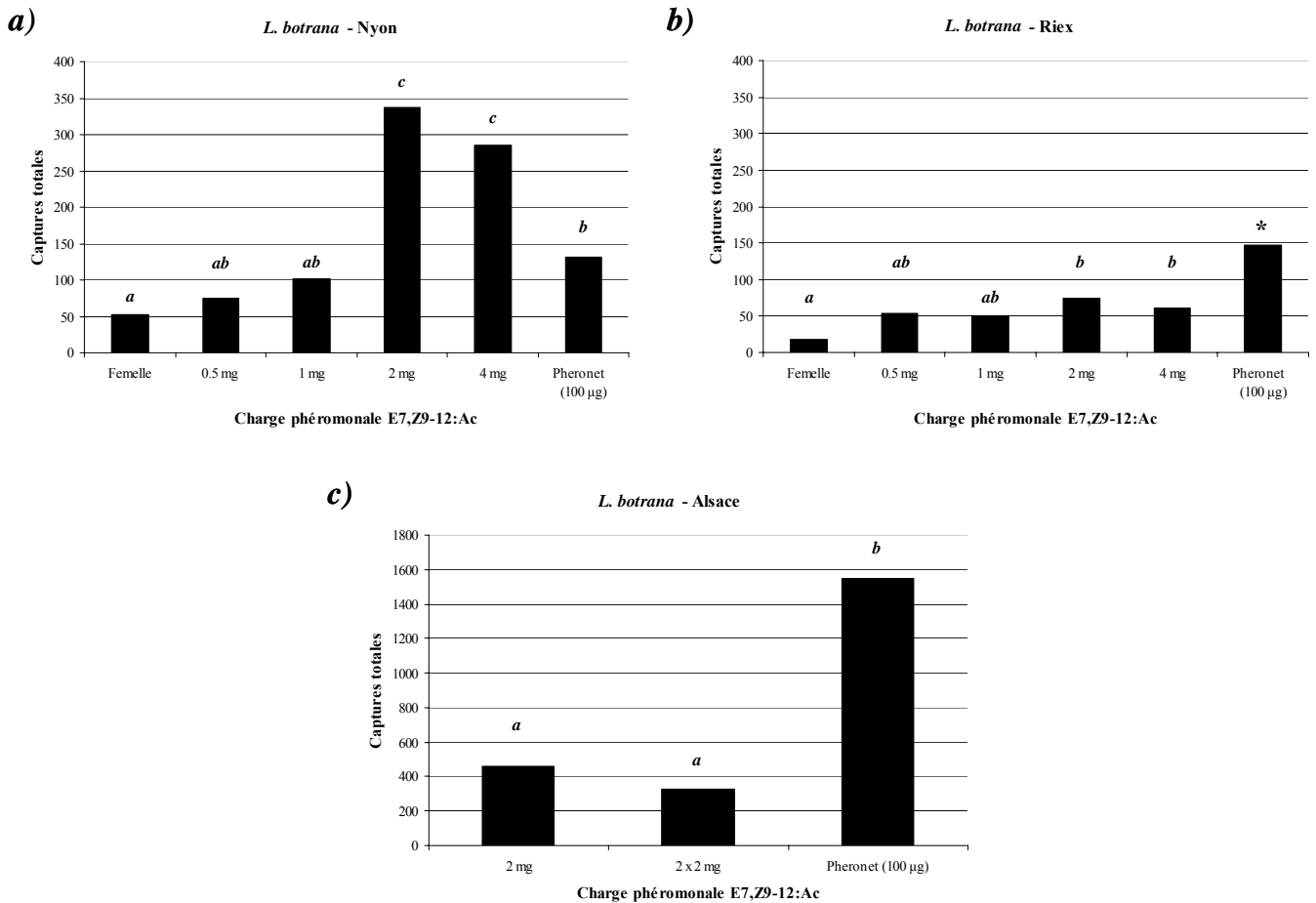


Figure 2.8: Influence de la charge phéromonale de E7,Z9-12:Ac contenue dans un appât EcoTape sur le piégeage de *L. botrana* sur les sites de a) Nyon, b) Riex et c) Alsace. Les nombres de captures totales possédant des lettres différentes sont significativement différents ( $P < 0.05$ ). Dans le cas de Riex, l'analyse statistique est réalisée sans la Pheronet \*.

Un total de 982 et 477 mâles de l'espèce *L. botrana*, correspondant respectivement au site de Nyon et Riex, ont été piégés au cours de l'étude réalisée en 2005. L'analyse statistique des données montre des différences significatives entre les captures des différents pièges et cela pour les deux sites étudiés ( $F_{5;408}=46.45$ ;  $P < 0.0001$  dans le cas de Nyon;  $F_{5;242}=7.76$ ;  $P < 0.0001$  à Riex). Cependant, les résultats obtenus dans les deux sites sont sensiblement différents. Sur le site de Nyon, l'élévation de la charge en phéromone dans les appâts permet une augmentation des captures (Figure 2.8.a). Les pièges contenant 2 et 4 mg de phéromones ont respectivement capturé 338 et 285 mâles sur l'ensemble de l'essai. L'attractivité de ces

deux pièges n'est pas significativement différente l'une de l'autre, mais à l'inverse, est différente de celle des autres pièges testés. Les pièges contenant une plus faible charge, soit 0.5 et 1 mg ont peu capturé, soit respectivement 75 et 101 individus. Avec 52 captures, la femelle est l'appât le moins attractif. Ces trois derniers pièges ne sont pas significativement différents l'un de l'autre. L'attractivité de la capsule Pheronet est intermédiaire avec un nombre de 131 captures. Les résultats obtenus sur le site de Riex ne mettent plus en évidence ces différences d'attractivité des charges testées. En effet, la capsule Pheronet est, sur ce site, l'appât le plus attractif avec 220 captures (Figure 2.8.b). Cependant, après analyse complémentaire, une interaction significative est mise en évidence entre le site de répétition et les appâts ( $F_{4,198}=7.76$ ;  $P<0.0001$ ). Le retrait des données relatives à la Pheronet de l'analyse statistique ne permet pas de mettre en évidence une meilleure attractivité de l'un des appâts avec un nombre total d'individus piégés entre 54 et 74 selon les pièges. Avec 18 mâles capturés, la femelle représente l'appât le moins attractif.

Afin d'obtenir de plus amples informations sur l'attractivité des mélange contenant 2 et 4 mg de phéromone de E7,Z9-12:Ac, et de mieux comprendre le positionnement de l'attractivité de la capsule Pheronet par rapport à ces deux appâts, cet essai est répété sur un vignoble alsacien au cours de la période de vol des vers de la grappe de l'année 2006. Seuls ces trois appâts fabriqués de manière industrielle sont mis en comparaison. L'analyse statistique confirme l'existence de différences significatives entre les appâts ( $F_{2,69}=25.76$ ;  $P<0.0001$ ). Avec un nombre de 1550 captures, l'attractivité de la source Pheronet est significativement meilleure que celle des autres traitements testés (Figure 2.8.c). Les nombres d'individus capturés par les autres pièges contenant 2 mg et 2 x 2 mg, soit respectivement 457 et 325 individus capturés, ne diffèrent pas significativement l'un de l'autre. Le doublement de l'émission phéromonale ne semble pas influencer l'attractivité de l'appât.

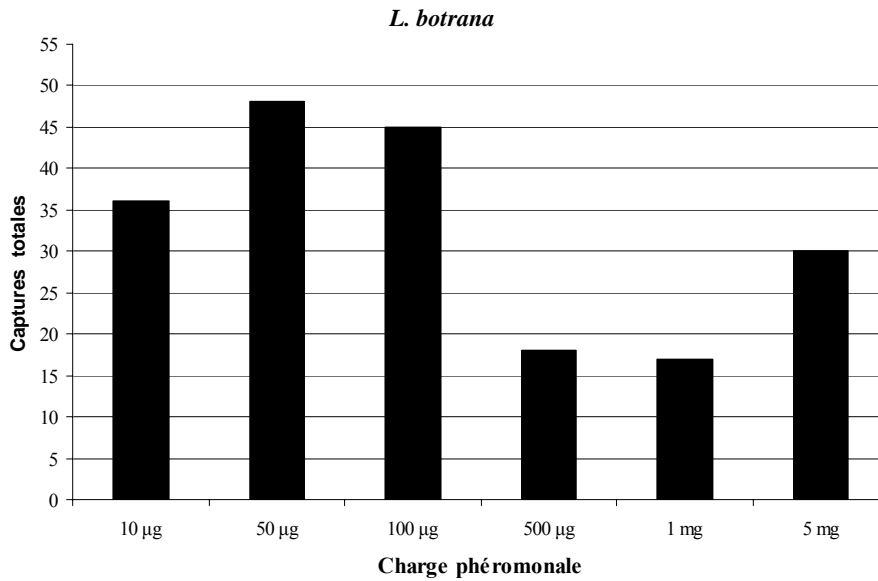


Figure 2.9: Distribution des captures totales de *L. botrana* appâtées, en vignoble, par des capsules en caoutchouc contenant différentes charges du bouquet phéromonal E7,Z9-12:Ac, E7,Z9-12:OH et de Z9-12:Ac (10:2:0.5).

Lorsqu'on étudie l'influence d'une large gamme de charges phéromonales à l'aide de capsules en caoutchouc, on observe une légère tendance donnant l'avantage aux faibles charges contenant 50 et 100 µg, avec respectivement 48 et 45 captures (Figure 2.9). Il y a peu de différence entre le piège contenant la charge phéromonale la plus faible (10 µg) ayant capturé 36 individus et le piège contenant 5 mg de E7,Z9-12:Ac (30 individus). La tendance semble être, dans le cas de *L. botrana*, à une diminution des captures lorsqu'on augmente la charge en phéromone. Au total, 194 individus ont été piégés.

➤ Tunnel de vol

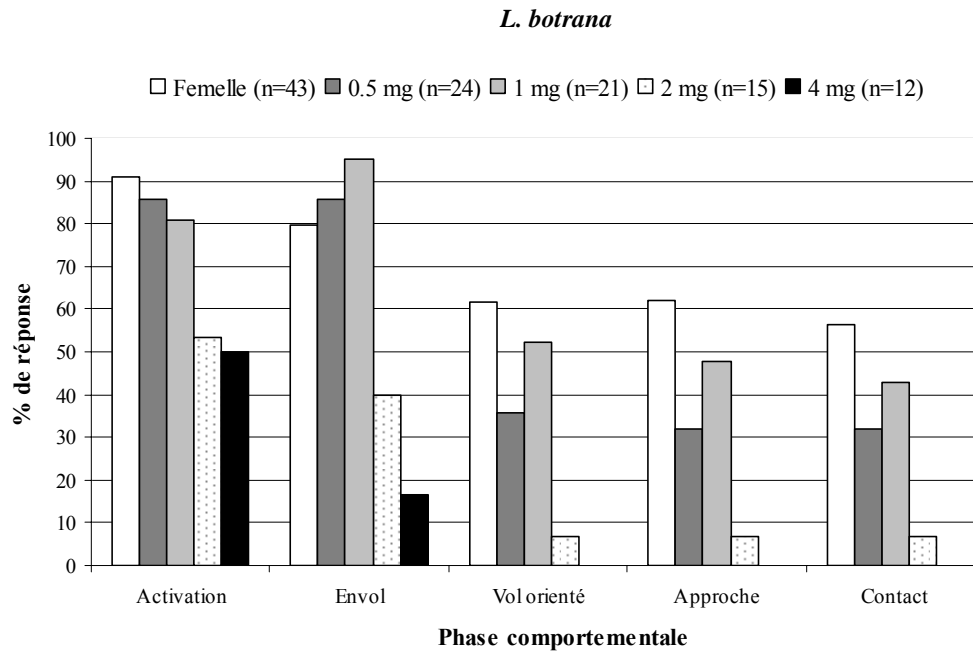


Figure 2.10: Réponse comportementale des mâles de l'espèce *L. botrana* exposés, en tunnel de vol, à différentes concentrations de phéromone (E7, Z9-12:Ac) Elle est exprimée en pourcentage d'individus ayant eu un mouvement dans le tube.

Afin d'observer le comportement du mâle à l'approche de la source, une étude en tunnel de vol a été mise en place afin de comparer l'attractivité des sources artisanales testées en 2005 en vignoble. Chez *L. botrana*, la femelle induit le plus de réponse pour l'ensemble des comportements étudiés excepté pour la phase d'envol (Figure 2.10). La source phéromonale intermédiaire contenant 1mg est l'appât synthétique favorisant le plus de réponse comportementale. Moins attractive que la femelle avec 57% de contact, cette source phéromonale reste tout de même la source synthétique la plus stimulante (32% de contact). A l'inverse, la source contenant le plus de phéromone, 4 mg, ne permet qu'une simple stimulation des mâles. Aucun vol ne se produit en direction de la source.

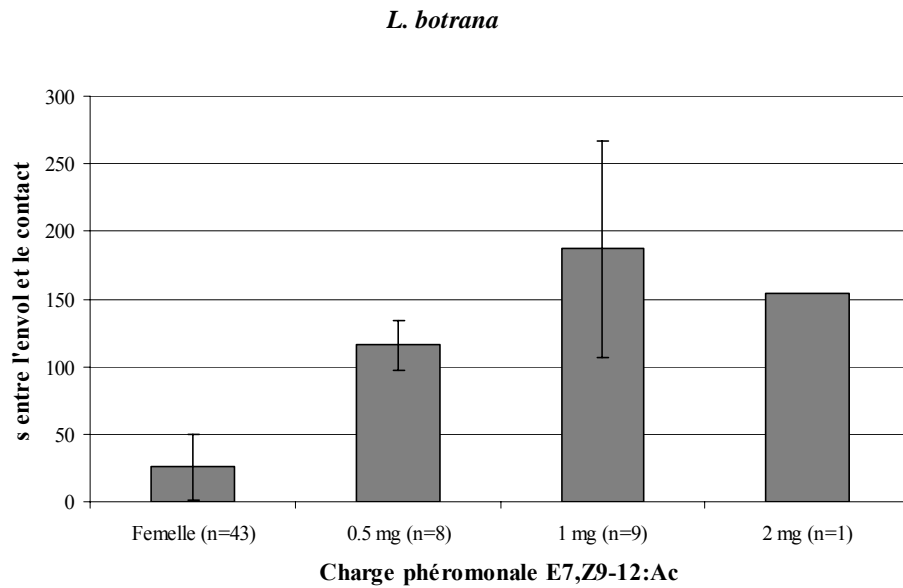


Figure 2.11: Durées moyennes entre la phase d'envol de *L. botrana* et le contact avec la source phéromonale exprimées en fonction des charges phéromonales de E7, Z9-12 :Ac contenues dans un appât EcoTape. Ces données sont exprimées en seconde. La barre d'erreur correspond à l'écart type.

La femelle favorise une durée d'occupation du mâle, entre la phase d'envol et le contact, la plus courte soit en moyenne 25 secondes pour *L. botrana* (Figure 2.11). Cependant, la variabilité est très grande entre les individus testés. Lorsque la charge phéromonale augmente, la durée d'occupation du mâle entre les phases d'envol et le contact avec la source semble également augmenter. On passe ainsi de 115 secondes pour une charge de 0.5 mg de E7,Z9-12:Ac à 187 secondes pour 1 mg. Dans le cas de la source contenant 2 mg de phéromone, seul un individu est entré en contact avec l'appât.

## 2.4. Discussion

Ces essais comparatifs réalisés en vignoble et en tunnel de vol ne permettent pas de déduire définitivement la charge phéromonale optimale d'un appât attracticide pour contrôler *E. ambiguella*. Par contre, *L. botrana* montre une préférence claire pour les appâts contenant de faibles charges en phéromones. Après la discussion des résultats obtenus pour chacune des deux espèces étudiées, des perspectives sont offertes afin d'améliorer le procédé attracticide développé.

### ➤ *Eupoecilia ambiguella*

Quel que soit le site étudié, l'analyse des résultats obtenus au terme des essais réalisés en vignoble montre une attractivité supérieure des appâts contenant les charges en phéromones testées les plus élevées. Dans le cas de l'étude des appâts de type EcoTape, les 4 et 8 mg présentent significativement une meilleure attractivité. Les appâts comprenant 1 et 2 mg de phéromones ont piégé moins d'individus. Il est à noter le nombre de captures intermédiaires obtenues dans les pièges contenant la capsule standard de référence Pheronet imprégnée de 100 µg de phéromones. Cette attractivité supérieure des charges élevées est confirmée par les résultats obtenus dans le troisième essai visant à évaluer l'attractivité d'une large gamme de charge en phéromones imprégnées sur un support en caoutchouc. La tendance est à une meilleure attractivité des charges relativement élevées, où 2 mg est l'appât le plus attractif. Toutefois, l'observation des données brutes montre que la majorité des captures s'est déroulée dans la semaine suivant la pose des pièges. De ce fait, la rotation des pièges, qui permet normalement de pallier ce phénomène, n'a pas eu l'effet escompté. La présence de foyers de population au sein du vignoble pourrait par conséquent favoriser certains pièges en fonction de leur position. Il est alors difficile d'affirmer que l'un ou l'autre de ces pièges a été avantagé ou désavantagé au détriment des autres. Néanmoins, les charges les plus élevées semblent être les plus attractives.

Les résultats obtenus en tunnel de vol ne vont pas dans le sens de ceux obtenus sur le terrain. Les faibles charges en phéromones, soit 1 et 2 mg, favorisent le contact avec la source. Lorsqu'on augmente la charge de phéromones dans les appâts EcoTape, on peut observer une diminution du nombre de réponses dans les différentes phases comportementales étudiées. En opposition à la réduction du nombre de réponses observées en présence de charges relativement élevées, la tendance montre que celles-ci favorisent un temps de vol plus court donnant lieu à un contact plus rapide avec la source.

➤ *Lobesia botrana*

Les résultats obtenus dans l'étude consistant en l'évaluation de l'attractivité de plusieurs charges phéromonales constituant les appâts EcoTape sont contradictoires selon les localisations des essais. Sur le site de Nyon, les appâts contenant les charges de phéromones élevées, soit 2 et 4 mg, sont les plus attractifs. Dans le cas de Riex, l'attractivité d'aucun des appâts EcoTape ne se démarque, mettant en évidence une attractivité nettement supérieure de la capsule standard de référence Pheronet. Les sources phéromonales installées dans le premier essai sont identiques dans les deux vignobles. Or, la variation dans la date d'installation des sources et l'observation des données de piégeage ne permettent pas d'expliquer ces différences. Ces deux études installées en vignoble, confirment chez *L. botrana* l'hétérogénéité d'efficacité des charges phéromonales selon les lieux observés par Roehrich *et al.* (1983). Les données collectées en Alsace l'année suivante corroborent les résultats obtenus sur le site de Riex. La capsule standard de référence Pheronet, contenant la plus faible charge phéromonale testée, est l'appât ayant capturé le plus d'individus. L'attractivité supérieure des appâts contenant de relativement faibles charges en phéromones est confirmée par le troisième essai réalisé à l'aide de capsule en caoutchouc utilisé comme support phéromonaux.

L'observation en tunnel de vol met également en évidence une influence positive des appâts contenant les faibles charges. En effet, les individus activés et ayant initié une phase d'envol à relativement faible dosage sont plus nombreux que ceux exposés aux charges plus élevées. L'augmentation de la charge en phéromone réduit le nombre de réponses comportementales. Le temps d'occupation des mâles entre la phase d'envol et le contact s'accroît avec l'augmentation de la charge en phéromone.

➤ **Synthèse**

Ces essais comparatifs de piégeage sexuel réalisé en vignoble, associé à l'observation du comportement de vol des mâles exposés à des charges variables de phéromones en tunnel de vol, ne permettent pas de déduire définitivement l'ordre de grandeur de la charge à employer pour réaliser un attracticide.

Dans le cas de l'essai réalisé en vignoble, l'observation des données met en évidence un comportement différent des deux espèces étudiées vis à vis des charges en phéromones.

*E. ambiguella* semble préférentiellement attiré par les charges élevées. Ce phénomène déjà observé par Rauscher *et al.* (1984) est favorisé par la présence du bouquet phéromonal à trois composantes au ratio optimal. La présence des composantes mineures restaure, chez

*E. ambiguella*, l'attractivité de la composante majeure lorsque celle-ci est exposée en surdosage (Rauscher *et al.*, 1984; Arn *et al.*, 1986). Ainsi, l'ajout de composantes mineures permet d'utiliser des charges du bouquet phéromonal bien plus élevées en vignoble, que la charge optimale de la composante majeure seule établie en tunnel de vol. A l'inverse, *L. botrana* a été capturé majoritairement par les pièges contenant de faibles charges en phéromones et cela en absence et en présence du bouquet phéromonal contenant les composantes mineures au ratio optimal. Plusieurs tests démontrent que l'ajout des composés secondaires améliore l'attractivité des sources synthétiques chez cette espèce (Arn *et al.*, 1986; Arn *et al.*, 1988; Witzgall et Arn, 1990; El-Sayed *et al.*, 1999). Au vu de ces informations, il est important d'envisager pour les essais futurs mis en place dans le cadre du développement des sources attracticide de type EcoTape, l'utilisation de mélange contenant le bouquet phéromonal reconnu optimal pour ces deux espèces.

Les travaux de Baker et Roelofs (1981) sur *Grapholita molesta* ont montré que la distance de perception du signal chimique augmente avec la charge, tandis que le nombre des insectes se posant près du diffuseur augmente lorsque la charge phéromonale diminue. Roehrich *et al.* (1983) ont également montré chez *L. botrana*, que les appâts contenant des charges élevées de phéromones sont attractifs sur de longues distances. Leurs installations au milieu de grandes surfaces de vignes favorisent cette attractivité. Des charges plus faibles sont alors plus attractives lorsque l'environnement local est moins favorable. Dans le cas présent, on peut imaginer que les mâles ont été attirés à longue distance par les fortes charges, puis à l'approche des pièges, se sont orientés vers les charges faibles plus attractives. Ce phénomène pourrait également expliquer pourquoi dans le cas de *E. ambiguella*, les appâts à relativement haute charge en phéromones se présentent attractifs en piégeage, mais s'avèrent inhibiteurs en tunnel de vol. En effet, lors de l'utilisation de charge trop élevée en tunnel de vol, les mâles sont attirés en direction de la source, mais effectue un vol stationnaire à proximité de celle-ci sans entrer en contact (Murlis, 1992). En opposition, les faibles charges semblent être plus stimulantes et attractives quelque soit l'espèce étudiée. Chez les deux espèces de vers de la grappe, les résultats obtenus en tunnel de vol mettent en évidence un effet inhibiteur sur la phase d'approche des appâts contenant de grandes charges de phéromones. Ceci pourrait s'expliquer dans le cas de *L. botrana* par l'absence de composantes mineures qui se sont montrées essentielles dans l'optimisation des performances d'attractivité des appâts. Ainsi, les résultats concernant l'attractivité des différentes sources phéromonales obtenus en tunnel de vol correspondent partiellement aux conclusions tirées des essais mis en place sur le terrain. Une différence dans le dessin expérimental peut expliquer des différences entre les

traitements phéromonaux sur le terrain et en laboratoire. Les expérimentations réalisées en tunnel de vol favorisent des mesures successives de réponses des mâles à des traitements uniques, exposé aléatoirement, sans leur offrir la possibilité de montrer une préférence pour l'un des traitements. A l'inverse, le piégeage favorise la concurrence entre chaque traitement laissant le choix de la réponse comportementale du mâle (Murlis *et al.*, 1992). Dans le cas d'une étude destinée au développement d'un attracticide, le test en tunnel de vol est plus rigoureux puisque le critère utilisé est le contact du mâle avec la source. Or, sur le terrain, une approche à 10 cm est suffisante pour piéger les mâles (Rauscher *et al.*, 1984). Le tunnel de vol permet une analyse détaillée du comportement (Farkas et Shorey, 1972) mesurant l'effet attractif ou inhibiteur du bouquet phéromonal. Cependant, il ne prend pas en compte l'influence des courants d'air sur la propagation du faisceau phéromonal (Kennedy et Marsh, 1974; Marsh *et al.*, 1978; Vickers et Baker, 1994; Mafra-Neto et Cardé, 1998). Par conséquent, aucune de ces deux méthodes ne semble correctement adaptée. Il serait utile de développer une méthode permettant l'observation du contact des sources en milieu naturel. La mise en place d'une caméra infrarouge exposée face à la source pourrait être envisageable. Elle permettrait de filmer et dénombrer l'approche et les contacts des insectes avec celle-ci en conditions naturelles. Ces observations permettraient ainsi de connaître l'attractivité réelle d'un mélange phéromonal à une charge donnée.

➤ **Perspectives**

La poursuite de fausses traces combinée au contact des sources est nécessaire pour obtenir un attracticide efficace (Palaniswamy et Underhill, 1988). La réalisation des appâts attracticides doit par conséquent prendre en considération le taux de phéromones émis dans la parcelle cultivée. Bien que l'utilisation de sources trop concentrées en phéromones inhibe le contact, l'inconvénient engendré par l'utilisation de sources trop faiblement dosées ne permet plus une protection des générations successives au cours d'une saison. Afin d'optimiser le procédé EcoTape, il est nécessaire de déterminer une charge phéromonale permettant d'allier attractivité, contact avec la source et rémanence sur l'ensemble de la saison.

Le procédé EcoTape offre la possibilité de séparer les sources contenant les phéromones de chaque espèce. Il serait alors possible d'imaginer un procédé contenant un mélange de sources fortement et faiblement chargées: les fortes charges phéromonales induisent une attractivité à longue distance et occupent les mâles pendant un temps plus long (voir en tunnel) et les faibles charges assurent le succès du contact avec l'insecticide. Au terme de la première génération, l'ensemble des sources, moins chargées, assurerait un contact avec l'insecticide

pour les individus du second vol. Une évaluation de l'attaque serait réalisée comme à l'habitude après chaque vol de 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> génération. Si des dégâts élevés sont observés au terme du 1<sup>er</sup> vol, la pression de populations du 2<sup>ème</sup> vol risque d'être importante. Dans ce cas, un second apport contenant des appâts fortement chargés en phéromones peut être envisagé. Cette application ne serait donc pas impérative mais installée au cas par cas.

La séparation des sources permet également d'éviter l'influence du mélange phéromonal de *L. botrana* sur l'attractivité de *E. ambiguella*, notamment décrit chez de nombreuses espèces des Tortricidae (Baker et Cardé, 1979; Evenden et Mc Cloughlin, 2005). Néanmoins, il serait préalablement important de déterminer le degré d'action antagoniste de la composante phéromonale de *L. botrana* sur la stimulation, le comportement d'approche ou le contact de *E. ambiguella* observé par Degen (rapport interne 2003-2004) afin d'estimer la distance exigée entre les appâts des deux espèces. De plus, afin d'améliorer l'attractivité des appâts, il serait sérieusement envisageable d'ajouter des substances volatiles issues de plantes hôtes au mélange phéromones - insecticide. En effet, des études suggèrent que les mâles et les femelles des espèces *L. botrana* et *E. ambiguella* répondent à une variété de composés odorants issus des plantes (Gabel et Thiery, 1994, Tasin *et al.*, 2005, Schmidt-Büser, 2008; Von Arx, 2008). De plus, l'ajout d'odeurs de plantes au procédé attracticide permettrait également de viser les femelles (Gabel, 1992; Gabel *et al.*, 1992; Gabel *et al.*, 1994; Masante-Roca *et al.*, 2002; Tasin *et al.*, 2005; Tasin *et al.*, 2006 *a* et *b*; Tasin *et al.*, 2007). Enfin, il est à noter que l'efficacité optimale pour un attracticide visant les lépidoptères dépend de l'exposition à l'insecticide à travers le contact avec la formulation. Pour de nombreuses espèces, il a été montré que la composante insecticide semble ajouter un effet à la phéromone par l'altération chez les mâles de la réception du signal (Linn et Roelofs, 1984; Haynes *et al.*, 1986, Moore, 1988; Downham *et al.*, 1995; Reinke et Barret, 2007). L'étude de ces éléments permettrait de développer un attracticide efficace pour contrôler les vers de la grappe.

## 2.5. Références

- Alma A., Arzone A., Galliano A., Vittone F., 2001. "Attract and kill". A new IPM method in apple orchards against *Cydia pomonella* (L.). *IOBC/wprs Bulletin*, **24**: 139-143
- Anfora G., Baldessari M., De Cristofaro A., Germinara G.S., Ioriatti C., Reggiori F., Vitagliano S., Angeli G., 2008. Control of *Lobesia botrana* (Lepidoptera : Tortricidae) by biodegradable Ecodian sex pheromone dispensers. *Journal of Economic Entomology*, **101**: 444-450
- Arn H., Rauscher S., Buser H.R., Guerin P.M., 1986. Sex pheromone of *Eupoecilia ambiguella* female: analysis and male response to ternary blend. *Journal of Chemical Ecology*, **12**: 1417-1429
- Arn H., Rauscher S., Guerin P., Buser H.R., 1988. Sex pheromone blends of three tortricid pests in European vineyards. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **21**: 111-117
- Arn H. et Louis F., 1997. Mating disruption in European vineyards. Dans: Insect pheromone research, new directions. Cardé R.T. et Minsk A.K., Editions Chapman & Hall, London, New York: 372-382
- Baker T.C. et Cardé R.T., 1979. Analysis of pheromone-mediated behavior in male *Grapholita molesta*, the oriental fruit moth (Lepidoptera : Tortricidae). *Environmental Entomology*, **8**: 956-968
- Baker T.C. et Roelofs W.L., 1981. Initiation and termination of oriental fruit moth male response to pheromone charges in the field. *Environmental Entomology*, **10**: 211-217
- Bartell R.J., 1982. Mechanism of communication disruption by pheromone in the control of Lepidoptera : a review. *Physiological Entomology*, **7**: 353-364
- Cardé R.T., 1990. Principles of mating disruption. Dans: Behavior-modifying chemicals for insect management: applications of pheromones and other attractants. Ridgway R.L., Silverstein R.M., Insoe M.I., Editions Marcel Dekker Inc, New York: 47-71
- Charmillot P.J., Pasquier D., Alipaz N.J., Neumann U., 1995. Effet d'une ceinture de diffuseurs à attractif sexuel sur la distribution des captures de mâles, des accouplements de femelles attachées et de l'attaque de *Lobesia botrana* Den. & Schiff. en vignoble. *Journal of Applied Entomology*, **119**: 201-206
- Charmillot P.J., Pasquier D., Schmidt A., Emery S., Montmollin A., Desbaillet C., Perrotet M., Bolya J.M., Zuber M., Loizeau E., Boller E., Baur R., 1998. Lutte par confusion en 1997 contre les vers de la grappe eudémis et cochylis en Suisse. *Revue suisse Viticulture, Arboriculture et Horticulture*, **32**: 315-320
- Charmillot P.J., Hofer D., Pasquier D., 2000. Attract and kill: a new method for control of the codling moth *Cydia pomonella*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **94**: 211-216

- Degen T., 2003. Towards an attract-and-kill method for both grapevine moth *Lobesia botrana* and grape berry moth *Eupoecilia ambiguella*. Rapport interne 31 p.
- Degen T., 2004. Towards an attract-and-kill method for both grapevine moth *Lobesia botrana* and grape berry moth *Eupoecilia ambiguella*. Rapport interne 37 p.
- Descoin C., 1990. Grape berry moth and grape vine moth in Europe. Dans: Behavior-modifying chemicals for insect management: applications of pheromones and other attractants. Ridgway R.L., Silverstein R.M., Inscoc M.I., Editions Marcel Dekker Inc, New York: 213-222
- Downham M.C.A., Mc Veigh L.J., Moawad G.M., 1995. Field investigation of an attracticide control technique using the sex pheromone of the Egyptian cotton leafworm, *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Bulletin of Entomological Research*, **85**: 463-472
- El-Sayed A., Godde J., Witzgall P., Arn H., 1999. Characterization of pheromone blend for grapevine moth, *Lobesia botrana* by using flight track recording. *Journal of Chemical Ecology*, **25**: 389-400
- Epstein D.L., Stelinski L.L., Reed T.P., Miller J.R., Gut L.J., 2006. Higher densities of distributed pheromone sources provide disruption of codling moth (Lepidoptera : Tortricidae) superior to that of lower densities of clumped sources. *Horticultural Entomology*, **99**: 1327-1333
- Evenden M.L. et Mc Cloughlin J.R., 2005. Male oriental fruit moth response to a combined pheromone-based attracticide formulation targeting both oriental fruit moth and codling moth (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal of Economic Entomology*, **98**: 317-325
- Evenden M.L., Mc Laughlin J.R., Czokajlo D., 2005. Effects of exposure to pheromone and insecticide constituents of an attracticide formulation on reproductive behaviour of oriental fruit moth (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal of Economic Entomology*, **98**: 334-341
- Farkas S.R. et Shorey H.H., 1972. Chemical trail-following by flying insects: A mechanism for orientation to a distant odor source. *Science*, **178**: 67-68
- Gabel B., 1992. Tansy flowers attract European grapevine moth females, *Lobesia botrana* Den. et Schiff. (Lep., Tortricidae). *Journal of Applied Entomology*, **113**: 153-158
- Gabel B., Thiéry D., Suchy V., Marion-Poll F., Hradsky P., Farkas P., 1992. Floral volatiles of *Tanacetum vulgare* L. attractive to *Lobesia botrana* Den. et Schiff. females. *Journal of Chemical Ecology*, **18**: 693-701
- Gabel B. et Thiéry D., 1994. Non -host plant odor (*Tanacetum vulgare*, Asteracea) affects the reproductive behavior of *Lobesia botrana* Den. et Schiff. (Lepidoptera, Tortricidae). *Journal of Insect Behavior*, **7**: 149-157
- Gabel B., Marion-Poll F., Suchy V., Roehrich R., Hradsky P., Thiéry D., 1994. Olfactory responses of *Lobesia botrana* females (Lepidoptera: Tortricidae) to *Tanacetum vulgare* (Asteracea) flowers extracts and fractions. *Entomological problems*, **25**: 1-7

- Gabel B. et Roehrich R., 1995. Sensitivity of grapevine phenological stages to larvae of European grapevine moth, *Lobesia botrana* Den. & Schiff. (Lep., Tortricidae). *Journal of Applied Entomology*, **119**: 127-130
- Haynes K.F., Li W.G., Baker T.C., 1986. Control of Pink bollworm moth (Lepidoptera: Gelechiidae) with insecticides and pheromones (attracticide): lethal and sublethal effects. *Journal of Economic Entomology*, **79**: 1466-1471
- Kennedy J.S. et Marsh D., 1974. Pheromone-regulated anemotaxis in flying moths: *Science*, **184**: 999-1001
- Linn C.E. et Roelofs W.L., 1984. Sublethal effects of neuroactive compounds on pheromone response thresholds in male oriental fruit moths. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, **1**: 331-344
- Mafra-Neto A. et Cardé R.T., 1998. Rate of realized interception of pheromone pulses in different wind speeds modulates almond moth orientation. *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, **182**: 563-572
- Marsh D., Kennedy J.S., Ludlow A.R., 1978. An analysis of anemotactic zigzagging flight in male moths stimulated by pheromone. *Physiological Entomology*, **3**: 221-240
- Masante-Roca I., Gadenne C., Anton S., 2002. Plant odour processing in the antennal lobe of male and female grapevine moths, *Lobesia botrana* (Lepidoptera, Tortricidae). *Journal of Insect Physiology*, **48**: 1111-1121
- Mc Donough L.M., 1978. Insect sex pheromones; Importance and determination of half-life in evaluating formulations. *USAD, SEA, ARR-W-1*, 20p.
- Moore R.F., 1988. Inhibition of chemical communication between male and female bollworms (Lepidoptera, Noctuidae) by sublethal amounts of permethrin. *Journal of Economic Entomology*, **81**: 78-82
- Murlis J., 1992. Odor plumes and how insect use them. *Annual Review of Entomology*, **37**: 505-532
- Palaniswamy P., Ross R.J., Seabrook W.D., 1982. Mating suppression of caged spruce budworm (Lepidoptera, Tortricidae) moths in different pheromone atmospheres and high population-densities. *Journal of Economic Entomology*, **75**: 989-993
- Palaniswamy P. et Underhill E.W., 1988. Mechanisms of orientation disruption by sex-pheromone components in the redbacked cutworm, *Euxoa ochrogaster* (Guenee) (Lepidoptera, Noctuidae). *Environmental Entomology*, **17**: 432-441
- Rauscher S., Arn H., Guerin P., 1984. Effect of dodecyl acetate and Z-10-tridecyl acetate on attraction of *Eupoecilia ambiguella* males to the main sex pheromone component, Z-9-dodecenyl acetate. *Journal of Chemical Ecology*, **10**: 253-264

- Reinke M.D. et Barret B.A., 2007. Sublethal exposure to methoxyfenozone-treated surfaces reduces the attractiveness and responsiveness in adult oriental fruit moth (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal of Economical Entomology*, **100**: 72-78
- Roehrich R., Carles J.P., Dreuilhe A., Vonderheyden F., 1983. Trapping of *Lobesia botrana* with sexual traps in relation to pheromone dosage in the dispenser. *Agronomie*, **3**:925-929
- Sanders C.J., 1997. Mechanism of mating disruption in moths. Dans: Insect pheromone research, new directions. Cardé R.T. et Minks A.K., Editions Chapman & Hall, London, United Kingdom: 333-346
- Schmidt-Büser D., 2008. Host plant volatiles influence the behavioural responses of the European grape berry moth, *Eupoecilia ambiguella*, to its sex pheromone. Thèse de Doctorat, Université de Neuchâtel, 97 p.
- Schmitz V., Roehrich R., Stockel J., 1995. Etude du mécanisme de la confusion sexuelle chez l'Eudémis de la vigne (*Lobesia botrana* Den. et Schiff.). I. Rôles respectifs de la compétition, du camouflage de la piste odorante et de la modification du signal phéromonal. *Journal of Applied Entomology*, **119**: 131-138
- Stockel J., Schmitz V., Lecharpentier P., Roehrich R., Torres-Vila M., Neumann U., 1994. La confusion sexuelle chez l'eudémis *Lobesia botrana* (Lepidoptera Tortricidae). Bilan de 5 années d'expérimentation dans un vignoble bordelais. *Agronomie*, **2**: 71-82
- Tasin M., Anfora G., Ioriatti C., Carlin S., De Cristofaro A., Schmidt S., Bengtsson M., Versini G., Witzgall P., 2005. Antennal and behavioral responses of grapevine moth *Lobesia botrana* females to volatiles from grapevine. *Journal of Chemical Ecology*, **31**: 77-87
- Tasin M., Bäckman A.C., Bengtsson M., Ioriatti C., Witzgall P., 2006a. Essential host plant cues in the grapevine moth. *Naturwissenschaften*, **93**: 141-144
- Tasin M., Bäckman A.C., Bengtsson M., Varela N., Ioriatti C., Witzgall P., 2006b. Wind tunnel attraction of grapevine moth females, *Lobesia botrana*, to natural and artificial grape odour. *Chemoecology*, **16**: 87-92
- Tasin M., Bäckman A.C., Coracini M., Casado D., Ioriatti C., Witzgall P., 2007. Synergism and redundancy in a plant volatile blend attracting grapevine moth females. *Phytochemistry*, **68**: 203-209
- Torres-Vila L.M., Stockel J., Roehrich R., 1995. Le potentiel reproducteur et ses variables biotiques associées chez le mâle de l'Eudémis de la vigne *Lobesia botrana*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **77**: 105-119
- Vickers N.J. et Baker T.C., 1994. Reiterative responses to single strands of odor promote sustained upwind flight and odor source location by moths. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **91**: 5756-5760
- Von Arx M., 2008; Perception of host plant volatiles contributes to an optimised strategy for reproduction in the European grapevine moth, *Lobesia botrana*. Thèse de Doctorat, Université de Neuchâtel, 148 p.

Witzgall P. et Arn H., 1990. Direct measurement of the flight behaviour of male moths to calling females and synthetic sex pheromone. *Zeitschrift für Naturforschung*, **45**: 1067-1069

Witzgall P., Tasin M., Buser H.R., Wegner-Kiss G., Mancebon V.S.M., Ioriatti C., Backman A.C., Bengtsson M., Lehmann L., Francke W., 2005. New pheromone components of the grapevine moth *Lobesia botrana*. *Journal of Chemical Ecology*, **31**: 2923-2932



### **3. Les phéromones sexuelles: Méthode simple pour évaluer l'influence sur les accouplements**

#### ***Résumé***

L'enthousiasme croissant pour des méthodes de lutte alternatives aussi efficaces qu'un insecticide classique mais plus respectueuses de l'environnement stimule le développement de nouveaux procédés basés sur l'utilisation de phéromones sexuelles. Cependant, la démonstration du degré d'efficacité de ces méthodes est soumise à des contraintes de plus en plus importantes, telles que des pressions variables de population et le coût élevé de l'installation, rendant difficile la mise en place de l'expérimentation. C'est pourquoi, afin de faciliter l'évaluation préliminaire en milieu naturel de ces méthodes de lutte, une procédure expérimentale indépendante de ces contraintes a été élaborée. Celle-ci consiste en la mesure de l'influence du faisceau phéromonal transporté par l'air sur les accouplements de l'espèce étudiée confinée dans une cage. Le dénombrement des accouplements est obtenu par dissection des femelles et observation des spermatophores. Après avoir défini la taille et la structure de la cage utilisée, le nombre de couples testés et la durée de l'exposition doivent être déterminés. Les vers de la grappe, *Lobesia botrana* et *Eupoecilia ambiguella*, sont utilisés comme espèces modèles pour développer cette méthode. Les essais ont montré qu'il est possible de mesurer l'influence de la confusion sexuelle sur les accouplements de vers de la grappe au moyen d'une cage de 35 cm de côté. Pour cela, huit couples sont exposés durant une nuit dans une parcelle où les populations de ravageurs sont maîtrisées par l'installation de diffuseurs phéromonaux. Les résultats obtenus tout au long de ces essais ont également montré la diminution des accouplements des vers de la grappe avec l'augmentation du taux d'émission phéromonale. Installée de manière simple, cette cage présente l'avantage de fournir des résultats rapides, facilitant la mise en place de répétitions sur l'ensemble de la saison et favorisant une analyse robuste des résultats. Cette petite cage est adaptable à divers insectes afin de mesurer l'influence de différentes odeurs sur leur comportement de reproduction.

### 3.1. Introduction

Depuis le début des années soixante, et sous l'engouement social croissant pour la protection de l'environnement, la recherche biotechnique est encouragée pour développer une alternative aux applications de produits insecticides. Une stratégie s'oriente vers l'utilisation des phéromones sexuelles des insectes et offre une nouvelle opportunité de maîtrise des populations de ravageurs. La confusion sexuelle est désormais reconnue comme un moyen efficace pour contrôler plusieurs ravageurs agricoles, notamment le carpocapse *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae) dans les pommiers et les poiriers, le ver rose *Pectinophora gossypiella* (Saunders) (Lepidoptera: Gelechiidae) dans le coton, les vers de la grappe *Eupoecilia ambiguella* (Hübner) et *Lobesia botrana* (Den. et Schiff.) (Lepidoptera: Tortricidae) dans les vignobles (Roelofs et Cardé, 1977; Shorey, 1977; Charmillot, 1990). Devant l'intérêt et le développement économique croissant de ce moyen de lutte, de nombreux projets sont à l'étude. Ils ont pour but de développer des méthodes simples d'application, moins coûteuses en phéromones tout en gardant une bonne efficacité afin de rendre la lutte par confusion sexuelle plus attractive pour les utilisateurs (Thorpe *et al.*, 2007).

Le développement et l'évaluation de l'efficacité de méthodes de contrôle des ravageurs basées sur l'utilisation de diffuseurs phéromonaux sont compliqués. Après l'identification et la synthèse de ces composés, leur attractivité est testée en tunnel de vol et en piégeage en milieu naturel. Une fois le mélange phéromonal établi et les diffuseurs développés, l'étape suivante consiste en l'évaluation du potentiel de ce procédé à inhiber les accouplements des ravageurs visés. Si l'évaluation de l'efficacité d'un insecticide est aisée par la mise en place de petites parcelles d'essais répétés, il est par contre, plus difficile d'évaluer l'efficacité de la confusion sexuelle. Il est établi que la méthode de confusion sexuelle ne protège pas suffisamment les cultures sur de petites surfaces (Judd *et al.*, 1996; Charmillot *et al.*, 2000a et b), ainsi la surface de mise en place de l'essai doit être suffisamment grande pour obtenir des résultats représentatifs. Sur ces parcelles d'essais, plusieurs méthodes sont proposées pour évaluer l'effet des phéromones sexuelles sur l'abondance des ravageurs. L'une d'entre elles enregistre, à l'aide d'un électroantennogramme portable, les stimuli perçus par les récepteurs phéromonaux antennaires fournissant ainsi des informations sur les concentrations de phéromones et la structure du nuage phéromonal présent dans la parcelle d'essai (Koch, 1990; Sauer *et al.*, 1992, Van der Pers et Minks, 1993). Une autre méthode permet l'observation du statut de fécondation des femelles par dissection des genitalia (Palaniswamy *et al.*, 1982; Thorpe *et al.*, 2007). Ainsi, la présence d'un spermatophore dans la bourse copulatrice indique

qu'un accouplement a eu lieu, laissant supposer que la perturbation des accouplements n'a pas été totalement efficace. Pour cela, des femelles sont attachées à l'aide d'un fil sur une nacelle installée sur les plantes hôtes, durant une période donnée. Puis, après dissection, les taux d'accouplements sont dénombrés (Charmillot et Pasquier, 2001; Tcheslavkaia *et al.*, 2005; Thorpe *et al.*, 2007). Mais, la principale manière utilisée pour évaluer l'efficacité de traitements par confusion sexuelle consiste à comparer les pièges de surveillance appâtés d'une capsule de phéromone placée dans les parcelles étudiées (Charmillot et Pasquier, 2001; Thorpe *et al.*, 2007; Anfora *et al.*, 2008). Chaque piège est contrôlé de façon hebdomadaire afin d'y dénombrer le nombre de mâles capturés. Celui-ci sert d'indicateur sur l'efficacité de la lutte. Pour compléter cette information, un dénombrement des dégâts sur les cultures est réalisé afin d'évaluer la pression de population présente (Charmillot *et al.*, 2005; Anfora *et al.*, 2008). Cependant, un petit nombre de mâles capturés dans les pièges de surveillance ne signifie pas toujours un faible pourcentage de dommages. Des études précédentes montrent une faible corrélation entre le nombre de mâles capturés dans les pièges de surveillance et l'importance des dégâts (Harari *et al.*, 2007). La mise en place d'un essai expérimental exige de prendre en considération de nombreux paramètres et notamment la dynamique des populations présentes dans les cultures. En raison du microclimat, de la présence de foyers de population et des pressions de populations variables (voire même parfois faibles) pour de nombreux insectes, ces conditions sont bien souvent difficiles à respecter. Pour toutes ces raisons, les parcelles d'essais sont rarement similaires. L'obtention de conclusions fiables demande la mise en place de plusieurs répétitions indépendantes. La mesure de l'efficacité de nouveaux traitements est contraignante et parfois difficile à mettre en place. Elle nécessite plusieurs années d'expérimentation dans différentes parcelles de surface importantes, ce qui a un coût au niveau de la main d'œuvre et des dépenses financières (Louis *et al.*, 1997; Louis et Shirra, 2001; Degen *et al.*, 2005).

Plusieurs travaux ont essayé de pallier ces contraintes afin de proposer des méthodes alternatives pour obtenir de premières informations sur l'efficacité de la confusion sexuelle en milieu naturel. Ainsi, les travaux de Doye et Koch (2005), ont abouti au développement d'une cage (7 m<sup>3</sup>) placée au centre d'une parcelle traitée en lutte conventionnelle ou par la méthode de confusion sexuelle. Au sein de cette cage des mâles sont lâchés. Afin de mesurer l'efficacité de la méthode de lutte, des pièges appâtés par des femelles en petite cage sont installés au centre de ces structures et le nombre de mâles capturés est dénombré. Une approche similaire fut proposée par d'autres auteurs (Schmidt et Seabrook, 1979; Palaniswamy *et al.*, 1982; Filho *et al.*, 2000; Minamishima *et al.*, 2004; Stelinski *et al.*, 2006).

Le principe de ces méthodes réside également dans l'installation de cages, plus petites (entre 0.001 et 0.2 m<sup>3</sup>), dans lesquelles sont installés librement des couples de l'espèce étudiée, exposés dans un environnement phéromonal. L'observation du statut d'accouplement des femelles par dissection permet d'évaluer l'efficacité de la méthode basée sur l'utilisation de phéromone sexuelle. Cette alternative au piégeage permet de mesurer directement l'influence de la phéromone sur les accouplements et plus uniquement l'effet sur la perturbation du mâle dans sa recherche de partenaire comme mesuré par le piégeage. C'est une estimation plus juste du degré d'efficacité de la méthode de confusion sexuelle (Palaniswamy *et al.*, 1982). Bien que de telles petites cages aient été utilisées dans le passé pour évaluer la méthode de confusion sexuelle en milieu naturel, ce système n'est pas communément employé pour apprécier les nouveaux diffuseurs phéromonaux actuellement en développement. Le perfectionnement de celui-ci aboutirait à l'élaboration d'un test simple, rapide, répétable et peu coûteux, permettant d'obtenir des résultats fiables par la standardisation des populations exposées dans un environnement proche de ce qui se passe en milieu naturel. Destiné à l'évaluation préliminaire des diffuseurs phéromonaux en développement sous condition semi-naturelle, cette méthode serait attrayante et utile pour les industries biotechniques.

Les vers de la grappe *L. botrana* (Denis et Schiffermüller) et *E. ambiguella* (Hübner), majoritairement contrôlés par l'application d'insecticides. Cependant, depuis ces dernières années, les méthodes de lutte basées sur l'utilisation de phéromones sexuelles sont adoptées avec succès dans de nombreux vignobles suscitant leur développement auprès des industries biotechniques (Charmillot *et al.*, 2005; Ioriatti *et al.*, 2004). Dans le but d'améliorer ce système de cage, les vers de la grappe semblent un outil approprié pour élaborer cette méthode d'évaluation préliminaire de diffuseurs phéromonaux. Cette étude présente une approche générique de cette élaboration. Continuellement redéfinie pour aboutir à un prototype satisfaisant, l'efficacité de ce système à mesurer l'influence phéromonale sur les accouplements des vers de la grappe a été appréciée à l'aide de différents moyens de lutte par confusion sexuelle. Finalement, les paramètres de la méthode tels que le nombre d'individus exposés et la durée de l'exposition sont définis, afin d'optimiser la procédure d'évaluation. Cette élaboration est également utilisée pour mesurer l'influence des taux d'émissions phéromonales sur les accouplements des vers de la grappe.

## 3.2. Matériel et méthodes

### 3.2.1. Les insectes

Les souches d'*E. ambiguella* et *L. botrana* utilisées pour ces essais proviennent de l'élevage permanent Agroscope Changins-Wädenswil. Les individus sont élevés comme décrit dans la section 2.2.1. Après émergence, les adultes sont transférés au laboratoire afin d'être conditionnés sous longue photopériode naturelle. Ils sont maintenus dans une boîte cylindrique d'un litre, avec un abreuvoir contenant une solution à 10% de glucose. Ces boîtes sont changées quotidiennement et vaporisées deux fois par jour avec de l'eau. Les couples de vers de la grappe utilisés pour l'expérimentation sont âgés de deux à quatre jours, moment de leur maturité sexuelle.

L'évaluation du statut de fécondation des femelles se fait par dissection des génitalia. Les couples collectés sont conservés dans de l'éthanol à 70% jusqu'à analyse. Au moment de l'étude, ils sont séparés selon le sexe en fonction de leur appareil génital. L'abdomen des femelles est disséqué pour en isoler la bourse copulatrice et conclure s'il y a eu accouplement par la présence ou non de spermatophore. L'ensemble de la préparation des abdomens se fait à 80°C. Pour extraire la bourse copulatrice, les abdomens sont dégraissés par immersion dans une solution de KOH à 12% pendant 5 minutes pour *E. ambiguella* et 10 minutes pour *L. botrana*. Ils sont ensuite plongés durant 10 minutes dans de l'eau déminéralisée, puis rincés dans de l'éthanol à 70% pendant 5 minutes, dans lequel ils peuvent être conservés.

La dissection se fait sous la loupe binoculaire. Chaque abdomen est déchiré afin d'en extraire la bourse copulatrice. Elle est ensuite ouverte pour isoler l'éventuel spermatophore.

### 3.2.2. Traitements

Les odeurs utilisées pour cette étude sont basées sur l'emploi de plusieurs méthodes homologuées ou non pour lutter contre les vers de la grappe. L'émission moyenne des diffuseurs étudiés mentionnés en Table 3.1, fut quantifiée de manière gravimétrique et par chromatographie en phase gazeuse (D. Pasquier, G.F. Anfora, E. Casagrande, communications personnelles).

Table 3.1: Caractérisation des méthodes utilisées pour contrôler les populations de vers de la grappe dans les vignobles étudiés.

Méthode de lutte	Espèces	Phéromone/Diffuseurs	Emission moyenne par diffuseur	Densité/hectare recommandée	Émission moyenne par hectare
Isonet-LE	<i>E. ambiguella</i>	182 mg, Z9-12 :Ac	696 µg / jour	182 mg x 500 diffuseurs = 91 g	456 mg/jour
	<i>L. botrana</i>	182 mg, E7,Z9-12 :Ac	888 µg / jour	182 mg x 500 diffuseurs = 91 g	420 mg/jour
Isonet L-Plus	<i>E. ambiguella</i>	20.4 mg, Z9-12 :Ac	96 µg / jour	20.4 mg x 500 diffuseurs = 10.2 g	48 mg/jour
	<i>L. botrana</i>	159 mg, E7,Z9-12 :Ac	744 µg / jour	159 mg x 500 diffuseurs = 80 g	348 mg/jour
Ecodian	<i>E. ambiguella</i>	10 mg, Z9-12 :Ac	102 µg / jour	10 mg x 2000 diffuseurs x 2 applications = 40 g	205 mg/jour
	<i>L. botrana</i>	10 mg, E7,Z9-12 :Ac	78 µg / jour		156 mg/jour
EcoTape	<i>E. ambiguella</i>	4 mg, Z9-12 :Ac	36 µg / jour	4 mg x 4000 diffuseurs = 16 g	146 mg/jour
	<i>L. botrana</i>	2 mg, E7,Z9-12 :Ac	11 µg / jour	2 mg x 4000 diffuseurs = 8 g	46 mg / jour
Traitement insecticide en 2 <sup>ème</sup> génération	<i>E. ambiguella</i>	-	-	-	-
	<i>L. botrana</i>	-	-	-	-

➤ **Diffuseurs Isonet-LE**

Produits par la firme Shin-Etsu (Japon), ces diffuseurs sont homologués en Suisse depuis 2003 pour contrôler simultanément les populations de *L. botrana* et *E. ambiguella*. Ils contiennent 182 mg de E7,Z9-12:Ac, composante principale du bouquet phéromonal de *L. botrana*, et 182 mg de Z9-12:Ac, composante principale du bouquet phéromonal à *E. ambiguella*. L'émission moyenne de ce type de diffuseur est de 420 mg par hectare et par jour pour la phéromone E7,Z9-12:Ac et 456 mg pour Z9-12:Ac, soit respectivement 696 µg et 888 µg par unité.

➤ **Diffuseurs Isonet-L Plus**

Egalement produits par la firme Shin-Etsu (Japon), les diffuseurs de type Isonet-L Plus sont homologués depuis 2003 pour contrôler les populations de *L. botrana*. Ils ont été développés dans le but de protéger les régions où *L. botrana* est endémique et *E. ambiguella* est sporadique. Ces diffuseurs contiennent 159 mg de E7,Z9-12:Ac émettant moyenne de 348 mg par hectare et par jour (744 µg par diffuseur). Seuls 20.4 mg de Z9-12:Ac constituent ce diffuseur, correspondant à une émission moyenne de 48 mg par hectare et par jour (96 µg par diffuseur).

➤ **Diffuseurs Ecodian**

Les diffuseurs Ecodian, développés par la firme Isagro (Novara, Italie), sont de petits crochets fabriqués en "Mater-Bi", produits par Novamont (Novara, Italie). Cette matière, mixée au mélange phéromonal, est d'origine renouvelable et biodégradable à base d'amidon de maïs et de polymère thermoplastique (Angeli *et al.*, 2007). Ces diffuseurs sont imprégnés de 10 mg de E7,Z9-12:Ac et 10 mg de Z9-12:Ac. Ils ont respectivement une émission moyenne journalière de 78 µg et 102 µg par diffuseur, soit 156 et 205 mg par hectare.

➤ **Diffuseurs EcoTape**

Ce traitement, développé par la firme AgriSense (Royaume-Uni) est actuellement au premier stade d'essai pour lutter contre les vers de la grappe. Cette méthode de lutte consiste à dérouler, le long des fils de palissage de la vigne, un ruban adhésif contenant tous les 60 cm une source de phéromone contenant 2 mg de E7,Z9-12:Ac dans le cas de *L. botrana* et 4 mg du bouquet phéromonal contenant 25% de la composante principale le Z9-12:AC, ainsi que de 25% de 12:AC et 50% de 18:Ac pour *E. ambiguella*. L'émission moyenne de ce traitement correspond à 46 mg par hectare et par jour pour la phéromone E7,Z9-12:Ac et 146 mg pour Z9-12:Ac, soit respectivement 11 et 36 µg par diffuseur.

➤ **Traitement insecticide**

Un vignoble traité à l'aide d'une application de tébufénozide pour maîtriser les populations de seconde génération est utilisé comme contrôle.

**3.2.3. Localisation des essais**

Les essais réalisés dans cette étude sont installés dans différents vignobles situés dans la région de Nyon, en Suisse romande. Ces vignobles sont espacés d'au minimum 750 mètres. Les surfaces d'application des méthodes de lutte varient entre 0.5 et 5.6 hectares. Tous les traitements sont appliqués selon les recommandations des fournisseurs. Les diffuseurs phéromonaux Isonet-LE, Isonet L-Plus, Ecodian et EcoTape sont appliqués juste avant le début du premier vol des vers de la grappe, et du second vol pour ce dernier traitement. Ils assurent une émission permettant de couvrir l'ensemble de la saison.

### 3.2.4. Méthode générale

#### ➤ Cage à grand volume

L'idée de cet essai est inspirée de Doye et Koch (2005). Elle a pour principal objectif d'évaluer la possibilité d'apprécier l'impact du nuage phéromonal présent dans la parcelle de vigne sur l'accouplement des vers de la grappe. Pour cela, une structure métallique d'une surface de 2 m x 2 m x 2 m, entourée d'un tulle en polyester blanc de type moustiquaire de maille 1.5 mm, est installée au centre d'un vignoble au cours de l'été 2006 (Figure 3.1a). Chaque cage entoure deux ceps de vigne. La fermeture est assurée par un velcro sur deux côtés. Ce type de cage permet de maintenir les papillons en milieu fermé, tout en gardant des conditions d'exposition proches de celles du vignoble. Afin de faciliter la collecte des femelles exposées, celles-ci sont attachées à l'aide d'un fil de polyester blanc sur la partie supérieure du thorax. Elles sont ensuite placées individuellement sur une petite nacelle fixée à hauteur des grappes sur les fils de palissage de la vigne traversant la cage (Figure 3.1b). Les femelles attachées sont au nombre de six dans chaque cage, et 14 mâles y sont lâchés. Les femelles sont collectées après trois nuits d'exposition. La cage est alors ouverte pendant trois nuits consécutives pour permettre aux mâles présents de s'en aller et permettre de répéter l'essai.



Figure 3.1: a) Cage d'une surface de 2 m x 2 m x 2 m, entourée d'un tulle en polyester blanc de type moustiquaire de maille 1.5 mm, installée au centre d'un vignoble et entourant deux ceps de vigne ; b) nacelle supportant la femelle attachées

Trois vignobles où les populations de vers de la grappe sont maîtrisées par différentes méthodes de lutte basées sur l'utilisation de la confusion sexuelle: Isonet L-Plus, Ecodian et EcoTape, et un contrôle impliquant un traitement insecticide sont sélectionnés pour la mise en

place de cet essai. Une cage est installée au centre de chacun d'entre-eux. Quatre à six répétitions sont réalisées par traitement de lutte.

L'analyse statistique est réalisée à l'aide du logiciel S-Plus®. Les données sont comparées entre elles à l'aide d'une analyse de variance à un facteur qui est le « traitement ». La variable de réponse est « l'accouplement » des femelles. Pour déterminer quels sont les traitements qui diffèrent, un test post-hoc Tukey HDS est réalisé avec un seuil de signification de 5%.

➤ **Cage de petit volume avec diffuseur au centre**

Afin d'améliorer le dispositif de cage présentée ci-dessus, un nouveau modèle correspondant au principe imaginé par Schmidt et Seabrook (1979) et Palaniswamy *et al.* (1982) est développé. Constituée d'une armature métallique formant un cube de 35 cm de côté, cette cage est recouverte d'un manchon de tissu de type gaze d'une maille de 0.8 mm. La fermeture est assurée par un nœud de chaque côté du manchon. Ce système permet de refermer complètement la cage et par conséquent de maintenir les couples libres dans la structure. Ils peuvent ainsi s'accoupler à leur guise et ne plus être soumis aux contraintes du système d'attache. Plus petite que la précédente, cette cage favorise la collecte des couples et facilite l'installation du système d'étude dans le vignoble.

Dans cet essai, deux cages sont installées, en 2006, sur les palissages de vigne au centre de chacun des quatre vignobles sélectionnés. Dans trois d'entre eux, les populations de vers de la grappe sont maîtrisées par différents moyens de lutte basés sur l'utilisation de phéromones sexuelles (Isonet L-Plus, Ecodian et EcoTape). Le dernier correspond à un vignoble contrôle impliquant un traitement insecticide. Cinq couples de l'espèce étudiée sont déposés en fin d'après midi dans chaque cage en présence d'un diffuseur prélevé dans le vignoble et fixé au centre de la cage afin de mesurer le potentiel de ce prototype à mesurer l'inhibition des accouplements. L'installation de cette source phéromonal au centre de la cage Après une nuit d'exposition, les individus sont collectés et conservés dans de l'alcool à 70% jusqu'à dissection. Cinq à huit répétitions sont réalisées pour l'espèce *E. ambiguella* et cinq à onze pour *L. botrana*, selon les traitements utilisés.

L'analyse statistique est réalisée comme décrit à la section 3.2.4 « cage à grand volume ». Puis, une régression linéaire est réalisée sur l'ensemble de ces données afin d'analyser l'influence du taux d'émission phéromonale sur l'accouplement.

➤ **Cage de petit volume sans diffuseur au centre**

Durant la fin de l'été 2006, un nouvel essai est mis en place. Il a pour objectif d'évaluer le potentiel de ce type de cage à apprécier l'impact du nuage phéromonal présent au sein du vignoble sur les accouplements. Pour cela, on retire les diffuseurs installés précédemment au centre des cages positionnées dans les parcelles traitées par l'Isonet L-Plus, l'Ecodian, l'EcoTape. La cage installée dans le vignoble de contrôle est maintenue. Tout comme précédemment, cinq couples sont installés dans la cage et collectés le lendemain matin. Au terme de cet essai, trois à quatre répétitions ont été mises en place pour l'espèce *E. ambiguella* et 11 à 15 pour l'espèce *L. botrana* dans chacun des traitements.

L'analyse statistique est réalisée comme décrit à la section 3.2.4 « Cage de petit volume avec diffuseur au centre ».

➤ **Amélioration de la toile des petites cages**

Au vu des observations et résultats obtenus au cours des essais réalisés en 2006, une modification du tissu utilisé pour contenir les insectes dans la petite structure de 35 cm de côté est nécessaire pour améliorer la perméabilité à l'air de la cage. Ainsi, le manchon de gaze est remplacé par un tissu de polyester blanc de type moustiquaire d'une maille de 1,5 mm (Figure 3.2).



Figure 3.2: Cage de petit volume, de 35 cm de côté, entourée d'un tissu de polyester blanc de type moustiquaire d'une maille de 1,5 mm.

La fermeture est assurée par un velcro sur un côté. Le même test, consistant à déposer cinq couples de l'espèce étudiée durant une nuit dans ce nouveau type de cage, est réalisé au cours de l'été 2007. Deux cages sont installées sur les palissages de vigne au centre de chacun des vignobles étudiés. Deux d'entre eux sont traités à l'aide de l'installation de diffuseurs Isonet-LE ou Isonet L-Plus. Le dernier, correspondant au vignoble contrôle est traité par

l'application d'un insecticide classique. Vingt quatre et 21 répétitions sont respectivement mises en place pour *E. ambiguella* et *L. botrana* dans chacun des vignobles.

Les données sont comparées entre elles à l'aide du logiciel S-Plus®, par la réalisation d'une analyse de variance à deux facteurs, soit le « traitement » et la « date d'exposition ». La variable de réponse est « l'accouplement » des femelles. Pour déterminer quels sont les traitements qui diffèrent, un test post-hoc Tukey HDS est réalisé avec un seuil de signification de 5%. Puis, une régression linéaire est réalisée sur l'ensemble de ces données afin d'analyser l'influence du taux d'émission phéromonale sur l'accouplement.

➤ **Durée optimale d'exposition des couples au sein d'une petite cage**

L'évaluation de l'influence du nuage phéromonal présent dans l'environnement du vignoble sur le comportement d'accouplement des vers de la grappe est désormais possible au sein d'une cage de 35 cm de côté, entourée d'un tissu de type moustiquaire. Il est important de finaliser cette méthode en définissant la durée d'exposition optimale des couples présents au sein de ce type de cage. Durant l'été 2008, cinq couples de l'espèce *E. ambiguella* sont déposés pour une, deux ou trois nuits dans six cages installées dans chacun des vignobles utilisés pour cet essai. Des diffuseurs Isonet-LE ou Isonet L-Plus sont placés dans deux d'entre eux. Le troisième est le vignoble contrôle traité par insecticide. Cet essai est réalisé sur cinq répétitions dans chacun des traitements.

L'analyse statistique est réalisée à l'aide du logiciel statistique S-Plus®. Les accouplements obtenus dans les différents traitements sont comparés à l'aide d'une analyse de variance à deux facteurs que sont « la durée d'exposition » et « le traitement ». La variable de réponse est l'accouplement des femelles. Pour déterminer les traitements qui diffèrent un test post-hoc Tukey HDS est réalisé avec un seuil de signification de 5%.

➤ **Densité optimale des couples au sein d'une petite cage**

Parallèlement à cette étude de durée d'exposition, un essai est mis en place en vue d'estimer le nombre optimal de couples à exposer au sein de ces cages pour mesurer l'influence du nuage phéromonal présent dans le vignoble sur les accouplements des vers de la grappe. Pour cela, 1, 2, 5, 8, 12 et 20 couples de l'espèce *E. ambiguella* sont répartis dans six cages installées dans 3 vignobles traités par les méthodes de lutte Isonet-LE, Isonet L-Plus et la parcelle de contrôle. L'exposition des couples se fait durant une nuit. En raison de l'analyse, le nombre de répétitions est propre au nombre de couples exposés, soit trois répétitions pour 1 couple, deux

pour 2 couples et une pour 5, 8, 12 et 20 couples. Chaque expérimentation a été répétée quatre fois par traitement.

Les résultats obtenus sont traités statistiquement à l'aide d'une analyse de covariance soit le « traitement » comme facteur et « le nombre de couples exposés » comme covariable. La variable de réponse est l'accouplement des femelles. Pour déterminer quels sont les traitements qui diffèrent, un test post-hoc Tukey HSD est réalisé avec un seuil de signification de 5%.

### 3.3. Résultats

#### 3.3.1. Cage à grand volume

Table 3.2: Pourcentage moyen d'accouplement obtenu chez les femelles attachées en présence de différents traitements phéromonaux.

<b>Espèce</b>	<b>Contrôle</b>	<b>Isonet L-Plus</b>	<b>Ecodian</b>	<b>EcoTape</b>
<i>E. ambiguella</i>	3.3%	0%	0%	16.7%
<i>L. botrana</i>	24.4%	8.3%	0%	13%

Un total de 84 femelles attachées et 196 mâles de l'espèce *E. ambiguella* a été placé dans les cages. Dans le cas de *L. botrana*, 90 femelles ont été attachées et 210 mâles lâchés. Après trois nuits d'exposition, 47 femelles de l'espèce *E. ambiguella* ont été collectées, et 57 de l'espèce *L. botrana*, soit respectivement 57% et 63% de l'effectif. Les individus restant ont disparu par prédation ou décollement. Le taux d'accouplement des femelles attachées obtenu au sein de la parcelle de contrôle (Table 3.2) est faible, et cela pour les deux espèces étudiées, soit 3.3% pour *E. ambiguella* et 24.4% pour *L. botrana*. Les traitements EcoTape, Ecodian et Isonet L-Plus, présentent un taux d'accouplement de 0 à 17% pour *E. ambiguella* et de 0 à 13% pour *L. botrana*. Le test statistique ne montre aucune différence significative entre les pourcentages d'accouplement obtenus dans les différents traitements ( $F_{3;18}=1.91$ ,  $P=0.172$  pour *E. ambiguella* et  $F_{3;20}=0.91$ ,  $P=0.458$  pour *L. botrana*), et cela malgré la supériorité des taux d'accouplements obtenus pour *L. botrana* dans la parcelle de contrôle.

3.3.2. Cage de petit volume avec diffuseur au centre

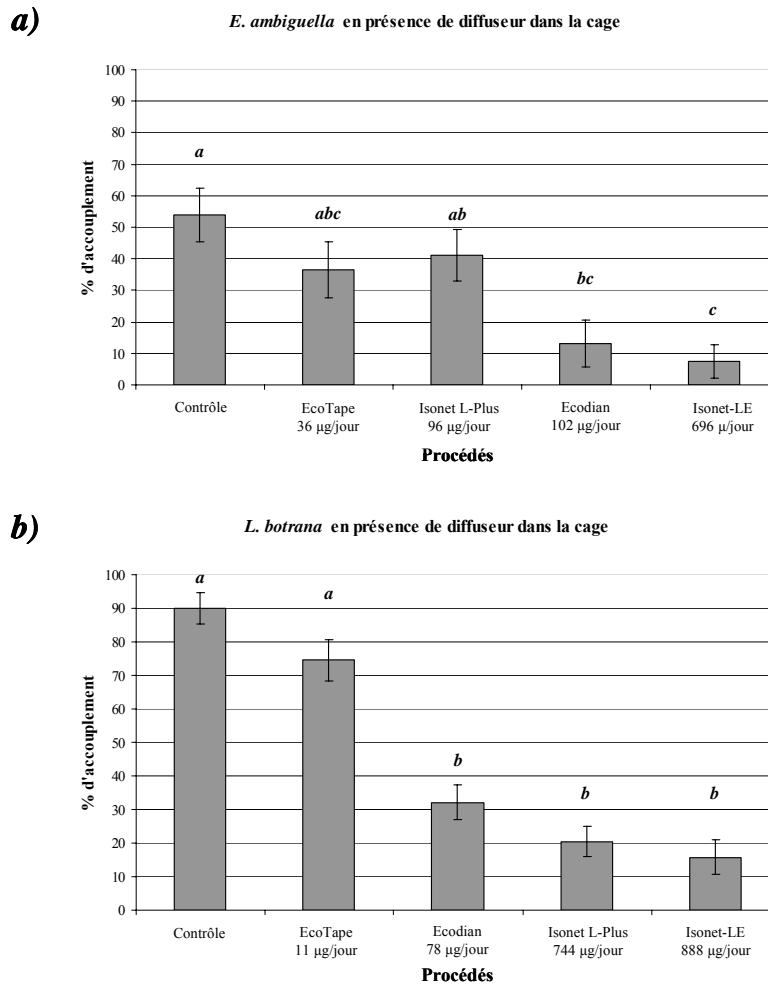


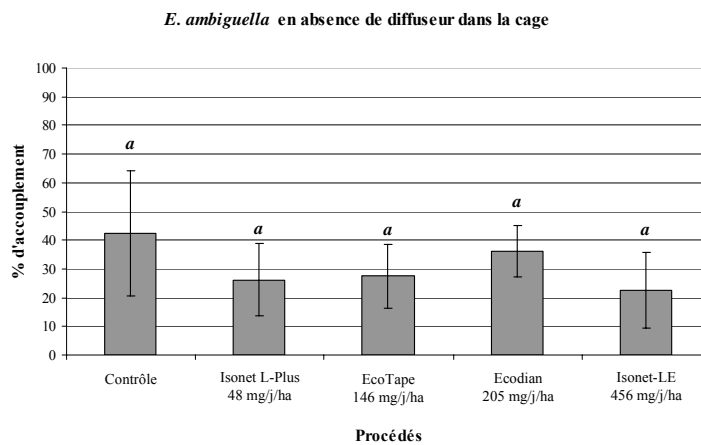
Figure 3.3: Accouplements moyens obtenus en présence de diffuseur dans les cages entourées d'un manchon de gaze pour a) *E. ambiguella* et b) *L. botrana*. Les taux d'accouplement moyens assignés d'une lettre différente sont significativement différents ( $P < 0.05$ ). La barre d'erreur correspond à l'erreur standard.

Sur l'ensemble de cette étude, 83% des femelles exposées furent collectées pour les deux espèces étudiées. Un faible taux de prédation est observé. Les taux d'accouplement obtenus dans la parcelle de contrôle s'élève à 54% pour *E. ambiguella* et 90% pour *L. botrana* (Figure 3.3). L'analyse de variance révèle des différences significatives entre les comportements d'accouplement observés dans le vignoble de contrôle et dans les vignobles traités par l'application de diffuseurs phéromonaux ( $F_{4,40}=5.84$ ,  $P=0.001$  pour *E. ambiguella* et  $F_{4,59}=41.61$ ,  $P < 0.0001$  pour *L. botrana*). Dans le cas de l'espèce *E. ambiguella*, seuls les diffuseurs Ecodian et Isonet-LE ont une influence significative sur le comportement d'accouplement par rapport au contrôle (Figure 3.3 a). La régression linéaire montre que les accouplements diminuent avec l'augmentation du taux d'émission phéromonale (accouplement =  $-0.18$  taux d'émission + 38.86 ;  $R^2=0.17$  et  $P=0.005$ ). Chez *L. botrana*, les

diffuseurs Ecodian, Isonet L-Plus et Isonet-LE, influencent l'accouplement moyen obtenu après une nuit d'exposition en comparaison aux résultats obtenus dans la parcelle de contrôle (Figure 3.3 *b*). De même, les accouplements diminuent avec l'augmentation du taux d'émission phéromonale (accouplement =  $-0.28$  taux d'émission + 65.34 ;  $R^2=0.46$  et  $P<0.001$ ).

### 3.3.3. Cage de petit volume sans diffuseur au centre

**a)**



**b)**

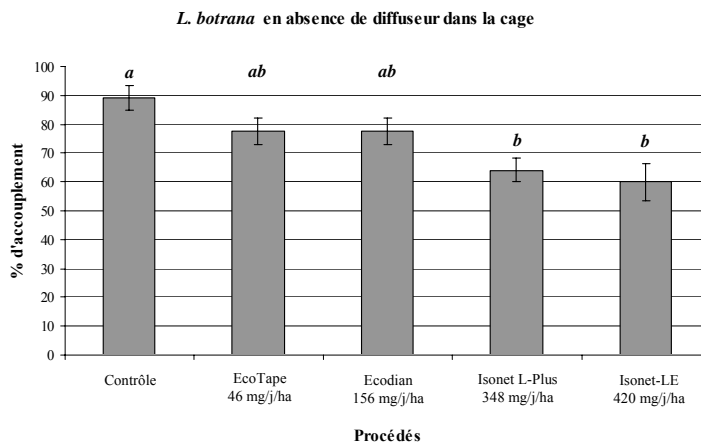


Figure 3.4: Accouplements moyens obtenus dans les cages entourées d'un manchon de gaze en absence de diffuseur au centre pour a) *E. ambiguella* et b) *L. botrana*. Les taux d'accouplement moyens assignés d'une lettre différente sont significativement différents ( $P<0.05$ ). La barre d'erreur correspond à l'erreur standard.

Le taux de récupération des femelles après une nuit d'exposition s'élève à 98%. En dépit des variations observées au sein des répétitions, l'accouplement moyen obtenu est de 42% pour *E. ambiguella* et 89% pour *L. botrana* (Figure 3.4). Le retrait du diffuseur de la cage ne permet plus aux traitements appliqués d'influencer les accouplements d'*E. ambiguella* (Figure

3.4 a). En effet, l'analyse statistique des données ne révèle pas de différences significatives entre les traitements ( $F_{4,15}=0.33$ ,  $P=0.852$ ) pour cette espèce, avec un taux d'accouplement moyen de 30%. La régression linéaire ne permet pas de montrer dans ce cas que les accouplements diminuent avec l'augmentation du taux d'émission phéromonale (accouplement =  $-6.59 \cdot 10^{-2}$  taux d'émission + 33.85 ;  $R^2=0.03$  et  $P=0.45$ ). Inversement, dans le cas de *L. botrana* un effet significatif des traitements phéromonaux est observable ( $F_{4,42}=5.36$ ,  $P=0.001$ ) (Figure 3.4 b). Avec respectivement 64 et 60% d'accouplements moyens obtenus, seuls les traitements Isonet L-Plus et Isonet-LE influencent significativement le comportement de reproduction des vers de la grappe par rapport aux résultats obtenus dans le contrôle. Dans le cas de cet essai, les accouplements chez *L. botrana* diminuent avec l'augmentation du taux d'émission phéromonale (accouplement =  $-0.12$  taux d'émission + 82.17;  $R^2=0.30$  et  $P<0.001$ ).

Les taux élevés d'accouplements obtenus, quels que soient les traitements étudiés dans ce second essai, comparés à ceux obtenus en présence d'un diffuseur présent dans la cage, nous indiquent une insuffisance de la perméabilité à l'air du manchon de gaze utilisé pour constituer la cage.

### 3.3.4. Amélioration de la toile des petites cages

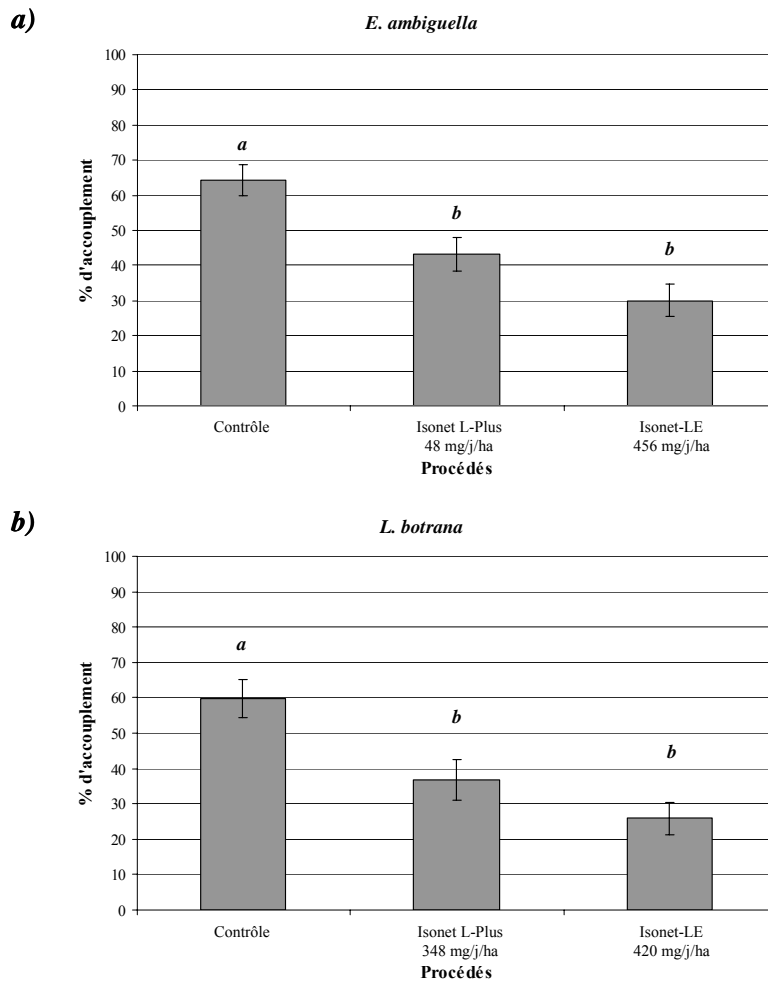


Figure 3.5: Accouplements moyens obtenus, en 2007, dans les cages entourées d'un tissu de type moustiquaire pour a) *E. ambiguella* et b) *L. botrana*. Les taux d'accouplement moyens assignés d'une lettre différente sont significativement différents ( $P < 0.05$ ). La barre d'erreur correspond à l'erreur standard.

Au cours de l'année 2007, le manchon de gaze entourant la cage est remplacé par un tissu de polyester blanc de type moustiquaire d'une maille de 1,5 mm. Le taux de récupération des femelles exposées s'élève à 94%. Le nombre moyen de femelles accouplées obtenus dans le vignoble de contrôle est de 64% pour *E. ambiguella* et 59% pour *L. botrana*. Dans le cas de *E. ambiguella*, les accouplements ne sont pas statistiquement influencés par le jour d'exposition ( $F_{25;63}$ ,  $F=1.26$ ,  $P=0.227$ ). Ce phénomène est, à l'inverse, observé chez *L. botrana* ( $F_{27;62}$ ,  $F=5.03$ ,  $P < 0.001$ ). Les taux d'accouplements diffèrent significativement entre les traitements basés sur l'utilisation de phéromone sexuelle et la parcelle de contrôle pour les deux espèces ( $F_{2;63}=15.18$ ,  $P < 0.001$  pour *E. ambiguella* et  $F_{2;62}=26.73$ ,  $P < 0.001$  pour *L. botrana*) (Figure 3.5). Il n'y a pas de différence significative entre les accouplements moyens obtenus dans les deux traitements phéromonaux. Les régressions linéaires montrent

que les accouplements diminuent avec l'augmentation du taux d'émission phéromonale pour *E. ambiguella* (accouplement =  $-1.49$  taux d'émission +  $0.56$  ;  $R^2=0.19$  et  $P<0.001$ ) et *L. botrana* (accouplement =  $-1.71$  taux d'émission +  $0.60$ ,  $R^2=0.18$  et  $P<0.001$ ).

### 3.3.5. Durée optimale d'exposition des couples d'*E. ambiguella* au sein d'une petite cage

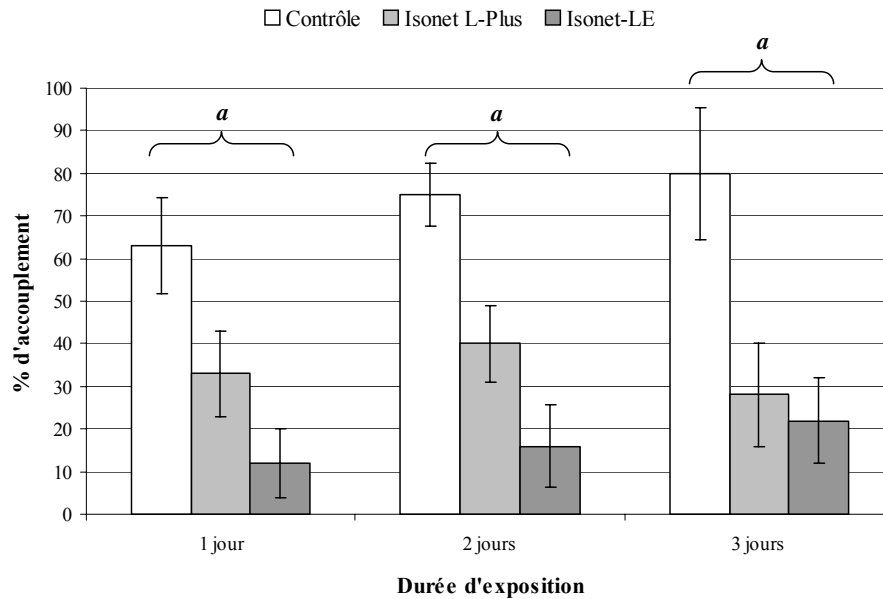


Figure 3.6: Effet de la durée d'exposition sur l'accouplement d'*E. ambiguella* selon différents traitements. Les taux d'accouplement moyens assignés d'une lettre différente sont significativement différents ( $P<0.05$ ). La barre d'erreur correspond à l'erreur standard.

Sur cet essai, 88% des femelles exposées sont collectées. La durée d'exposition n'influence statistiquement pas l'accouplement ( $F_{2,36}=0.50$ ,  $P=0.610$ ). Au vu des résultats, seul le facteur « traitement » a un effet sur les accouplements ( $F_{2,36}=13.37$ ,  $P<0.001$ ) (Figure 3.6). Les taux d'accouplement obtenus dans le vignoble de contrôle sont significativement plus élevés que ceux obtenus dans les vignobles traités en confusion sexuelle. Aucune interaction n'est observée entre les facteurs « traitement » et « durée d'exposition » ( $F_{4,36}=0.36$ ,  $P=0.833$ ). Ainsi, une seule nuit suffit pour obtenir des résultats significatifs concernant l'influence de la phéromone sur les accouplements et cela quelle que soit la concentration phéromonale présente dans l'environnement. L'observation des résultats montre une réduction des accouplements avec l'augmentation du taux d'émission phéromonale.

3.3.6. *Densité optimale des couples d'E. ambiguella au sein d'une petite cage*

Table 3.3: Résultats de l'Ancova sur l'influence de la densité et des traitements sur l'accouplement des femelles: a) traitements phéromonaux + contrôle; b) traitements phéromonaux.

Terme	dl	$\Sigma$ des carrés	F	P
<b>a) traitements phéromonaux + contrôle</b>				
Nombre de couples	1	6600.38	27.07766	<0.0001
Traitements	2	34294.31	7034515	0.0000
Nombre de couples : Traitements	2	2655.32	5.44664	0.0065
Résidus	66	16087.99		
<b>b) traitements phéromonaux</b>				
Nombre de couples	1	8597.714	74.86302	0.0000
Traitements	1	321.109	0.18380	0.6702
Nombre de couples : Traitements	1	566.111	4.92931	0.0316
Résidus	44	5053.221		

L'analyse de covariance réalisée sur les données obtenues en 2008 met en évidence que les deux facteurs étudiés, soit « nombre de couples » et « traitement » ont un effet significatif sur l'accouplement des femelles (Tableau 3.3 a). Ceci indique que l'accouplement augmente avec la densité des vers de la grappe exposés et qu'il y a des différences significatives entre le contrôle et les deux traitements phéromonaux (Figure 3.7). Par contre, cette observation est mise en doute par le fait que l'interaction entre le nombre de couples et le traitement est significative (Tableau 3.3 a). Il est à noter que dans la parcelle de contrôle, l'accouplement augmente très faiblement avec la densité. Pour 1 et 2 couples exposés l'accouplement moyen obtenu est de 75% et, pour 20 couples de 82% (Figure 3.7). A contrario, une augmentation de l'accouplement avec la densité est observable pour les deux traitements phéromonaux. En présence du traitement Isonet L-Plus, les résultats s'échelonnent de 0% pour 2 couples exposés et à 51% pour 20 couples. Dans le cas de la parcelle traitée à l'aide du traitement Isonet-LE, aucun accouplement n'a eu lieu dans les petites densités (1 et 2 couples). En présence d'un grand nombre de couples (12 et 20 couples) le pourcentage d'accouplement atteint 28% (Figure 3.7). On remarque, tout comme précédemment, que l'augmentation de la charge phéromonale diminue les accouplements.

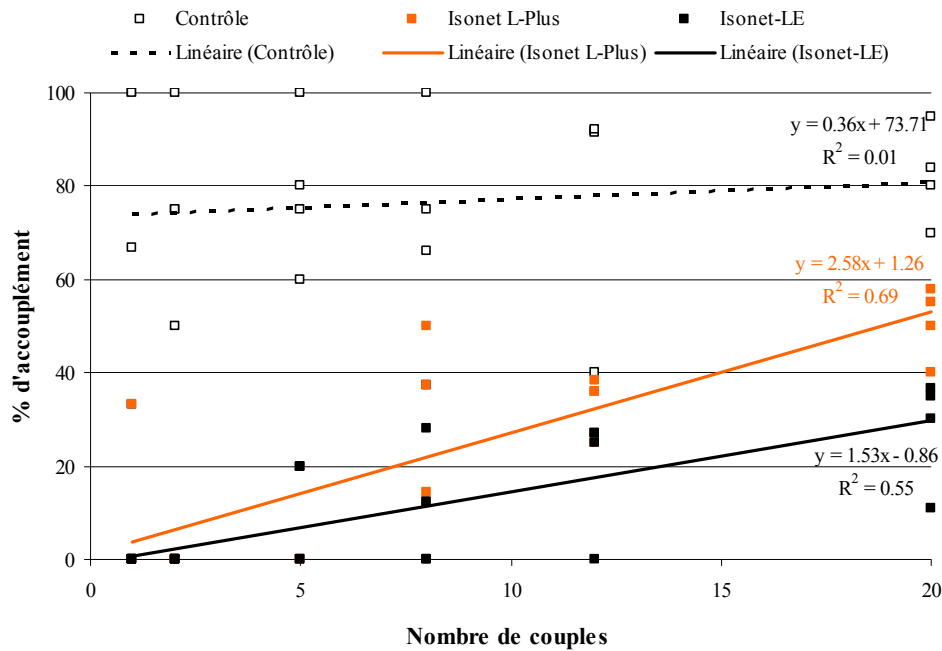


Figure 3.7: Effet de la densité sur les accouplements moyens selon différents traitements.

Afin de définir la densité optimale de couples à installer dans les cages, l'analyse de covariance est répétée uniquement avec les traitements phéromonaux. L'Ancova a démontré que l'accouplement augmente significativement avec la densité des couples exposés, mais qu'il n'y a aucune différence entre les deux traitements (Tableau 3.3 b). Cependant, l'interaction entre les deux termes reste significative. Ceci indique que les pentes des droites de régression sont significativement différentes entre les traitements Isonet L-Plus et Isonet-LE (Figure 3.7). Le taux d'accouplement obtenu lors de l'exposition d'un petit nombre de couples reste comparable, par contre, à densité élevée l'Isonet L-Plus présente un taux d'accouplement significativement supérieur à celui de l'Isonet-LE.

De ce fait, les faibles densités, soit 1 ou 2 couples exposés dans ces cages, ne sont pas suffisamment sensibles pour mettre en évidence des différences significatives entre les traitements phéromonaux. A l'inverse, l'exposition de densités trop élevées risque de cacher les différences entre les traitements phéromonaux et le contrôle. Il semble que le nombre optimal à exposer dans ces petites cages se trouve entre 5 et 20 couples. Ainsi, la densité de couples exposés peut être adaptée, dans cet intervalle, selon les exigences de l'expérimentation.

### 3.4. Discussion

Le développement de cette petite cage fut mis en place afin d'élaborer une procédure compétente pour évaluer l'influence des phéromones sexuelles sur le comportement d'accouplement des vers de la grappe.

La première étape de cette élaboration nous a conduit à la mise en place d'une cage de deux mètres de côté. Bien que Doye et Koch (2005) n'y fassent pas mention, ce modèle s'est avéré très contraignant, de par sa mise en place, et par la disponibilité nécessaire envers les producteurs pour retirer les cages lors des diverses interventions culturales réalisées sur la vigne. De plus, l'attache des femelles est un travail long et fastidieux, exigeant de la précision pour optimiser le bien être de l'insecte et faciliter son accouplement (Thorpe *et al.*, 2007). Les résultats obtenus furent affectés par des taux de récupération des femelles plutôt faibles. Malgré l'application de glu sur les ceps des vignes à proximité des nacelles sur lesquelles reposaient les femelles, celles-ci sont victimes de la prédation des fourmis. Bien que les femelles de nombreuses espèces de lépidoptères soient attachées pour mesurer l'efficacité de la confusion sexuelle (Charmillot *et al.*, 1995 et 1996; Chamberlain *et al.*, 2000; Evenden *et al.*, 2003; Thorpe *et al.*, 2007; Tassin *et al.*, 2008), elles ne présentent pas le comportement d'appel de femelles sauvages libres permettant d'accomplir avec succès l'accouplement (Suckling *et al.*, 1994). Au vu des faibles taux d'accouplement, déjà observés par Charmillot *et al.* (1995 et 1996), obtenus dans le vignoble de contrôle, les femelles des espèces *E. ambiguella* et *L. botrana* semblent avoir quelques difficultés à s'accoupler lorsque celles-ci sont attachées. Les conclusions tirées de l'essai réalisé en grande cage ne sont que des tendances en raison d'absence de différence significative entre les taux d'accouplements obtenus dans les différents traitements.

La seconde étape consistant en la mise en place d'une cage de 35 cm de côté a abouti à l'élaboration d'un système simple à installer sur les palissages des vignes, peu encombrant et ne dérangeant pas les travaux culturaux du vignoble. Cette petite cage, entourée d'un manchon de gaze, permet désormais de collecter un grand nombre de couples après une nuit d'exposition. Ainsi le problème de prédation n'affecte plus les résultats obtenus au terme de ce test. Les taux d'accouplements relativement élevés obtenus dans le vignoble hors confusion sexuelle laissent à penser que le dessin de la cage ne perturbe pas les accouplements des vers de la grappe. En présence d'un diffuseur disposé à l'intérieur de la cage, des différences significatives sont observées entre les accouplements moyens obtenus dans les différents traitements étudiés. Ce système de cage permet donc de mesurer l'influence du degré

d'émission phéromonale d'un appât sur le comportement d'accouplement des vers de la grappe. Le retrait du diffuseur au sein de la cage met plus difficilement en évidence des différences significatives entre les accouplements obtenus dans les différents traitements. De plus, les accouplements moyens obtenus sont relativement élevés en comparaison à ceux obtenus précédemment en présence du diffuseur dans la cage. La mesure de la perméabilité à l'air du manchon de gaze présente une réduction de 88% à 50 cm d'un ventilateur (Annexe IV). Ceci indique une perméabilité insuffisante du manchon de gaze à l'air transportant le faisceau phéromonal. Ceci n'est pas représentatif des conditions environnementales du vignoble. Le nuage phéromonal pénétrant dans la cage ne permet plus d'influencer suffisamment les accouplements. Pour pallier ce phénomène, le manchon de gaze entourant la structure de la cage est remplacé par une toile de polyester blanc de type moustiquaire d'une maille de 1.5 mm. La modification de la structure n'a pas altéré le taux de récupération des insectes placés dans la cage durant une nuit. Au terme des répétitions, des différences significatives sont observables entre les accouplements moyens obtenus dans les traitements. Ainsi, ce nouveau type de cage permet désormais de mesurer l'influence, sur les accouplements des vers de la grappe, du faisceau phéromonal émis par le traitement basé sur l'utilisation de la confusion sexuelle et transporté par le vent. La structure de la cage étant désormais définie, le protocole d'étude devait être établi. La durée d'exposition ainsi que le nombre des couples à installer dans les cages était à déterminer. Schmidt et Seabrook (1979), proposaient de disposer les mâles dans les cages 24 heures avant les femelles afin de laisser la phéromone agir sur les mâles avant de les confronter à leurs partenaires. Une exposition de trois nuits palliait l'inactivité sexuelle de certains mâles donnant la possibilité à toutes les femelles de s'accoupler. De plus, cette exposition prolongée permettait de remédier aux influences climatiques non favorables aux accouplements telles que des conditions de température et d'humidité trop faibles ou un vent trop fort (Schmidt et Seabrook, 1979; Galet, 1982a et b). Cette étude met en évidence que la durée d'exposition des couples aux différents traitements testés n'influence pas les taux d'accouplement. De cette manière, une seule nuit suffit pour observer des différences sur les accouplements entre les traitements et cela quelle que soit la concentration phéromonale présente dans l'environnement. Comme déjà observé (Henneberry et Clayton, 1985; Oberhauser, 1988; Schmitz *et al.*, 1995; Torres-Vila *et al.*, 1995; Evenden *et al.*, 2004), ces observations indiquent également que la confusion sexuelle retarde les accouplements sur plus de trois jours et pourrait même les supprimer totalement. Des expériences complémentaires seraient à mettre en place pour confirmer ce dernier élément.

Une fois le dessin de la cage et la durée d'exposition définis, il est important d'établir la densité de population optimale à exposer. En absence de phéromones dans le vignoble, l'augmentation du nombre de couples installés dans la cage n'a pas d'effet sur le nombre d'accouplements obtenus. A contrario, en présence de phéromones on observe une augmentation des accouplements parallèlement à l'augmentation du nombre de couple. En présence d'une émission phéromonale élevée (Isonet-LE), l'effet de la densité de population sur le taux d'accouplement est moindre par rapport à celui obtenu dans le cas d'une émission plus faible (Isonet L-Plus). Donc, la dose phéromonale et la densité de population présente dans le vignoble auront des conséquences sur les accouplements. Des observations similaires ont déjà été rapportées par Vick *et al.* (1978) et Palaniswamy *et al.* (1982). Dans le cas de faible densité de couples, les différences entre les traitements phéromonaux sont difficilement distinguables par rapport à l'exposition d'une densité plus importante. Cependant, si l'on extrapole ces résultats à des densités plus élevées ( $n > 20$ ), la probabilité de ne plus observer de différence entre le contrôle et les traitements pourrait s'accroître. Pour Sower *et al.* (1975) les accouplements seraient déterminés par des rencontres aléatoires. Mais Palaniswamy *et al.* (1982) évoquent que seule une part des résultats peut être expliquée par des rencontres aléatoires en présence de phéromone dans l'air. En effet, lorsque la densité de population augmente, les rencontres aléatoires vont logiquement augmenter. L'augmentation de la densité de couples accroît la probabilité pour un mâle de rencontrer une femelle, et donc la perturbation de la recherche de partenaire par le faisceau phéromonal est restreinte, favorisant les accouplements. Les résultats obtenus chez *E. ambiguella* tentent à confirmer la théorie concernant les rencontres aléatoires mais uniquement en présence de faible concentration en phéromone. Toutefois, à concentration élevée, ceci n'apparaît pas être le cas ou à moindre effet (Palaniswamy *et al.*, 1982). Si tel était le cas, l'augmentation des accouplements serait similaire pour les deux procédés testés et l'interaction entre le nombre d'individus exposés et le traitement ne seraient statistiquement pas différents. De ce fait, il semble que le nombre optimal à exposer dans ces petites cages se trouve entre 5 et 20 couples. Ainsi, la densité de couples exposés peut être adaptée, dans cet intervalle, selon les exigences de l'expérimentation. Dans le cas d'une étude simple d'efficacité, la proposition de huit couples serait une alternative intéressante dans le fait qu'il permet de déceler des différences significatives entre les accouplements obtenus dans les différents traitements. Tout en n'imposant pas une grande quantité de travail pour l'élevage et les dissections, ce nombre permettrait de limiter les rencontres aléatoires. Il est à noter que la densité de papillons proposée par cage dans cette méthode est extrêmement élevée si l'on extrapole à l'échelle du

vignoble. Sur un hectare, la densité foliaire moyenne du vignoble, durant le second vol correspond à 4'500 m<sup>3</sup> (B. Bloesch communication personnelle). La présence de huit couples par cage représenterait alors 840'000 couples par hectare. Les conditions d'expérimentation de ce test sont très sévères. Contrairement à ce qui est établi au vignoble sur l'inefficacité de la confusion sexuelle en présence de densité élevée de population (Roehrich et Carles, 1982; Neumann, 1992; Charmillot *et al.*, 1995, 1996), ce test réalisé en petite cage permet tout de même de détecter des différences significatives en présence d'un grand nombre d'individus répartis sur une petite surface.

L'exposition des insectes dans des petites cages peut être considérée comme un test préliminaire. C'est une première étape avant une installation à grande échelle, pour déterminer le potentiel de réduction des accouplements d'un appât ou d'un traitement phéromonal en comparaison à une référence positive dont l'effet est déjà démontré. La réduction des accouplements peut être testée sous des conditions proches de la nature mais en milieu contrôlé indépendant des périodes de vol de l'insecte et des densités de population. Installée sur des petites surfaces (Doye et Koch, 2005), cette expérimentation peut être répliquée sur plusieurs vignobles sans nécessiter l'installation de grandes surfaces de traitements. L'exposition de huit couples au sein de cette cage de 35 cm de côté durant une nuit fournit des résultats suffisamment fiables pour réaliser une analyse robuste.

Cette petite cage permet également de mesurer l'impact des différentes doses phéromonales émises par des appâts situés à l'intérieur ou l'extérieur de la cage. Il a pu être observé au cours de ces différents essais, que les faibles taux d'émission phéromonale influent peu sur les accouplements, tandis que les taux d'émission plus élevés les réduisent de manière plus importante. Dans la pratique, la tendance est actuellement à une baisse de la charge phéromonale dans la culture, soit par la réduction de la quantité de phéromones par sources, soit par la diminution du nombre de sources phéromonales présentes. Ceci peut avoir de lourdes conséquences sur la protection du vignoble contre les vers de la grappe. Un taux d'émission phéromonale réduit est seulement applicable dans des conditions de faibles densités de ravageurs. Ceci à également été observé lors de la détermination du nombre de couple à exposer dans la cage. L'influence de la densité d'insectes sur l'inhibition des accouplements par des appâts phéromonaux peut être étudiés plus précisément à l'aide de cages (Carpenter *et al.*, 1982).

Développé à partir de précédentes études sur *Choristoneura fumiferana* (Clem.) (Schmidt et Seabrook, 1979; Palaniswamy *et al.*, 1982), ces petites cages peuvent être adaptées à d'autres ravageurs sur d'autres cultures. Il est à noter que *L. botrana* présente plus de facilité que

*E. ambiguella* à s'accoupler dans de telles conditions. Il serait envisageable d'élever les insectes, dont l'acclimatation aux conditions naturelles est difficile, en insectarium afin qu'ils soient préalablement conditionnés. L'utilisation des petites cages permet désormais de mesurer l'influence d'un diffuseur destiné à une lutte par confusion sexuelle sur les accouplements. Il serait également intéressant d'utiliser ces petites cages pour développer et/ou améliorer des diffuseurs répondant aux exigences du marché, moins coûteux en phéromones et d'efficacité élevée. Pour cela, il serait important de prendre en considération l'influence des odeurs de plante, sur l'attractivité des phéromones. En effet, plusieurs études ont montré l'influence de composés odorants issus des plantes sur les insectes (Gabel et Thiery, 1994; Light *et al.*, 2001; Deng *et al.*, 2004; Tasin *et al.*, 2005; Gökçe *et al.*, 2005; Schmidt-Büser, 2008; Von Arx, 2008). Cette méthode pourrait également indiquer la concentration du bouquet odorant à diffuser dans la culture pour permettre une protection satisfaisante. En conclusion, l'exposition des insectes dans des petites cages fournirait des informations essentielles aux chercheurs et aux industries pour optimiser la confusion sexuelle.

### 3.5. Références

Angeli G., Anfora G., Baldessari M., Germinara G.S., Rama F., De Cristofaro A., Ioriatti C., 2007. Mating disruption of codling moth *Cydia pomonella* with high densities of Ecodian sex pheromone dispensers. *Journal of Applied Entomology*, **131**: 311-318

Anfora G., Baldessari M., De Cristofaro A., Germinara G.S., Ioriatti C., Reggiori F., Vitagliano S., Angeli G., 2008. Control of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) by biodegradable Ecodian sex pheromone dispensers. *Journal of Economical Entomology*, **101**: 444-450

Carpenter J.E., Sparks A.N., Gueldner R.C., 1982. Effects of moth population density and pheromone concentration on mating disruption of the corn earworm in large screened cages. *Journal of Economic Entomology*, **75**: 333-336

Chamberlain D.J., Brown N.J., Jones O.T., Casagrande E., 2000. Field evaluation of a slow release pheromone formulation to control the American bollworm, *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Pakistan. *Bulletin of Entomological Research*, **90**: 183-190

Charmillot P.J., 1990. Mating disruption technique to control grape and wine moths: general considerations. *Bulletin IOBC/wprs*, **15**: 113-116

Charmillot P.J., Pasquier D., Alipaz N.J., Neumann U., 1995. Effet d'une ceinture de diffuseurs à attractif sexuel sur la distribution des captures de mâles, des accouplements de femelles attachées et de l'attaque de *Lobesia botrana* Den. & Schiff. en vignoble. *Journal of Applied Entomology*, **119**: 201-206

Charmillot P.J., Pasquier D., Alipaz N.J., Scalco A., 1996. Study of the vine moth *Lobesia botrana* Den. and Schiff. (Lep, Tortricidae) behaviour inside and outside of a dispenser belt. *Journal of Applied Entomology*, **120**: 603-609

Charmillot P.J., Pasquier D., Bolay J.M., Jeanrenaud M., Zingg D., Zufferey E., 2000a. Lutte par confusion et lutte classique contre les vers de la grappe dans les vignobles vaudois en 1999. *Revue suisse de Viticulture, Arboriculture, Horticulture*, **32**: 83-88

Charmillot P.J., Hofer D., Pasquier D., 2000b. Attract and Kill: a new method for control of the codling moth *Cydia pomonella*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **94**: 211-216

Charmillot P.J. et Pasquier D., 2001. Technique de confusion, lutte classique et dynamique des populations des vers de la grappe. *Bulletin IOBC/wprs*, **24**: 87-90

Charmillot P.J., Degen T., Pasquier D., Briand F., 2005. Nouveaux procédés à base de phéromones pour lutter contre les vers de la grappe: Essais préliminaires en 2004. *Revue suisse de Viticulture, Arboriculture, Horticulture*, **37**: 283-288

Degen T., Chevallier A., Fischer S., 2005. Evolution de la lutte phéromonale contre les vers de la grappe. *Revue suisse de Viticulture, Arboriculture, Horticulture*, **37**: 273-280

- Doye E. et Koch U.T., 2005. A reliable field test for the efficiency of mating disruption techniques. *Bulletin IOBC/wprs*, **28**: 325-328
- Deng J.Y., Wei H.Y., Huang Y.P., Du J.W., 2004. Enhancement of attraction to sex pheromones of *Spodoptera exigua* by volatile compounds produced by host plants. *Journal of Chemical Ecology*, **30**: 2037-2045
- Evenden M.L., Delury L.E., Judd G., Borden J.H., 2003. Assessing the mating status of male obliquebanded leafrollers *Choristoneura rosaceana* (Lepidoptera: Tortricidae) by dissection of male and female moths. *Annals of the Entomological Society of America*, **96**: 217-224
- Evenden M.L. et Mc Laughlin J.R., 2004. Initial development of an attracticide formulation against the oriental fruit moth, *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae). *Environmental Entomology*, **33**: 231-220
- Filho M.M., Vilela E.F., Jham G.N., Attygalle A., Svatos A., Meinwald J., 2000. Initial studies of mating disruption of the tomato moth, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) using synthetic sex pheromone. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **11**:621-628
- Gabel B. et Thiéry D., 1994. Non-host plant odor (*Tanacetum vulgare*, Asteracea) affects the reproductive behavior of *Lobesia botrana* Den. et Schiff. (Lepidoptera, Tortricidae). *Journal of Insect Behavior*, **7**: 149-157
- Gabel B. et Roehrich R., 1995. Sensitivity of grapevine phenological stages to larvae of European grapevine moth, *Lobesia botrana* Den. & Schiff. (Lep., Tortricidae). *Journal of Applied Entomology*, **119**: 127-130
- Galet P., 1982a. Eudémis. Dans: Les maladies et parasites de la vigne. Galet P. Editions Montpellier: "Paysan du midi": 1577-1610
- Galet P., 1982b. Cochylis. Dans: Les maladies et parasites de la vigne. Galet P. Editions Montpellier: "Paysan du midi": 1519-1576
- Gökçe A., Stelinski L.L, Whalon M.E, 2005. Behavioural and electrophysiological responses of leafroller moths to selected plant extracts. *Environmental Entomology*, **34**: 1426-1432
- Harari A.R., Zahavi T., Gordon D., Anshelevich L., Harel M., Ovadia S., Dunkelblum E., 2007. Pest management programmes in vineyards using male mating disruption. *Pest Management Science*, **63**: 769-775
- Henneberry T.J. et Clayton T.E., 1985. Tobacco budworm moths (Lepidoptera: Noctuidae): effect of time emergence, male age and frequency of mating on sperm transfer and egg viability. *Journal of Economic Entomology*, **78**: 379-382
- Ioriatti C., Bagnoli B., Lucchi A., Veronelli V., 2004. Vine moths control by mating disruption in Italy: results and future prospects. *Redia*, **87**, 117-128
- Judd G.J.R., Gardiner M.G.T., Thomson D.R., 1996. Commercial trials of pheromone-mediated mating disruption with Isomate-C to control codling moth in British Columbia apple and pear orchards. *Journal of Entomological Society*, **93**: 23-34

- Koch U.T., 1990. A portable EAG system for measurement of pheromone in the field. *Abstract of papers of the American Chemical Society*, **200**: 31
- Light D.M., Knight A.L., Henrick C.A., Rajapaska D., Lingren B., Dickens J.C., Reynolds K.M., Buttery R.G., Merrill G., Roitman J., Campbell B.C., 2001. A pear-derived kairomone with pheromonal potency that attract male and female codling moth, *Cydia pomonella* (L.). *Naturwissenschaften*, **88**: 333-338
- Louis F., Shirra K.J., Feldhege M., 1997. Mating disruption in vineyards: determination of population densities and effects on beneficial. *Bulletin IOBC/wprs*, **20**: 95-99
- Louis F. et Shirra K.J., 2001. Mating of *Lobesia botrana* (Lepidoptera, Tortricidae) in vineyards with very high population densities. *Bulletin IOBC/wprs*, **21**: 75-79
- Minamishima M., Arakawa A., Okazaki K., Mochizuki F., Fukumoto T., 2004. An easy method for estimating the efficacy of mating disruption in the oriental fruit moth, *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera, Tortricidae). *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology*, **48**: 201-205
- Neumann U., 1992. La lutte contre les vers de la grappe (*Eupoecilia ambiguella* Hbn. et *Lobesia botrana* Den. & Schiff.). *Bulletin IOBC/srop*, **15**: 140-144
- Oberhauser K.S., 1988. Male monarch butterfly spermatophore mass and mating strategies. *Animal behaviour*, **36**: 1384-1388
- Palaniswamy P., Ross R.J., Seabrook W.D., 1982. Mating suppression of caged spruce budworm (Lepidoptera, Tortricidae) moths in different pheromone atmospheres and high population-densities. *Journal of Economic Entomology*, **75**: 989-993
- Rauscher S., Arn H., Guerin P., 1984. Effect of dodecyl acetate and Z-10-tridecyl acetate on attraction of *Eupoecilia ambiguella* males to the main sex pheromone component, Z-9-dodecenyl acetate. *Journal of Chemical Ecology*, **10**: 253-264
- Roelofs W.L. et Cardé R.T., 1977. Responses of Lepidoptera to synthetic sex pheromone chemicals and their analogues. *Annual Review of Entomology*, **22**: 377-405
- Roehrich R. et Carles J.P., 1982. Essai de confusion sexuelle en vignoble contre l'Eudemis de la vigne, *Lobesia botrana*. *Colloque INRA*: 365-371
- Sauer A.E., Karg G., Koch U.T, De Kramer J.J., Milli R., 1992. A portable EAG system for the measurement of pheromone concentrations in the field. *Chemical Senses*, **17**: 543-553
- Schmidt J.O. et Seabrook W.D., 1979. Mating of caged spruce budworm moths in pheromone environments. *Journal of Economic Entomology*, **72**: 509-511
- Schmidt-Büser, 2008. Host plant volatiles influence the behavioural responses of the European grape berry moth, *Eupoecilia ambiguella*, to its sex pheromone. Thèse de Doctorat, Université de Neuchâtel, 97 p.

- Schmitz V., Roehrich R., Stockel J., 1995. Etude du mécanisme de la confusion sexuelle chez l'Eudémis de la vigne (*Lobesia botrana* Den. et Schiff.). I. Rôles respectifs de la compétition, du camouflage de la piste odorante et de la modification du signal phéromonal. *Journal of Applied Entomology*, **119**: 131-138
- Shorey H.H., 1977. Manipulation of insect pests of agricultural crops. Dans: Chemical control of insect behaviour: Theory and application. Shorey H.H. et Mc Kelvey J.J.Jr., Editions Wiley, New York: 353-367
- Sower L.L., Turner W.K., Fish J.C., 1975. Population-density-dependant mating frequency among *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Phycitidae) in the presence of synthetic sex pheromone with behavioural observations. *Journal of Chemical Ecology*, **1**: 335-342
- Stelinski L.L., Gut L.J., Miller J.R., 2006. Orientational behaviors and EAG responses of male codling moth after exposure to synthetic sex pheromone from various dispensers. *Journal of Chemical Ecology*, **32**: 1527-1538
- Stockel J., Schmitz V., Lecharpentier P., Roehrich R., Torres-Vila M., Neumann U., 1994. La confusion sexuelle chez l'eudémis *Lobesia botrana* (Lepidoptera Tortricidae). Bilan de 5 années d'expérimentation dans un vignoble bordelais. *Agronomie*, **2**: 71-82
- Suckling D.M., Karg G., Bradley S.J., 1994. Field electroantennogram and behavioural-responses of *Epiphyas-postvittana* (Lepidoptera, Tortricidae) under low pheromone and inhibitor concentrations. *Journal of Economic Entomology*, **87**: 1477-1487
- Tasin M., Anfora G., Ioriatti C., Carlin S., De Cristofaro A., Schmidt S., Bengtsson M., Versini G., Witzgall P., 2005. Antennal and behavioral responses of grapevine moth *Lobesia botrana* females to volatiles from grapevine. *Journal of Chemical Ecology*, **31**: 77-87
- Tasin M., Demaria D., Ryne C., Cesano A., Galliano A., Anfora G., Ioriatti C., Alma A., 2008. Effect of anti-hail nets on *Cydia pomonella* behavior in apple orchards. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **129**: 32-36
- Tcheslavskaia K.S., Thorpe K.W., Brewster C.C., Sharov A.A., Leonard D.S., Reardon R.C., Mastro V.C., Sellers P., Roberts E.A., 2005. Optimization of pheromone dosage for gypsy moth mating disruption. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **115**: 355-361
- Thorpe K.W., Hickman A.D., Tcheslavskaia K.S., Leonard D.S., Roberts E.A., 2007. Comparison of methods for deploying female gypsy moths to evaluate mating disruption treatments. *Agricultural and Forest Entomology*, **9**: 31-37
- Torres-Villa L.M., Stockel J., Roehrich R., 1995. Le potentiel reproducteur et ses variables biotiques associées chez le mâle de l'Eudémis de la vigne *Lobesia botrana*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **77**: 105-119
- Van der Pers J.N.C. et Minks A.K., 1993. Pheromone monitoring in the field using single sensillum recording. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **68**: 237-245

Vick K.W., Coffelt J.A., Sullivan M.A., 1978. Disruption of pheromone communication in angoumois grain moth (Lepidoptera Gelechiidae) with synthetic female sex-pheromone. *Environmental Entomology*, 7: 528-531

Von Arx M., 2008; Perception of host plant volatiles contributes to an optimised strategy for reproduction in the European grapevine moth, *Lobesia botrana*. Thèse de Doctorat, Université de Neuchâtel, 148 p.

## 4. Les phéromones sexuelles: Impact sur le métabolisme

### *Résumé*

Bien que le comportement de vol vis-à-vis des phéromones sexuelles ait été étudié pour de nombreux lépidoptères, peu de travaux se sont focalisés sur l'influence du vol et de ces molécules phéromonales sur la physiologie de l'insecte. A l'aide du carrousel de vol et du tunnel de vol, cette étude a permis de mettre en évidence l'important potentiel de vol de *Lobesia botrana*. Avec une durée de vol moyenne de 12 minutes sans pause, *L. botrana* peut parcourir jusqu'à 35 kilomètres sur 24 heures d'observation. L'étude des réserves en lipides totaux et en hydrates de carbone par spectrophotométrie, montre que celles-ci sont dépendantes de l'âge de l'insecte. Ces dernières, de l'ordre de la dizaine de  $\mu\text{g mg}^{-1}$  de matière vivante, sont nettement inférieures aux réserves en lipides totaux atteignant  $200 \mu\text{g mg}^{-1}$  de matière vivante. Le vol de *L. botrana* entraîne une diminution significative des réserves en lipides totaux. Dans le cas de l'exposition aux phéromones, ces réserves paraissent également diminuer. En ce qui concerne la charge énergétique cellulaire, calculée à l'aide de la quantification des adénylates par HPLC, celle-ci augmente durant les stades de croissance de l'insecte, puis se stabilise au stade adulte pour chuter au moment de sa mort. Cependant, cette étude n'a pas permis de mettre en évidence l'influence du vol et de l'exposition aux phéromones sur l'état énergétique cellulaire de l'insecte. Il est à noter que les réserves en lipides totaux et l'état énergétique cellulaire des individus issus d'une population naturelle ne diffèrent pas de ceux des individus d'élevage. L'étude du potentiel de vol de *L. botrana* exposé à une source phéromonale combinée à la mesure de l'impact de ce vol sur les réserves énergétiques et l'état énergétique cellulaire pourrait constituer un indice de l'attractivité d'un appât, et par conséquent de son potentiel pour la maîtrise des populations du ravageur.

#### 4.1. Introduction

Le ver de la grappe *Lobesia botrana* (Denis et Schiffermüller) est l'un des principaux ravageurs de la vigne cultivée en Europe méridionale (Arn et Louis, 1997; Roehrich et Boller, 1991; Stockel, 2000). L'abondance de ce ravageur dans les régions viticoles n'est pas uniforme et peut varier sur des distances relativement courtes. Le mouvement des tordeuses entre les habitats naturels et cultivés ont été relatés par de nombreux auteurs (Schumacher *et al.*, 1997a; Jeanneret, 2000; Botero-Garcés et Isaacs, 2003). La dispersion de *L. botrana* est principalement réalisée par le vol des adultes, mais peu d'informations sont actuellement disponibles sur la distribution spatiale de *L. botrana*. Selon Sciarretta *et al.* (2008), la distribution spatiale des adultes n'est pas uniquement limitée aux vignobles. Elle peut être liée aux cultures environnantes et évoluer durant la saison. Strictement liée au dépôt des œufs par les femelles, la distribution des larves reste agrégée (Badehnausser *et al.*, 1999; Ifoulis et Savopoulou-Soultani, 2006). Boller (1993) a réalisé un essai de piégeage à l'aide de mâles marqués de l'espèce *L. botrana*. Il a observé que 87 et 96% des individus lâchés sont capturés à respectivement moins de 50 et 100 mètres du point de lâcher. Des résultats similaires ont été obtenus par Schmitz (1992) qui nota que le déplacement des adultes au sein d'un vignoble n'excédait que rarement une distance de 80 mètres. Le même ordre de distance est également observé pour des espèces appartenant à la même famille telles que *Cydia pomonella* et *Endopiza viteana* (White *et al.*, 1973; Mani et Wildboz, 1977, Botero-Garcés *et al.*, 2003). Cependant, aucune étude ne présente le potentiel de vol de *L. botrana*.

Le succès de la reproduction chez les insectes est étroitement lié au potentiel de vol, tant dans la durée que sur la distance (Kaufmann et Briegel, 2004). Le métabolisme global du muscle de vol des insectes pour l'exécution du travail peut s'élever parfois à plus d'un million de battements d'ailes successifs soit plus de mille contractions par seconde (Sacktor et Wormser-Shavitt, 1966a). Ceci correspond approximativement à 2000 calories par gramme de muscle par heure, soit 30 à 50 fois ceux du cœur humain à activité maximale (Weis-Fogh, 1952). Le niveau de respiration augmente de plus de 100 fois par rapport à celui mesuré lors d'un état de repos (Chance et Sacktor, 1958). Aussi, le maintien en vol nécessite une importante mobilisation d'énergie déclenchant une accélération du métabolisme de l'insecte (Suarez *et al.*, 2005). Pour cela, les lépidoptères emploient de multiples voies métaboliques pour répondre aux besoins énergétiques de l'organisme. L'adénosine triphosphate (ATP) est le carburant central permettant aux cellules d'assurer les contractions des muscles nécessaires à l'initiation du mécanisme de battement des ailes ou autres mouvements (Mathieu, 1995). Des

enzymes spécifiques (ATPase) permettent de transférer des groupements phosphate de l'ATP à d'autres composés (Mathieu, 1995). Le prix du travail cellulaire est donc la conversion de l'ATP en adénosine diphosphate (ADP) et en phosphate inorganique ( $P_i$ ). Afin de continuer de travailler, la cellule doit reconstituer ses réserves en ATP à partir d'ADP et de  $P_i$ . Les processus alimentant les cellules en ATP appartiennent aux mécanismes de la respiration cellulaire entraînant la dégradation des graisses et des hydrates de carbone, sources majeures de la production d'énergie. Certaines études ont indiqué que seules les graisses sont utilisées pendant le vol, tandis que d'autres mettent en évidence la possibilité d'oxydation des hydrates de carbone (Beenackers, 1969; Van Handel et Nayar, 1972, Beenackers *et al.*, 1975; Ziegler et Schulz, 1986b; O'Brien, 1999). La variation des habitudes alimentaires contribue à expliquer ces différences. En effet, chez les lépidoptères connus pour se nourrir peu au stade adulte, et notamment *L. botrana*, l'ensemble des réserves énergétiques s'échafaudent majoritairement au stade larvaire, assurant ainsi le métabolisme de l'adulte (Chapman, 1975). Le nectar des fleurs ou la miellée peuvent cependant être utilisés comme sources alimentaires au moment de l'absorption d'éléments aqueux, les quantités ingérées ne permettant toutefois pas un renouvellement des réserves. Par conséquent, les réserves issues de la biosynthèse larvaire (Timmermann et Briegel, 1999), garantissent un potentiel de vol limité et une durée de survie de quelques jours, évaluée entre 5 et 9 jours pour *L. botrana* en vignoble (Galet, 1982).

Durant ces quelques jours de vie, l'objectif principal de *L. botrana* est d'assurer la pérennité de ses gènes. Le mâle, stimulé par le champ odoriférant de la femelle, va s'envoler pour suivre le faisceau phéromonal et rechercher sa partenaire. Le principe de la confusion sexuelle, principale méthode de lutte alternative aux insecticides, est basé sur la perturbation de ce comportement. Destinés à empêcher la reproduction, les diffuseurs installés dans le vignoble libèrent la phéromone synthétique en grande quantité, qui se mêle au faisceau odorant de la femelle et brouille la communication olfactive entre les deux sexes. Le mâle ne peut donc plus localiser sa partenaire (Arn et Louis, 1997). Confondu, il augmente son temps de vol par la poursuite de fausses traces phéromonales, mobilisant ses réserves énergétiques au détriment de sa durée de vie. Au terme d'un vol prolongé et répété, les mâles sont voués à mourir d'épuisement. L'influence de phéromones sexuelles ou d'odeurs de plante sur le comportement des insectes est un sujet très étudié à l'aide d'électroantennogramme (Koch, 1990; Sauer *et al.*, 1992; Van der Pers et Minks, 1993) et d'étude en tunnels de vol (Arn *et al.*, 1976; El-Sayed *et al.*, 1999; Tasin *et al.*, 2006; Schmidt-Büser, 2008; Von Arx, 2008). *Lobesia botrana* se montre très réceptif à certaines de ces odeurs (Witzgall et Arn, 1990;

Tasin *et al* 2006; Von Arx, 2008), tant au niveau antennaire que sur le plan comportemental par la stimulation du vol.

Bien que le potentiel de vol de divers insectes, en conditions environnementales variables, et l'impact physiologique de cette activité physique sur l'organisme aient fait l'objet de nombreuses études à l'aide du carrousel de vol (Atkins 1969; Naranjo 1990; Cheng *et al.*, 1997; O'Brien 1999; Briegel *et al.*, 2001; Kaufmann et Briegel, 2004; Blackmer *et al.*, 2004; Lu *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2008; Williams et Robertson, 2008), aucune d'entre elles n'a étudié l'espèce *L. botrana*. Une étude préliminaire est réalisée dans le but de développer une méthode permettant de mesurer l'influence des phéromones sexuelles sur le comportement de vol de *L. botrana* et par conséquent sur son état physiologique et métabolique. Ce travail présente des résultats sur les interactions physiologiques entre le métabolisme et le potentiel de vol, ainsi qu'en la présence de phéromones sexuelles. Dans un premier temps, les réserves et l'état énergétique cellulaire de *L. botrana* à différents stades de développement sont mesurés. Les distances et les durées de vol des mâles à un moment de la vie de l'adulte sont ensuite respectivement enregistrées à l'aide d'un carrousel de vol et par l'observation en tunnel de vol. Enfin, l'impact du vol et de l'exposition à la phéromone sur les réserves énergétiques et l'état physiologique de *L. botrana* sont évalués en mesurant les concentrations en lipides et en adénylates. De même, afin d'estimer les différences possibles entre les populations naturelles et celles d'élevage, des mesures énergétiques sont également réalisées sur ces deux types d'échantillons.

## 4.2. Matériel et méthodes

### 4.2.1. Les insectes

Les souches d'*E. ambiguella* et *L. botrana* utilisées pour ces essais proviennent de l'élevage permanent Agroscope Changins-Wädenswil. Les individus sont élevés comme décrit dans la section 2.2.1. Au stade nymphal, les individus sont sexés et seuls les mâles sont conservés. Ils sont ensuite pesés individuellement et sélectionnés selon leur poids (conservation des individus entre 8 et 10 mg), puis placés en éclosiers. Après émergence, les adultes sont maintenus dans une boîte cylindrique (Ø: 10.5 cm, h: 16 cm) jusqu'à leur utilisation. La boîte cylindrique est changée quotidiennement.

Au terme de chaque essai, les individus destinés à la quantification des adénylates, des lipides totaux ou d'hydrates de carbone, sont placés individuellement ou groupés par 10 en fonction des modalités d'analyse dans un tube Falcon de 50 ml (Milian), pesés, puis congelés dans l'azote liquide. Ils sont ensuite transférés dans un tube Eppendorf de 2 ml, puis conservés au congélateur (-80°C) jusqu'à utilisation.

### 4.2.2. Mesure du métabolisme

#### ➤ Quantification des lipides totaux et des hydrates de carbones

La quantification des lipides totaux et des hydrates de carbone consiste en une lecture colorimétrique par spectrophotométrie selon la méthode légèrement modifiée de Van Handel et Day (1988), utilisant respectivement les réactifs à base de vanilline et d'anthrone.

La préparation préalable réside en un broyage de l'échantillon séché sous vide à 40°C (Integrated SpeedVac® System ISS110, Savant) durant 24 heures dans 1.5 ml d'une solution de CHCl<sub>3</sub>/MeOH 1:2. L'échantillon est soniqué durant 10 minutes (ultra-son basse fréquence 50Hz), puis centrifugé 2 minutes à 10'000 x g (micro CENTRIFUGETTE 4214, ALC, Kontron Instruments).

*Quantification des lipides totaux:* Le réactif de vanilline est préparé par la solubilisation de 600 mg de vanilline (Merck) dans 100 ml d'eau nanopure à température d'ébullition. Après refroidissement, 400 ml d'acide ortho-phosphorique à 85% (Fluka) sont ajoutés. Ce réactif est conservé à température ambiante à l'obscurité.

Préalablement, une courbe de calibration permettant de quantifier la concentration lipidique présente dans l'échantillon analysé est réalisée à partir de 10 valeurs de lecture (de 0 à 180 µg

par ml par paliers de 20 µg par ml) de la solution standard. La préparation et la lecture des standards se font selon les méthodes de quantification suivantes: 50 µl de l'échantillon sont déposés dans un tube en verre conique de 5 ml puis séchés sous flux d'azote. Après séchage, 200 µl d'acide sulfurique concentré (Fluka) sont ajoutés. Le tube est ensuite chauffé dans un bloc d'aluminium à une température de  $100\pm 10^{\circ}\text{C}$  pendant 10 minutes. Après refroidissement, 4 ml de réactif de vanilline sont additionnés. Le tube est incubé pendant 10 minutes sur un agitateur orbital (80 rpm) afin que la réaction se fasse de manière homogène. Le mélange prend alors une coloration rose à rouge, stable pendant 10 à 20 minutes. La lecture se fait à 525 nm par spectrophotométrie (Ultrospec 2000, Pharmacia Biotech). L'évaluation de la quantité de lipides présents dans l'échantillon se fait par conversion à partir de la droite de calibration réalisée.

*Quantification des hydrates de carbone:* Le réactif d'anthrone est préparé sur glace, en ajoutant 85 ml d'acide sulfurique concentré (Fluka) à 19 ml d'eau nanopure. A cette solution, sont ensuite ajoutés 100 mg d'anthrone (98%, Acros Organics). Revenu à température ambiante, le volume de la solution est ajusté à 100 ml avec de l'eau nanopure. Elle est maintenue à  $4^{\circ}\text{C}$  jusqu'à utilisation.

Dans le cas des glucides, la courbe de calibration est réalisée à l'aide d'une solution de 1 mg/ml de glucose, tréhalose et sucrose (1:1:1) (Sigma Aldrich) dans de l'eau nanopure. Dix concentrations sont retenues pour établir cette courbe de calibration (de 0 à 180 µg par ml par paliers de 20 µg par ml de la solution standard). La préparation et la lecture des standards se font selon les méthodes de quantification décrite ci-dessous, à savoir 200 µl de l'échantillon en solution sont déposés dans un tube de verre de 5 ml puis réduits à 100 µl sous flux d'azote. Le tube est ensuite réfrigéré, puis 4 ml de réactif d'anthrone y sont ajoutés. Après une brève agitation, le mélange est chauffé 20 minutes au bain-marie à une température de  $91\pm 1^{\circ}\text{C}$ . Le tube est ensuite placé sur glace pour stopper la réaction. Le mélange prend alors une coloration jaune à vert, stable durant 30 à 45 minutes. La lecture se fait à 625 nm par spectrophotométrie. L'évaluation de la quantité d'hydrates de carbone présents dans l'échantillon se fait par conversion à partir de la droite de calibration réalisée préalablement.

➤ **Quantification des adénylates et calcul de la charge énergétique**

La quantification des adénylates, ATP, ADP et AMP, est réalisée par chromatographie en phase liquide à haute pression (HPLC). Des groupes de 10 individus de l'espèce *L. botrana* sont réduits en poudre en présence d'une bille de tungstène et d'azote liquide, pendant 1 minute, à une fréquence de 30 mouvements par seconde (TissueLyser, Retsch, Qiagen). L'ensemble de ces manipulations est réalisé sans que le matériel biologique ne dégèle. Le tube contenant l'échantillon à analyser est incubé durant 20 secondes dans de l'eau à 10°C, et 200 µl du tampon d'extraction (NRB, LuminEX (B), Celsis) sont ajoutés. Après une minute sous agitation, la solution est filtrée sous vide (filtre HAWP, 0.45 µm, 25 mm, Millipore). Le tube est rincé par 100 µl de tampon d'extraction, puis le contenu est de nouveau filtré. Le résidu et le filtre sont prélevés et placés dans le tube Eppendorf d'origine contenant 2 ml d'eau nanopure. Après sonication, durant une minute (ultra-son basse fréquence 50Hz), le filtre est retiré et le tube est centrifugé deux minutes à 10'000 x g (micro CENTRIFUGETTE 4214, ALC, Kontron Instruments). Le surnageant est éliminé et le culot rincé avec 2 ml d'eau nanopure, puis centrifugé de nouveau dans les mêmes conditions. Le culot est ensuite séché sous vide à 40°C (Integrated SpeedVac® System ISS110, Savant) durant 24 h. L'échantillon est conservé sous vide dans un dessiccateur jusqu'à l'utilisation.

Seuls 20 µl du filtrat sont analysés par HPLC (Ultimate 3000 Pump, Ultimate 3000 Autosampler Column Compartment, Ultimate 3000 Photodiode Array Detector, logiciel Chromeleon, Dionex). Le système est équipé d'une pré-colonne Acclaim, Guard column, 4.3 mm, C18 (Dionex) et d'une colonne Acclaim, C18, 5 µm, 4.6 x 150 cm (Dionex). La phase mobile consiste en un gradient d'une solution A de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (0.1 M)/TBHAS (4 mM) pH 6.0 ajusté par l'ajout d'une solution de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (1M) et d'une solution B de méthanol/H<sub>2</sub>O 70:30. La phase mobile est constituée durant 5 minutes d'un système isocratique de la solution A, puis une succession de gradients linéaires: de 5 à 10 minutes solution A : solution B (80:20), de 10 à 18 minutes solution A : solution B (60:40), puis de nouveaux un système isocratique de 18.1 à 23 minutes de solution B. Le flux est délivré à 1 ml/min. La température de la colonne est de 30±0.1°C.

La détection des adénylates se fait à 240 nm. La surface des pics correspondant aux adénylates d'intérêts sont convertis en microgramme en utilisant une droite de calibration préalablement déterminée (20 µl de solution standards d'Adénosine 5'-monophosphate (AMP, Sigma), d'Adénosine 5'-diphosphate (ADP, Sigma) et d'Adénosine 5'-triphosphate (ATP, Sigma). Les résultats sont exprimés en µg par mg de poids frais.

La charge énergétique (CE) des échantillons est calculée selon la formule d'Atkinson et Walton (1967), soit  $CE = [ATP + (0.5 \times ADP)] / [AMP + ADP + ATP]$ .

#### 4.2.3. *Evaluation du métabolisme basal*

Afin de connaître les réserves métaboliques de base de *L. botrana*, une quantification des lipides, hydrates de carbone et adénylates à différents stades de développement de l'insecte est réalisée. Pour ce faire, immédiatement après l'émergence, des adultes mâles de *L. botrana* sont placés dans des boîtes d'élevage par groupe de 10 en présence d'eau ou d'eau sucrée à 10%. Une quantification des lipides totaux et des hydrates de carbone est ensuite réalisée individuellement sur des mâles nouvellement émergés, puis à un, cinq et dix jours d'âge pour les différents traitements. Un total de 47 individus a été échantillonné.

De même, des groupes de 10 individus sont analysés pour quantifier les concentrations en adénylates aux stades de développements suivants: néonate, larvaire, nymphal, adulte âgé de 2 et 15 jours au repos en présence d'eau, adulte âgé de deux jours avec à disposition de l'eau pendant la période d'activité, adultes âgés de 7 jours sans eau et adultes morts. A chacun de ces stades, les groupes sont congelés comme décrit précédemment, puis les adénylates sont quantifiés et la charge énergétique est calculée. De 3 à 20 échantillons de 10 individus ont été analysés au cours de cet essai.

L'analyse statistique des résultats obtenus est réalisée à l'aide du logiciel XLStat®. Dans un premier temps, les données obtenues lors des quantifications de lipides et d'hydrates de carbone pour les individus nourris à l'eau sont comparées entre elles à l'aide d'une analyse de variance à un facteur qu'est l'âge. Ensuite, afin de connaître l'influence du mode d'alimentation, une analyse de variance à deux facteurs que sont « l'âge » et « le mode d'alimentation » (eau / eau sucrée) est réalisée sur les résultats obtenus pour les individus âgés de 5 et 10 jours. La variable de réponse est la « concentration en lipides totaux, glucide ou glycogène » des individus testés. Pour déterminer les différences entre les concentrations obtenues selon l'âge et le mode d'alimentation, un test post-hoc Tukey HDS est réalisé avec un seuil de signification de 5%. Les charges énergétiques calculées, variable réponse, sont également analysées à l'aide d'une analyse de variance à un facteur qu'est « le stade de développement », avec comme variable réponse « la charge énergétique ». Pour déterminer les différences entre les charges énergétiques obtenues, un test post-hoc Tukey HDS est réalisé avec un seuil de signification de 5%.

#### 4.2.4. *Le potentiel de vol*

##### ➤ **Distance parcourue**

Afin de quantifier la distance que peuvent parcourir des mâles de *L. botrana*, des individus âgés de 2 jours sont installés sur un carrousel de vol.

Ce système consiste en une arène expérimentale circulaire. Au centre de celle-ci est fixé un axe rotatif vertical où est installé un bras horizontal d'un diamètre donné dans lequel est inséré le support de l'insecte. A chaque semi-rotation du bras entraîné par l'insecte en vol, celui-ci interrompt un photodétecteur qui envoie un signal à une interface reliée à un ordinateur. Ce signal est transcrit à l'aide du logiciel LabView® version 7.1 (National Instrument 2003). Il est alors possible d'évaluer le nombre de vols effectués pendant une période donnée, la durée de chacun des vols, ainsi que la distance totale parcourue à l'aide du nombre de tours réalisés par l'insecte. Dans le cas de cette étude, seule la distance est enregistrée.

Quatre heures avant l'extinction de la lumière (scotophase), les individus testés sont placés dans une chambre froide à 8°C pendant 15 minutes. Ils sont ensuite déposés sur une table réfrigérée à 5°C pour faciliter la manipulation. Les écailles recouvrant le thorax des papillons sont légèrement balayées à l'aide d'un pinceau pour faciliter la fixation du support sur l'insecte. Celui-ci consiste en une épingle (épingles à insectes pour préparation) pliée à l'extrémité afin de faciliter le contact avec le thorax de l'insecte et laissant le libre mouvement des ailes. L'épingle est fixée au thorax à l'aide d'une colle non toxique (Tanglefoot, Michigan). Les papillons sont ensuite transférés dans la salle climatisée à une température de 22±1°C, 80±10% d'humidité relative à longue photopériode (16h de jour / 8h de nuit). Une heure avant la scotophase, l'épingle est insérée dans le bras horizontal du carrousel, avec en parallèle un papillon mort installé de l'autre côté pour faire contre-poids. C'est à ce moment que commence l'enregistrement. Deux carrousels de vol sont à disposition. Le premier possède un diamètre de 72 mm et le second, nécessitant une force plus importante pour entraîner le bras horizontal, a un diamètre de 65 mm. Ainsi, la distance parcourue est calculée par la formule suivante: Distance parcourue = nombre de tours x 2 x  $\pi$  x rayon.

La distance totale parcourue de 11 individus est enregistrée sur une durée de 24 h.

##### ➤ **Durée du vol**

Afin d'évaluer l'évolution de la durée du vol en fonction de l'âge, une observation du comportement de vol sur cinq périodes d'activation consécutives est réalisée en tunnel de vol. Le tunnel de vol est généralement employé pour observer le comportement de vol des insectes exposés à une odeur donnée. Dans le cas de cette étude, le tunnel de vol, préalablement décrit

au chapitre 2, est utilisé afin de simuler un vol libre des papillons. Pour stimuler un vol prolongé, cinq capsules contenant 500 µg du bouquet phéromonal E7,Z9-12:Ac, E7,Z9-12:OH et Z9-12:Ac, selon les proportions 10:2:0.5, sont suspendues à l'extrémité du tunnel de vol. La salle climatisée est conditionnée selon les paramètres suivants: température de 22±1°C, humidité relative de 80±10% et vitesse du vent à 0.35±0.03m/s, sous longue photopériode (16h de jour / 8h de nuit). Le jour du test, les mâles sont prélevés de la boîte cylindrique où ils sont maintenus en élevage. Ils sont placés individuellement dans un tube en verre (Ø: 2.5 cm; L: 15 cm), fermé aux deux extrémités au moyen d'un tissu de polyester perforé laissant passer l'air. Ils sont ensuite transportés dans la salle climatisée où se trouve le tunnel de vol trois heures avant la scotophase. Au terme de l'observation, les mâles sont replacés dans les boîtes cylindriques d'élevage, jusqu'au lendemain où ils sont de nouveau testés.

Les durées de vol sont enregistrées au cours de la première à la cinquième nuit suivant l'émergence de l'adulte. Le mâle observé est lâché à une distance d'environ 140 cm des sources phéromonales. Le tube le contenant est déposé sur un support d'une hauteur de 30 cm, puis le tissu de polyester le fermant est retiré. Chaque mâle est observé pendant un temps variable selon qu'il présente ou pas un comportement influencé par le faisceau phéromonal. L'observation se termine après deux minutes lorsque le mâle ne présente aucun signe d'activation au sein du tube. La durée du vol est enregistrée à l'aide d'un chronomètre. Celui-ci est arrêté à chaque fois que l'insecte se pose sur la paroi de l'enceinte. A ce moment un autre chronomètre est déclenché. Après trois minutes de pause, l'observation est terminée. Si le mâle s'envole de nouveau, le chronomètre mesurant le temps de vol est enclenché. Au total, 27 individus ont été observés pour cet essai.

L'analyse statistique des observations est réalisée à l'aide du logiciel XLStat®. Les données sont comparées entre elles à l'aide d'une analyse de variance avec l'âge comme facteur. La variable de réponse est la durée du vol des individus testés. Pour déterminer les différences entre les classes d'âge, un test post-hoc Tukey HDS est réalisé avec un seuil de signification de 5%.

#### 4.2.5. Influence du vol sur le métabolisme

##### ➤ Le vol stimulé sur une période de 24 heures

Les insectes installés sur le carrousel de vol, dans le cadre de l'évaluation de la distance parcourue, sont utilisés afin d'évaluer l'impact sur le métabolisme d'un vol sur une courte période de 24 heures. Durant le test, un individu de contrôle est installé à proximité sur un support fixe ne lui permettant pas d'avancer. Au terme des 24 heures d'observation, les mâles sont congelés immédiatement selon la procédure décrite ci-dessus. Des quantifications d'adénylates et de lipides totaux sont ensuite réalisées à partir de ces échantillons. Seul un échantillon de 10 individus a pu être analysé.

##### ➤ Le vol libre sur une durée de 7 jours

Le tunnel de vol est ici utilisé pour étudier l'influence du vol répété au cours d'une longue période sur le métabolisme des mâles de *L. botrana*. Les conditions d'exposition des insectes sont comme mentionné à la section 4.2.4 « Durée du vol ». Des mâles nouvellement émergés y sont lâchés. Des individus de contrôle, ne pouvant pas voler, sont placés individuellement dans des cubes percés (h : 1.5 cm, l : 2 cm). Ces cubes sont positionnés à l'extrémité de l'enceinte de vol. Quatre heures avant la scotophase, dix individus de chaque groupe sont prélevés au moment du lâcher, puis après une, trois, cinq et sept nuits d'exposition. Ils sont immédiatement congelés dans l'azote liquide selon la procédure décrite ci-dessus, puis stockés à  $-80^{\circ}\text{C}$  jusqu'à l'utilisation. Les adénylates et les lipides totaux sont ensuite quantifiés. Quatre à six échantillons de 10 individus prélevés à différents âges ont été analysés.

L'analyse statistique des observations est réalisée à l'aide du logiciel XLStat®. Dans un premier temps, le poids des individus contrôles et des individus exposés librement dans le tunnel de vol sont comparés entre eux à l'aide d'un test t de Student. Ensuite, les données obtenues lors des quantifications de lipides et du calcul de la charge énergétique pour les groupes d'individus contrôles n'ayant pas volé sont comparées entre elles à l'aide d'une analyse de variance à un facteur qu'est « l'âge ». Puis, afin de connaître l'influence du traitement vol ou non-vol, une analyse de variance à un facteur qu'est « le traitement » est réalisée sur les résultats obtenus pour les individus âgés de 1 à 7 jours. La variable de réponse est la « concentration en lipides totaux » ou « la charge énergétique » des groupes d'individus testés. Pour déterminer les différences entre les concentrations obtenues selon l'âge ou le traitement, un test post-hoc Tukey HDS est réalisé avec un seuil de signification de 5%.

#### 4.2.6. *Influence de la phéromone sur le métabolisme*

Afin de connaître l'impact de la phéromone sexuelle sur le métabolisme de *L. botrana*, des mâles sont exposés en présence ou absence de phéromones. Pour cela, des groupes d'individus sont placés dans un système de cage en présence ou non de phéromones sexuelles. Ce système est constitué d'une armature métallique formant un cube de 35 cm de côté et recouvert d'un tulle en polyester blanc de type moustiquaire de maille de 1,5 mm. La fermeture est assurée par un velcro sur un côté.

##### ➤ **Essai en champ**

Des groupes de 10 mâles de *L. botrana* sont exposés durant une période de 5 jours dans un vignoble où les populations de vers de la grappe sont maîtrisées par la confusion sexuelle. La méthode de lutte utilisée est l'Isonet-LE (Shin-Etsu, Japon) installée à une densité de 500 diffuseurs par hectare. Les mâles sont placés dans une cage installée au centre du vignoble, à hauteur des grappes, sur les fils de palissage de la vigne. En parallèle, une autre cage est placée dans un vignoble contrôle où les populations de vers de la grappe sont maîtrisées à l'aide d'un insecticide classique en seconde génération, à savoir un tébufénozide. Ils sont ensuite collectés et stockés à  $-80^{\circ}\text{C}$  selon la méthode décrite ci-dessus jusqu'à l'utilisation. Pour chaque traitement, 14 échantillons ont été analysés dans cet essai.

Les analyses statistiques des quantifications en lipides totaux et de la charge énergétique sont réalisées à l'aide du logiciel XLStat®. Les données sont respectivement comparées entre elles à l'aide d'une analyse de variance à un facteur qui est le « traitement phéromonal ». Les variables de réponse sont les « concentrations en lipides totaux » et la « charge énergétique » des groupes d'individus testés. Pour déterminer les différences respectives entre les concentrations en lipides totaux et les charges énergétiques, un test post-hoc Tukey HDS est réalisé avec un seuil de signification de 5%.

##### ➤ **Essai dans un environnement contrôlé**

Un essai du même type que celui effectué en champ est réalisé en serre. Dans ce cas, l'influence de la disponibilité en eau est également mesurée. Deux cages sont placées dans deux cases isolées. Chacune d'elle est conditionnée à une température de  $22\pm 3^{\circ}\text{C}$ , à  $60\pm 20\%$  d'humidité sous longue photopériode naturelle. Dans l'une des cases, une capsule de phéromone, contenant  $100\ \mu\text{g}$  du bouquet phéromonal E7,Z9-12:Ac, E7,Z9-12:OH et Z9-12:Ac, selon les proportions 10:2:0.5 est accrochée dans chaque cage. Une des cages contient un abreuvoir avec de l'eau, l'autre non. Des groupes de 10 individus y sont lâchés sur une

durée de 5 jours. Ils sont ensuite collectés puis congelés selon la méthode décrite ci-dessus. Des quantifications d'adénylates et de lipides totaux sont ensuite réalisées sur ces échantillons. Six échantillons de 10 individus prélevés dans chaque traitement ont été analysés au cours de cet essai. Parallèlement, un second essai est réalisé pour mesurer l'influence des phéromones sexuelles sur la durée de vie des mâles. Pour cela, des groupes de 10 individus sont exposés dans les mêmes conditions (eau à disposition, avec ou sans phéromone) et le jour de la mort est enregistré.

Les analyses statistiques des quantifications en lipides totaux et de la charge énergétique sont réalisées à l'aide du logiciel XLStat®. Les données sont respectivement comparées entre elles à l'aide d'une analyse de variance à deux facteurs que sont le « traitement phéromonal » et la « disponibilité en eau ». Les variables de réponse sont les « concentrations en lipides totaux » et la « charge énergétique » des groupes d'individus testés. Pour déterminer les différences respectives entre les concentrations en lipides totaux et les charges énergétiques, un test post-hoc Tukey HDS est réalisé avec un seuil de signification de 5%. Dans le cadre de l'étude sur la durée de vie un t-test est réalisé avec l'âge de la mort comme facteur.

#### 4.2.7. *Comparaison des populations ACW avec une population naturelle*

L'intérêt de cet essai est d'évaluer la possibilité d'étudier des individus d'élevage pour extrapoler ce qui se passe en milieu naturel. Pour cela, des individus sauvages sont capturés en vignoble à l'aide de pièges à entonnoir ("Funnel trap", Entomopraxis, Espagne). Ils sont appâtés par une capsule phéromonale contenant 100 µg de E7,Z9-12:Ac (Pheronet, Suède). Les pièges sont relevés chaque matin durant les périodes de vol. Les mâles capturés sont congelés immédiatement après la collecte des pièges afin de quantifier les taux en adénylates et lipides totaux.

Cette population naturelle est comparée à une population de l'élevage permanent ACW, élevé comme décrit précédemment sur milieu artificiel (4.2.1), mais également à une population de l'élevage permanent ACW élevée sur grappe de raisin. Pour cela, des papiers de ponte, utilisés comme support pour les œufs, et provenant de l'accouplement d'individus de l'élevage permanent, sont fixés à la vigne à hauteur des grappes. Après 3 semaines, les grappes attaquées sont collectées et placées dans des boîtes d'élevage en cellule climatisée ( $24 \pm 1^\circ\text{C}$  et  $70 \pm 10\%$  HR) à longue photopériode (16h de jour / 8h de nuit). Pour leur offrir un lieu de nymphose, des cartons ondulés sont déposés dans les boîtes d'élevage. Au stade nymphal, les individus sont sexés et seuls les mâles sont conservés, puis placés en éclosiers. Après

émergence, les adultes sont maintenus dans une boîte cylindrique ( $\varnothing$ : 10.5 cm, h: 16 cm) munie d'un abreuvoir contenant de l'eau jusqu'à leur utilisation. La boîte cylindrique est changée quotidiennement. A l'âge de 2 jours, les mâles élevés sur milieu artificiel et sur grappes sont congelés et stockés comme décrit précédemment. Ces échantillons sont ensuite analysés pour quantifier la quantité d'adénylates et de lipides totaux. Dans le cadre de cette comparaison, neuf à 15 échantillons de 10 individus ont été analysés.

Les analyses statistiques des quantifications en lipides totaux et de la charge énergétique sont réalisées à l'aide du logiciel XLStat®. Les données sont respectivement comparées entre elles à l'aide d'une analyse de variance à un facteur qui est « la population ». Les variables de réponse sont les « concentrations en lipides totaux » et de « la charge énergétique » des groupes d'individus testés. Pour déterminer les différences respectives entre les concentrations en lipides totaux et les charges énergétiques, un test post-hoc Tukey HDS est réalisé avec un seuil de signification de 5%.

### 4.3. Résultats

#### 4.3.1. Evaluation du métabolisme basal

##### ➤ Lipides totaux et hydrates de carbone

Les concentrations absolues en lipides totaux, hydrates de carbone et glycogène ont été mesurées sur 46 adultes d'âges différents au repos, élevés en présence d'eau ou d'eau sucrée (Annexe V a). Les individus nourris à l'eau ont été analysés au jour d'émergence, puis à l'âge de 1, 5 et 10 jours. Les individus nourris à l'eau sucrée ont été analysés à l'âge de 5 et 10 jours.

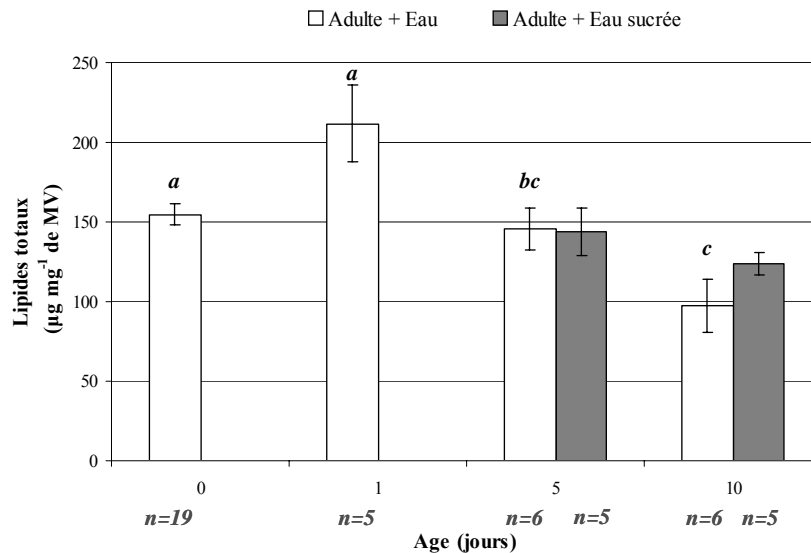


Figure 4.1: Evolution des réserves en lipides totaux au cours de la vie de l'adulte de *L. botrana* élevé en présence d'eau ou d'eau sucrée pendant 10 jours. Le jour 0 correspond au jour de l'émergence. Les concentrations moyennes en lipides pour chaque âge des individus ayant eu à disposition de l'eau assignées d'une lettre différente sont significativement différentes ( $P < 0.05$ ). La barre d'erreur correspond à l'erreur standard.

L'analyse de variance à un facteur qu'est « l'âge », met en évidence des différences significatives entre les concentrations en lipides totaux obtenus pour les individus alimentés avec de l'eau ( $F_{3,32}=9.63$ ,  $P < 0.001$ ) (Figure 4.1). Les résultats montrent une augmentation de la concentration en lipides totaux au cours des premiers jours de vie, soit  $154 \mu\text{g mg}^{-1}$  de matière vivante (MV) le jour de l'émergence et  $211 \mu\text{g mg}^{-1}$  de MV le jour suivant. Celle-ci décroît avec l'âge atteignant ainsi une concentration de  $97 \mu\text{g mg}^{-1}$  de MV à 10 jours d'âge, soit la moitié.

Le modèle issu de l'analyse de variance à deux facteurs « mode d'alimentation » et « l'âge » n'explique pas suffisamment les variabilités obtenues dans les données concernant les concentrations en lipides des individus âgés de 5 et 10 jours ( $F_{3;19}=2.76$ ,  $P=0.071$ ). C'est la raison pour laquelle on ne peut pas tirer des conclusions quant à l'effet du mode d'alimentation et de l'âge sur les concentrations en lipides chez ces individus.

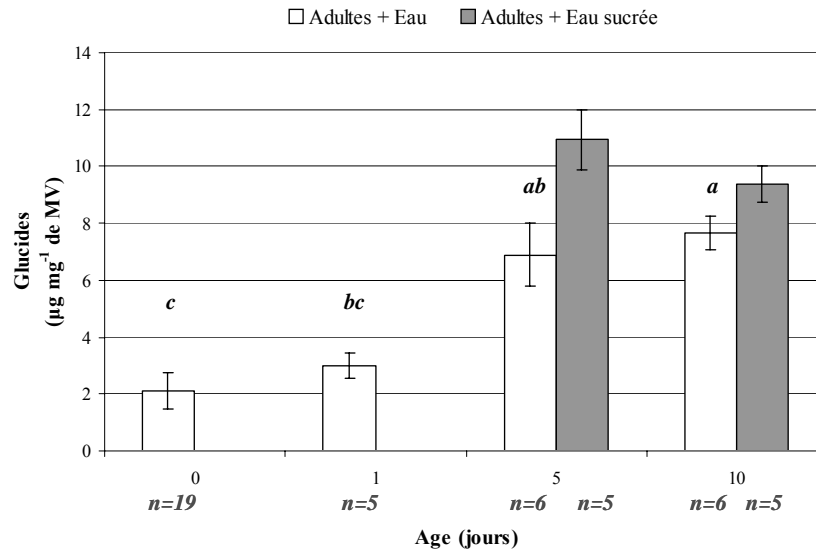


Figure 4.2: Evolution des concentrations en glucides au cours de la vie de l'adulte de *L. botrana* élevé en présence d'eau ou d'eau sucrée pendant 10 jours. Le jour 0 correspond au jour de l'émergence. Les concentrations moyennes en glucides pour chaque âge des individus ayant eu à disposition de l'eau assignées d'une lettre différente sont significativement différentes ( $P < 0.05$ ). La barre d'erreur correspond à l'erreur standard.

L'analyse de variance à un facteur « âge », met en évidence des différences significatives entre les concentrations en glucides obtenues pour les individus alimentés avec de l'eau ( $F_{3;32}=11.76$ ,  $P < 0.001$ ) (Figure 4.2). Les concentrations en glucides augmentent parallèlement à l'âge. Ainsi, la concentration en glucides présente dans l'organisme au premier jour de vie est de 2 µg pour atteindre 7.5 µg mg<sup>-1</sup> de MV pour un adulte âgé de 10 jours élevés avec de l'eau. Lors de l'analyse de variance à deux facteurs que sont « l'âge » (5 et 10 jours) et le « mode d'alimentation » (eau sucrée ou non), des différences significatives sont également observées. Cependant, seule l'alimentation en eau sucrée influence la concentration en glucides ( $F_{1;19}=10.39$ ,  $P=0.004$ ). Les individus nourris à l'eau sucrée présentent des concentrations en glucides supérieures à ceux nourris à l'eau, et cela quel que soit l'âge. L'âge n'influence statistiquement pas les concentrations en glucides ( $F_{1;19}=0.18$ ,  $P=0.673$ ). De même, il n'y a pas d'interaction entre les deux facteurs étudiés ( $F_{1;19}=1.67$ ,  $P=0.211$ ). En présence d'eau sucrée, un adulte âgé de 5 jours atteindra 11 µg mg<sup>-1</sup> de MV, soit 4 µg mg<sup>-1</sup> de

MV de plus qu'un individu du même âge abreuvé avec de l'eau. Il est à noter que les concentrations en glucides sont très faibles en comparaison de celles obtenues pour les lipides totaux.

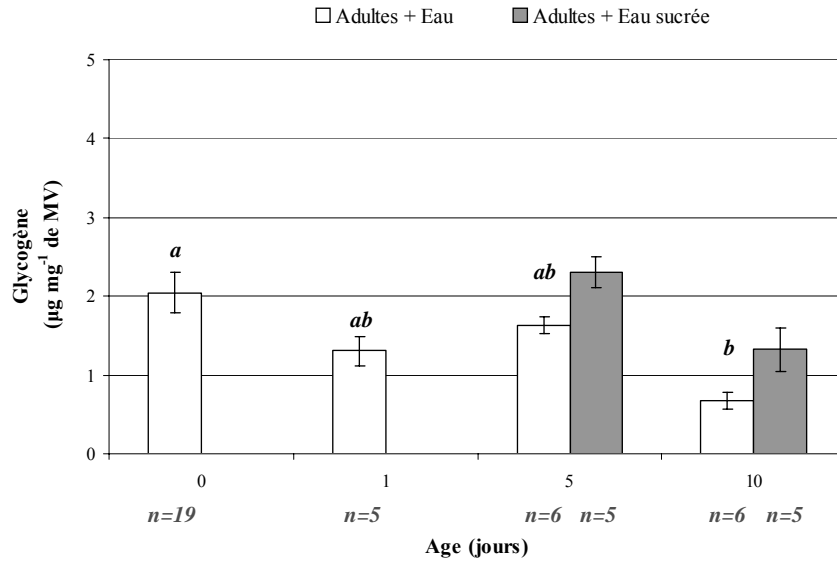


Figure 4.3: Evolution des concentrations en glycogène au cours de la vie de l'adulte de *L. botrana* élevé en présence d'eau ou d'eau sucrée pendant 10 jours. Le jour 0 correspond au jour de l'émergence. Les concentrations moyennes en lipides pour chaque âge assignées d'une lettre différente sont significativement différentes ( $P < 0.05$ ). La barre d'erreur correspond à l'erreur standard.

L'analyse de variance à un facteur qu'est « l'âge », met en évidence des différences significatives entre les concentrations en glycogène obtenues pour les individus alimentés avec de l'eau ( $F_{3;32}=4.29$ ,  $P=0.012$ ) (Figure 4.3). C'est au moment de l'émergence que la concentration en glycogène est la plus élevée, soit  $2.04 \mu\text{g mg}^{-1}$  de MV. Celle-ci tend à décroître durant la vie de l'insecte nourri à l'eau jusqu'à atteindre  $0.67 \mu\text{g mg}^{-1}$  de MV à l'âge de 10 jours. Chez les individus âgés de 10 jours, quel que soit leur mode d'alimentation, une diminution de moitié de la concentration en glycogène est observée, atteignant  $0.67 \mu\text{g mg}^{-1}$  de MV en présence d'eau et  $1.32 \mu\text{g mg}^{-1}$  de MV en présence d'eau sucrée. L'analyse de variance à deux facteurs montre que les facteurs « âge » ( $F_{1;19}=30.44$ ,  $P < 0.001$ ) et « mode d'alimentation » ( $F_{1;19}=14.08$ ,  $P=0.001$ ) ont un effet sur la concentration en glycogène des individus testés. Quel que soit le mode d'alimentation, eau ou eau sucrée, la concentration en glycogène diminue avec l'âge. Chez les individus nourris avec de l'eau sucrée, la concentration en glycogène est supérieure à celle des individus nourris à l'eau. Aucune interaction n'est mise en évidence entre les facteurs âge et mode d'alimentation ( $F_{1;19}=0.003$ ,  $P=0.957$ ). Il est à noter qu'en présence d'une alimentation sucrée, les individus âgés de 5 jours

possèdent une concentration en glycogène de  $2.30 \mu\text{g mg}^{-1}$  de MV, légèrement supérieure à celle possédée au moment de l'émergence pouvant atteindre  $2.04 \mu\text{g mg}^{-1}$  de MV.

➤ Adénylates et charge énergétique

Les taux d'adénylates (AMP, ADP, ATP) et la charge énergétique de trois à 20 échantillons de 10 individus ont été évalués à différents stades de développement de *L. botrana* (Annexe V b).

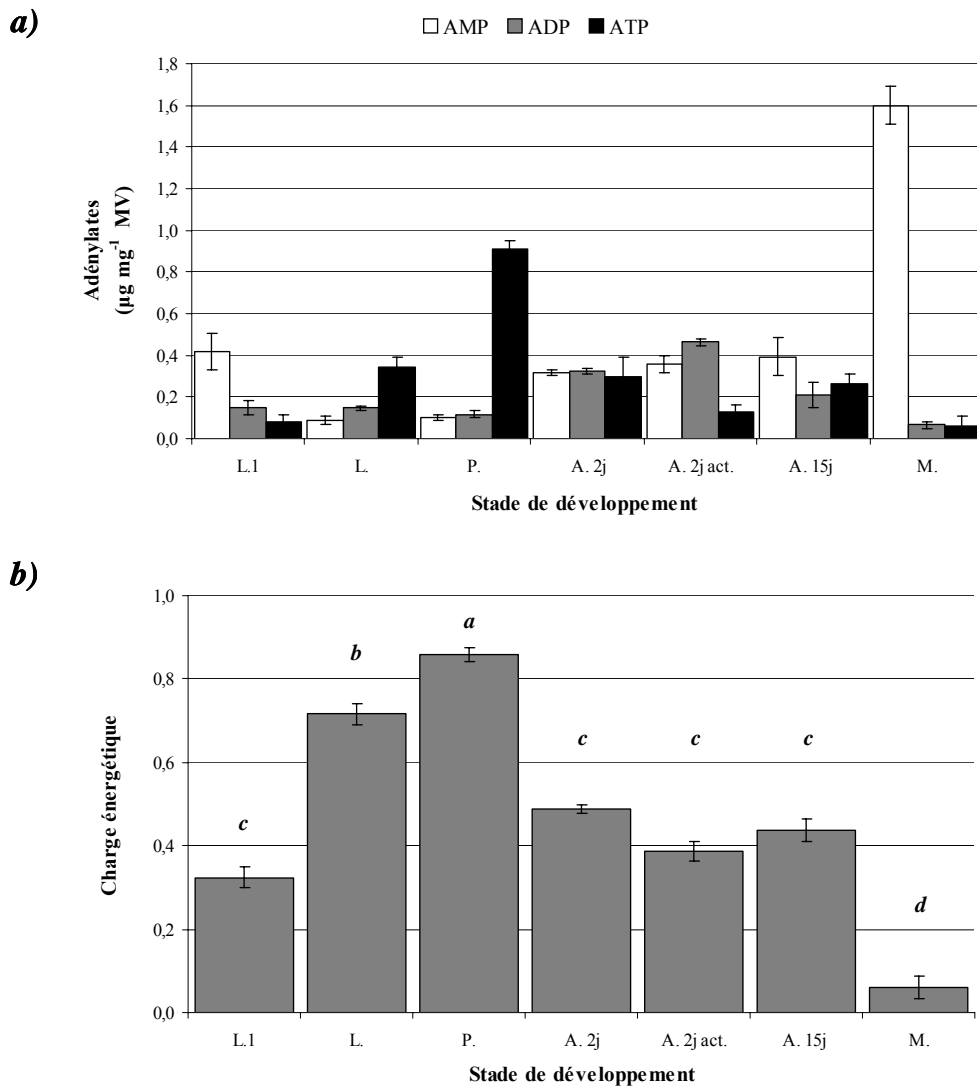


Figure 4.4: Concentration en adénylates (a) et charge énergétique (b) des différents stades de développement de *L. botrana*: Néonate (L1), Larves L3 à L5 (L.); Pupes (P.); Adultes 2 jours (A. 2j); Adultes 2 jours pendant période d'activité (A. 2j act.); Adultes 15 jours (A. 15j); Morts (M.). Les charges énergétiques obtenues pour chaque stade de développement assignées d'une lettre différente sont significativement différentes ( $P < 0.05$ ). La barre d'erreur correspond à l'erreur standard.

Les résultats montrent une augmentation de la concentration d'ATP durant le développement larvaire et ceci jusqu'au stade nymphal, où elle atteint un maximum avec  $0.9 \mu\text{g mg}^{-1}$  de MV (Figure 4.4a). Excepté pour le stade néonate (L1), les concentrations d'AMP et ADP sont relativement peu élevées pour les stades larvaires et pupes avec moins de  $0.2 \mu\text{g mg}^{-1}$  MV.

Au stade adulte, la tendance montre une diminution de la concentration en ATP jusqu'à la mort des individus, soit  $0.05 \mu\text{g mg}^{-1}$  MV, au détriment des autres adénylates (AMP et ADP). A ce stade, la concentration en AMP est très élevée, avec  $1.6 \mu\text{g mg}^{-1}$  MV. Les charges énergétiques calculées suivent la même tendance que les concentrations en ATP (Figure 4.4b). L'analyse de variance révèle des différences significatives entre les charges énergétiques des différents stades ( $F_{6,58}=60.83$ ,  $P<0.001$ ). Celles-ci sont très élevées aux derniers stades larvaires et au stade pupal, atteignant respectivement des rapports de 0.7 et 0.9. A l'âge adulte, la charge énergétique reste plus ou moins stable, soit environ 0.5 pour des individus au repos. Elle décroît nettement au moment de la mort, pour atteindre une valeur presque nulle.

Au stade papillon 2 jours, les concentrations en AMP, ADP et ATP sont équivalentes, soit  $0.3 \mu\text{g mg}^{-1}$  MV. Les résultats concernant les papillons âgés de 2 jours, congelés en pleine période d'activité, mettent en évidence une nette diminution des concentrations d'ATP pendant le vol, celles-ci atteignant  $0.1 \mu\text{g mg}^{-1}$  MV, tandis que les concentrations en AMP et ADP semblent augmenter, s'élevant respectivement à  $0.36 \mu\text{g mg}^{-1}$  MV et  $0.46 \mu\text{g mg}^{-1}$  MV. De même les charges énergétiques tendent à diminuer, atteignant un rapport de 0.4 chez les individus en activité.

### 4.3.2. Potentiel de vol

#### ➤ La distance de vol

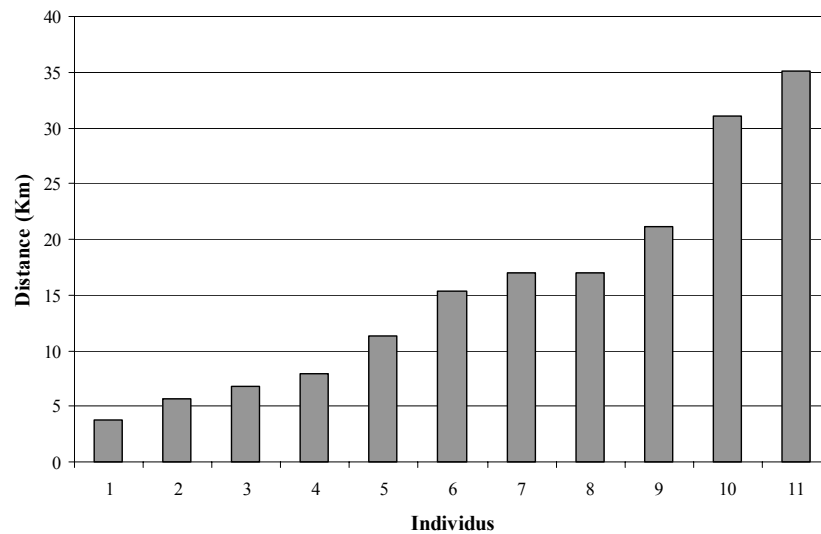


Figure 4.5: Distribution des distances de vol, enregistrées sur 24 h, parcourues sur le carrousel de vol par les individus mâles de *L. botrana*.

Il existe une très grande variabilité dans les distances de vol parcourues par les 11 mâles de l'espèce *L. botrana* durant leur troisième période d'activité. Une distance moyenne de vol de 15,6 kilomètres, avec un écart type de 10.2 kilomètres, a été enregistré sur une période de 24 h. La distance minimum de vol enregistrée est de 3.7 km et la distance maximum est de 35.1 km (Figure 4.5).

➤ La durée du vol

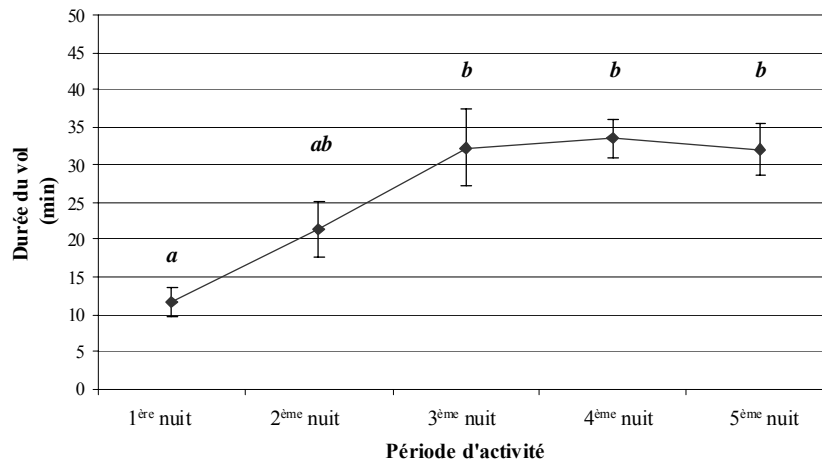


Figure 4.6: Durée du premier vol enregistré au cours des cinq premiers jours de vie de *L. botrana*. Chacun de ces individus est exposé face à cinq capsules contenant 500 µg du bouquet phéromonal E7,Z9-12:Ac, E7,Z9-12:OH et Z9-12:Ac (10:2:0.5) suspendues à l'extrémité du tunnel de vol. Les durées moyennes de vol assignées d'une lettre différente sont significativement différentes ( $P < 0.05$ ). La barre d'erreur correspond à l'erreur standard.

La durée de vol moyenne de 27 mâles de l'espèce *L. botrana* a été mesurée sur 5 périodes consécutives d'activité. Des différences significatives sont observables entre les durées moyennes de vol ( $F_{4,89}=9.31$ ,  $P < 0.001$ ) (Figure 4.6). L'âge de l'individu influence la durée passée en vol. Lors de la première nuit d'activité, les mâles passent en moyenne 12 minutes en vol. La durée moyenne du vol est croissante au cours des jours suivants. Durant la 3<sup>ème</sup>, la 4<sup>ème</sup> et la 5<sup>ème</sup> nuit, celle-ci atteint 33 minutes.

### 4.3.3. Influence du vol sur le métabolisme

Les concentrations en lipides totaux et la charge énergétique évaluée à partir de la mesure des taux d'adénylates (AMP, ADP, ATP), ont été calculées pour différents individus. Dans un premier temps, quatre à six échantillons de 10 individus ayant eu la possibilité ou non de réaliser un vol libre en tunnel de vol durant plusieurs jours consécutifs sont analysés (Annexe VII). Puis, un échantillon de 10 mâles ayant volés sur le carrousel le vol pour l'étude du potentiel de vol est analysé.

➤ Les lipides totaux

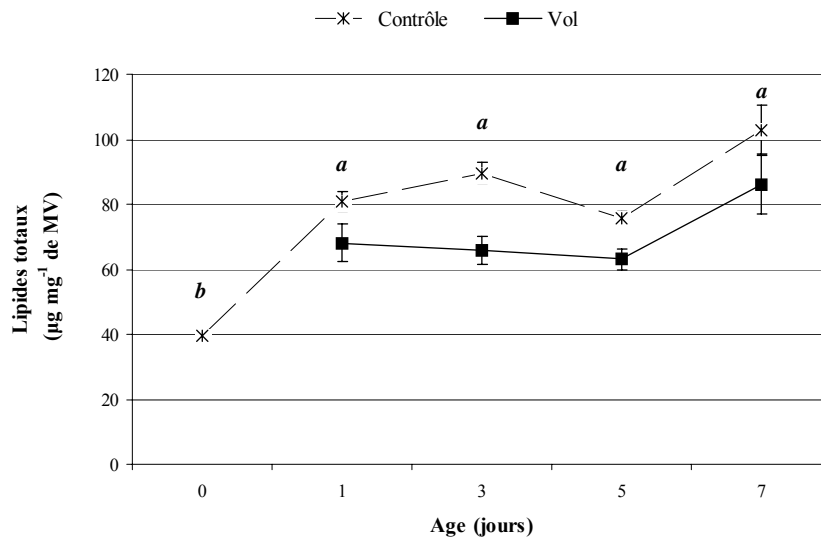


Figure 4.7: Evolution de la concentration en lipides totaux au cours de la première semaine de vol de *L. botrana*. Le jour 0 correspond au jour de l'émergence. Pour stimuler le vol, cinq capsules contenant 500 µg du bouquet phéromonal E7,Z9-12:Ac, E7,Z9-12:OH et Z9-12:Ac (10:2:0.5) sont suspendues à l'extrémité du tunnel de vol. Les concentrations en lipides totaux obtenus pour les individus n'ayant pas volé assignées d'une lettre différentes sont significativement différentes ( $P < 0.05$ ). La barre d'erreur correspond à l'erreur standard.

*Le tunnel de vol:* Bien que les individus libres dans le tunnel de vol ont été exposés au flux d'air pouvant engendrer un dessèchement des mâles, la comparaison des poids moyens des individus ayant volés et non volés ne présente pas de différence significative ( $n = 55$ ,  $t = -1.5$ ,  $P = 0.140$ , Annexe X). Par conséquent, le flux d'air ne semble pas influencer le poids des individus posés. L'analyse de variance à un facteur qu'est « l'âge », réalisée à partir des données issues de l'étude réalisée en tunnel et obtenues pour les individus n'ayant pas volé, présente des différences significatives entre les concentrations en lipides totaux pour les échantillons analysés ( $F_{4;24} = 6.84$ ,  $P = 0.001$ ) (Figure 4.7). La tendance montre une augmentation de la concentration en lipides totaux parallèlement à l'âge des individus. Le jour de l'émergence, le paramètre mesuré s'élève à  $39.5 \mu\text{g mg}^{-1} \text{ MV}$ . A sept jours d'âge, la concentration en lipides totaux tend à augmenter, soit  $94 \mu\text{g mg}^{-1} \text{ de MV}$ . L'analyse de variance réalisée pour les données obtenues pour les individus âgés de 1 à 7 jours, montre que le vol favorise une diminution des concentrations en lipides totaux ( $F_{1;41} = 5.72$ ,  $P = 0.021$ ) (Figure 4.7). Les individus ayant volé possèdent une concentration en lipides totaux qui est en moyenne  $15 \mu\text{g mg}^{-1} \text{ de MV}$  plus basse que celles des individus contrôles de même âge. L'âge

( $F_{3;41}=2.04$ ,  $P=0.123$ ) et l'interaction entre le vol et l'âge ( $F_{3;41}=0.75$ ,  $P=0.527$ ) n'ont pas d'influence sur ces concentrations.

*Le carrousel de vol:* Ces résultats semblent être confirmés par ceux obtenus à l'aide du carrousel de vol. La quantité de lipides mesurée pour l'échantillon d'individus contrôles est nettement plus élevée que celle mesurée pour l'échantillon d'individus ayant eu la possibilité de voler sur le carrousel de vol durant 24 h. Ces valeurs correspondent respectivement à 167 et 47  $\mu\text{g mg}^{-1}$  de MV.

➤ **La charge énergétique**

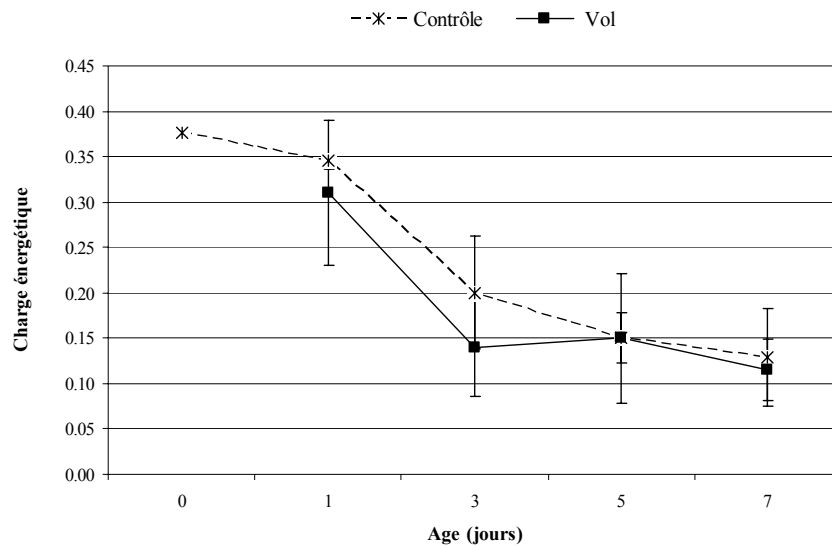


Figure 4.8: Evolution de la charge énergétique au cours de la première semaine de vol de *L. botrana* réalisé en tunnel de vol. Pour stimuler le vol, cinq capsules contenant 500  $\mu\text{g}$  du bouquet phéromonal E7,Z9-12:Ac, E7,Z9-12:OH et Z9-12:Ac (10:2:0.5) sont suspendues à l'extrémité du tunnel de vol. Le jour 0 correspond au jour de l'émergence. La barre d'erreur correspond à l'erreur standard.

*Le tunnel de vol:* Une très grande variabilité au sein des échantillons est observable. L'analyse de variance réalisée sur les données obtenues pour les individus n'ayant pas volé montre que l'âge n'influe pas les charges énergétiques ( $F_{4;15}=1.54$ ,  $P=0.239$ ) (Figure 4.8). Le même résultat est également observé pour l'analyse de variance réalisée sur les données des individus âgés de 1 à 7 jours; ni le vol ( $F_{1;23}=0.04$ ,  $P=0.841$ ), ni l'âge ( $F_{3;23}=0.79$ ,  $P=0.178$ ) et ni l'interaction entre ces deux facteurs ( $F_{3;23}=0.08$ ,  $P=0.970$ ) ont une influence sur les charges énergétiques. Cependant, la charge énergétique semble diminuer avec l'âge des individus.

*Le carrousel de vol*: A l'inverse, ces résultats ne sont pas confirmés par l'étude réalisée à l'aide du carrousel de vol. La charge énergétique calculée pour l'échantillon d'individus contrôles est deux fois plus élevée que celle calculée pour l'échantillon des individus ayant eu la possibilité de voler sur le carrousel de vol durant 24 h, soit respectivement un rapport de 0.33 et 0.16.

#### 4.3.4. Influence de la phéromone sur le métabolisme

Afin d'évaluer l'influence de la phéromone sur le métabolisme de *L. botrana*, les concentrations en lipides totaux ont été quantifiées et la charge énergétique évaluée à partir de la mesure des taux d'adénylates (AMP, ADP, ATP) calculées pour plusieurs groupes d'individus soumis à différents traitements phéromonaux.

##### ➤ En vignoble

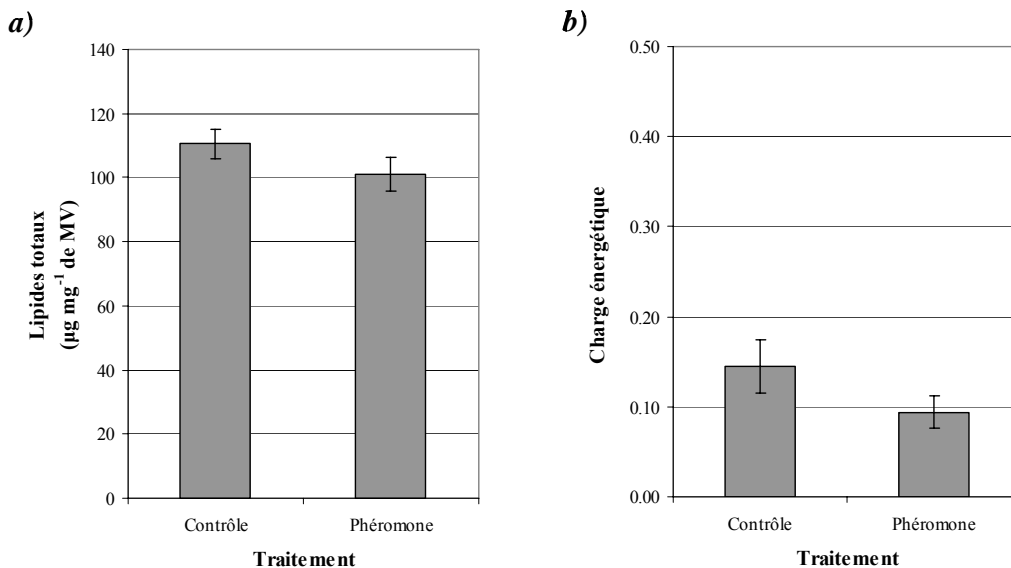


Figure 4.9: Concentration en lipides totaux (a) et charge énergétique (b) de *L. botrana* exposés ou non aux phéromones en vignoble. La barre d'erreur correspond à l'erreur standard.

Pour chaque traitement, 14 échantillons ont été analysés (Annexe IX a). L'exposition aux phéromones ne semble pas influencer la concentration en lipides totaux ( $F_{1,26}=1.90$ ,  $P=0.179$ ) et la charge énergétique ( $F_{1,24}=2.06$ ,  $P=0.163$ ) (Figure 4.9). On peut cependant observer une légère diminution de ces deux paramètres en présence de phéromones. En effet, la concentration en lipides totaux, au terme de cinq jours d'exposition dans un vignoble de contrôle, est de  $110 \mu\text{g mg}^{-1}$  de MV. La charge énergétique correspond à un rapport de 0.14.

En présence de phéromones, le niveau de lipides totaux atteint 100  $\mu\text{g}$ , et la charge énergétique un rapport de 0.09.

➤ Cage en Serre

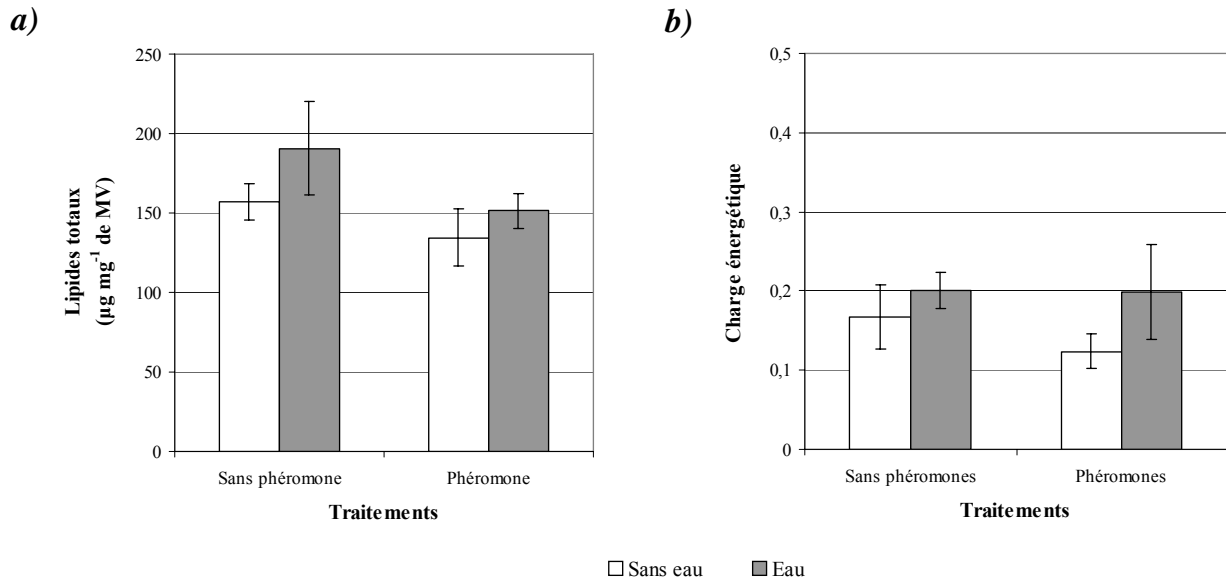


Figure 4.10: Evolution de la concentration en lipides totaux (a) et de la charge énergétique (b) de *L. botrana* soumis à différents traitements (eau/sans eau; phéromones/sans phéromones) en serre. La barre d'erreur correspond à l'erreur standard.

Dans cet essai, six échantillons de 10 individus prélevés dans chaque traitement ont été analysés (Annexe IX b). L'analyse de variance montre que la disponibilité en eau ( $F_{1,21}=2.10$ ,  $P=0.162$ ) et l'interaction entre l'eau et l'exposition aux phéromones ( $F_{1,21}=0.234$ ,  $P=0.634$ ) n'influencent pas les concentrations en lipides totaux (Figure 4.10). Cependant, ce paramètre tend à diminuer avec l'exposition aux phéromones ( $F_{1,21}=3.11$ ,  $P=0.092$ ). De même, la charge énergétique n'est pas influencée par l'exposition aux phéromones ( $F_{1,19}=0.32$ ,  $P=0.580$ ), par la disponibilité en eau ( $F_{1,19}=1.87$ ,  $P=0.187$ ) ainsi que par l'interaction entre ces deux facteurs ( $F_{1,19}=0.28$ ,  $P=0.603$ ). Il semblerait qu'en présence d'eau les concentrations en lipides totaux et la charge énergétique tendent à être un peu plus élevées qu'en absence d'eau.

Bien que celle-ci ne soit pas significative, la longévité des mâles est plus courte en atmosphère imprégnée de phéromones, soit 7.3 jours contre 9.1 jours ( $t = 1.20$ ;  $P= 0.237$ ).

#### 4.3.5. Comparaison des populations naturelles et d'élevage

Les concentrations en lipides totaux mesurées et la charge énergétique calculée à partir de la quantification des taux en adénylates (AMP, ADP, ATP) des mâles issus d'une population naturelle sont comparés à ceux de mâles d'une population d'élevage âgés de 2 jours, élevés sur raisins ou sur milieu artificiel. Dans le cadre de cette comparaison, neuf à 15 échantillons de 10 individus ont été analysés (Annexe X).

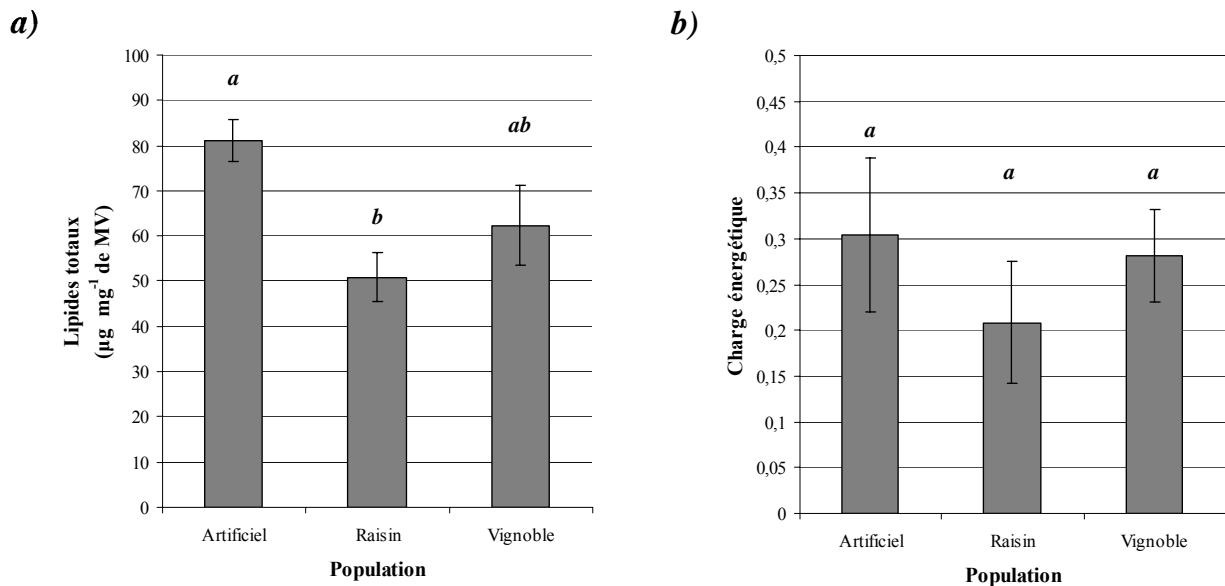


Figure 4.11: Comparaison de la concentration en lipides totaux (a) et de la charge énergétique (b) de *L. botrana* issue de différentes populations, à savoir: Population d'élevage ACW élevée sur milieu artificiel (Artificiel); Population d'élevage ACW élevée sur raisin (Raisin); Population naturelle (Vignoble). Les concentrations en lipides totaux et la charge énergétique assignées d'une lettre différente sont significativement différentes ( $P < 0.05$ ). La barre d'erreur correspond à l'erreur standard.

L'analyse statistique des résultats indique des différences significatives entre les concentrations en lipides totaux des différentes populations ( $F_{2,33}=3.47$ ,  $P=0.043$ ) (Figure 4.11). La population d'élevage nourrie sur milieu artificiel présente la concentration en lipides totaux la plus élevée, soit  $81 \mu\text{g mg}^{-1}$  de MV. A l'inverse, la population d'élevage nourrie sur raisin possède la concentration la plus faible, soit  $50 \mu\text{g mg}^{-1}$  de MV. Avec  $62 \mu\text{g mg}^{-1}$  de MV, les individus issus de la population naturelle possèdent une concentration en lipides totaux intermédiaire. L'analyse des résultats ne permet pas de mettre en évidence une différence significative entre les charges énergétiques des différentes populations ( $F_{2,23}=1.05$ ,  $P=0.364$ ), le rapport moyen s'élevant à 0.26. Le régime alimentaire ne semble pas influencer la charge énergétique. Les absences de différences significatives entre les populations

d'élevage et les populations naturelles laissent envisager la possibilité d'extrapoler les résultats obtenus dans les études précédentes aux individus présents dans les vignobles.

#### 4.4. Discussion

L'approche plus fondamentale de ce chapitre fournit quelques notions de base concernant l'important potentiel de vol, la physiologie et le métabolisme de *L. botrana*. Bien que seul un effet significatif du vol sur les réserves en lipides totaux ait été mis en évidence dans cette étude, des tendances se dessinent quant à l'importance de la phéromone sur l'état physiologique de ce ravageur. Après la discussion des résultats obtenus, des perspectives seront offertes quant à l'utilisation de ces informations.

##### ➤ Comparaison des populations

Les quantités de lipides totaux et la charge énergétique des individus de la population naturelle ne diffèrent pas de celles mesurées pour les individus issus de l'élevage ACW. A l'inverse, les individus élevés sur raisin diffèrent de ceux élevés sur milieu artificiel pour le paramètre lipides totaux. Il serait donc envisageable d'extrapoler les résultats obtenus à l'aide des individus de l'élevage sur les populations naturelles. De plus, ce résultat facilite nettement la mise en place des essais futurs. L'utilisation d'individus issus d'élevage permet désormais de connaître l'âge des individus testés, ce qui permet de pallier le manque d'information disponible sur les adultes piégés en vignoble.

##### ➤ Potentiel de vol

L'étude réalisée à l'aide du carrousel de vol a permis de mettre en évidence les capacités de vol sur de longue distance des mâles de l'espèce *L. botrana*, avec une distance moyenne parcourue de 15.6 km sur 24 h d'observation. Bien que l'élevage soit normalisé durant le développement larvaire et le conditionnement des adultes, et malgré la standardisation par pesage des pupes de la population testée, une grande variabilité dans les capacités de vol est observée selon les individus échantillonnés. Les résultats obtenus révèlent une distribution continue de la distance de vol parcourue par les mâles de *L. botrana*. Ce schéma de distribution des distances de vol a été remarqué dans le cadre d'expériences similaires réalisées sur d'autres espèces migratrices (Armes et Cooter, 1991; Sappington et Showers, 1992) et sédentaires (Päts et Wikteliuss, 1989; Gu et Danthanarayana, 1990; Weber *et al.*, 1993; Jactel, 1993; Schumacher *et al.*, 1997a; Kaufmann et Briegel, 2004; Sarvary *et al.*, 2008). Dans le cadre d'études réalisées sur *Cydia pomonella*, Schumacher *et al.* (1997a) ainsi que Dorn *et al.* (1999) considèrent qu'approximativement 10% des individus d'une population

sont mobiles et réalisent de longues distances, alors que le reste de la population est sédentaire. Une partie de ces variations est due à une variabilité génétique comme il a été montré chez *C. pomonella* (Schumacher *et al.*, 1997b; Kiel *et al.*, 2001), *Epiphyas postvittana* (Gu et Danthanarayana, 1992) et *Helicoverpa armigera* (Colvin et Gatehouse, 1993). Pour tous les insectes, la dispersion est vitale pour une continuité de leur lignée à long terme, qu'ils soient mobiles ou sédentaires (Southwood, 1962). Tout comme *C. pomonella*, *L. botrana* est une espèce sédentaire, et la dispersion par le vol des adultes semble être associée à l'activité reproductrice et alimentaire (Geier, 1963; Mani et Wildboz, 1977).

Dans le passé, l'écosystème naturel fut probablement plus diversifié et instable dans le temps et dans l'espace, exigeant de *L. botrana* la réalisation de longs vols. Il est alors probable que la possibilité de réaliser de longues distances soit une trace d'un comportement antérieur et ne résulte pas d'une sélection récente. Désormais, *L. botrana* vit essentiellement dans un habitat permanent consistant majoritairement en une culture pérenne que sont les zones viticoles largement développées, ce qui, par conséquent, encourage peu les vols longues distances. Ces zones sont désormais stables dans le temps et dans l'espace, et *L. botrana* n'est plus obligé de migrer régulièrement comme les insectes vivant dans les cultures annuelles. Toutefois, à chaque génération des individus migrant assurent la transmission des gènes (Gu *et al.*, 2006). De plus, la capacité à réaliser de longs vols permet aux individus de mettre en place une stratégie pour échapper à un environnement hostile et permettre la colonisation de nouveaux habitats (Kiel *et al.*, 2001; Hughes et Dorn, 2002). Enfin, ce potentiel de vol garantit les rencontres avec des partenaires pour réaliser l'accouplement.

Le vol de nombreux insectes à été enregistré avec succès en laboratoire grâce à un carrousel de vol (Atkins 1969; Naranjo 1990; Cheng *et al.*, 1997; O'Brien 1999; Briegel *et al.*, 2001; Kaufmann *et* Briegel, 2004; Blackmer *et al.*, 2004; Lu *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2008; Williams *et* Robertson, 2008). Toutefois, les résultats obtenus ne sont qu'une estimation relative des performances de vol en conditions expérimentales. Les données ne doivent pas être interprétées comme une mesure des performances de l'insecte en conditions naturelles mais comme une mesure absolue en mètre (Armes et Cooter, 1991; Wu *et al.*, 2006). Il est à noter que la période d'observation de 24 h est bien plus longue que la période d'activité communément enregistrée sur le terrain. De plus, l'activité élevée observée par divers auteurs au début de l'essai, durant la nuit et au début de la matinée, n'est pas observée sur le terrain. Elle est probablement causée par la perte du contact des tarses avec le sol (Armes et Cooter, 1991; Schumacher *et al.* 1997a). Par conséquent cet élément favorise l'apparition d'artefacts

sur la méthode du carrousel de vol engendré par une attitude de fuite de l'individu (Schumacher *et al.*, 1997a). Cette méthode est néanmoins considérée comme un système modèle pour l'étude du comportement de vol (Schumacher *et al.*, 1997a). Ainsi, selon Schumacher *et al.* (1997a), la distance mesurée sur le carrousel de vol peut être estimée trois à cinq fois plus longue que la distance réelle potentiellement parcourue en vignoble. Dans notre cas d'étude, *L. botrana* pourrait alors parcourir en moyenne trois kilomètres.

La mesure du vol répété sur cinq nuits en tunnel de vol a permis de mettre en évidence une élévation de la durée de vol au cours des premiers jours de vie des vers de la grappe. L'augmentation de la durée de vol en fonction de l'âge, obtenue chez *L. botrana*, est décrite chez d'autres espèces (Dingle, 1985; Gu et Danthanarayana, 1990; Armes et Cooter, 1991; Blackmer *et al.*, 1995; Schumacher *et al.*, 1997a). Les variations spécifiques à l'âge sont expliquées par la fin du développement des muscles du vol ainsi que la maturité des enzymes et du substrat nécessaire pour le vol (Collatz et Wipls, 1986). En effet, juste après l'émergence de l'adulte, le nombre de mitochondries diminue, mais leur volume augmente. Ce changement est accompagné par un changement structurel des muscles (Blackmer *et al.*, 1995). Cette modification est alors associée à une augmentation de l'activité biochimique et par conséquent du vol. Elle se produit au premier tiers de la vie de l'insecte, avant l'activité majeure de reproduction (Schumacher *et al.*, 1997a). Durant leur première période d'activité, les individus de l'espèce *L. botrana*, présentent la plus faible capacité de vol comparée aux individus âgés de 3 jours, ayant alors atteint la maturité sexuelle (Torres-Villa, 1995). L'âge, le sexe et le statut d'accouplement semblent jouer un rôle dans les capacités de vol des insectes (Armes et Cooter, 1991; Stewart et Gaylor, 1994; Blackmer *et al.*, 1994, Wu *et al.*, 2006; Lu *et al.*, 2007). Tout comme observé dans des études similaires réalisées sur d'autres espèces tels que *C. pomonella*, *Bemisia tabaci*, *H. armigera* ou *E. postvittana*, les auteurs observent un déclin de la capacité de vol lié à l'âge (Sohal, 1976; Collatz et Wilps, 1986; Blackmer *et al.*, 1995). Au terme de 5 jours d'observation, aucune diminution du vol de *L. botrana* n'est observable. La durée de l'observation n'est probablement pas suffisamment longue. Ce déclin chez ces autres espèces est probablement indirectement influencé par la réduction du glycogène stocké ou des lipides de réserves, mais également par la diminution du potentiel métabolique global, et la dégénérescence des fibres musculaires et des mitochondries impliquées dans le mécanisme du vol (Sohal, 1976; Collatz et Wilps, 1986; Blackmer *et al.*, 1995).

➤ **Evolution des réserves énergétiques**

Les principales formes de stockage de l'énergie sont les hydrates de carbone, le glycogène et les lipides. Les concentrations en glucides et glycogène mesurées sont en faible quantité dans l'organisme de *L. botrana*, comparé aux réserves de lipides totaux, tout comme il a été montré pour d'autres espèces (Briegel, 1989; Casas *et al.*, 2003; Blanckenhorn *et al.*, 2007). Cependant, les lipides totaux sont stockés en petites quantités chez *L. botrana*, ces réserves représentent 10 à 20% du poids moyen de l'insecte. Les réserves en lipides totaux sont variables d'un sexe à l'autre mais également entre les individus de tailles et d'espèces différentes (Van Handel et Lum, 1961; Atkins, 1969; Briegel, 1989; Sappington *et al.*, 1995; Casas *et al.*, 2003; Blanckenhorn *et al.*, 2007; Williams et Robertson, 2008). Selon ces critères, elles peuvent varier de 10 à 50% du poids de l'insecte. Beaucoup de lépidoptères utilisent les lipides comme carburant principal pour produire l'énergie nécessaire au métabolisme (Zebbe, 1954; Ziegler et Schulz, 1986a) et notamment ceux qui se nourrissent peu au stade adulte comme *L. botrana* (Chapman, 1975). Ces espèces n'oxydent quasiment pas les hydrates de carbone (Beenackers, 1969; Beenackers *et al.*, 1984).

Les résultats de ce travail montrent que ces réserves sont nettement influencées par l'âge de l'individu. Dès le premier jour suivant l'émergence du papillon, l'étude révèle une augmentation des concentrations en lipides totaux. Les variations spécifiques à l'âge sont expliquées par la fin de la maturation des voies métaboliques (Collatz et Wipls, 1986). Les concentrations en lipides totaux tendent à diminuer dès le jour suivant. A l'inverse, les concentrations en glucides augmentent. Chez les lépidoptères, la concentration en hydrates de carbone dans l'hémolymphe diminue durant la période initiale du vol (Ziegler et Schulz, 1986b; Teo *et al.*, 1987). Le mécanisme mobilisant les hydrates de carbone des corps gras ne reste pas actif durant un vol prolongé (Beenackers *et al.*, 1984; Sacktor et Hurlut, 1966; Sacktor et Worm-Shavit, 1966). L'utilisation des hydrates de carbone serait alors privilégiée pour le métabolisme basal (Ziegler et Schulz, 1986b; Sappington *et al.*, 1995). *Lobesia botrana* oxyde donc ses réserves de glycogène en tréhalose pour fournir l'énergie nécessaire au fonctionnement métabolique basal de son organisme en complément de l'oxydation des lipides (Childress et Sacktor, 1970). L'accès à une alimentation en eau sucrée, favorise le stockage en hydrates de carbone. Toutefois, ces métabolites ne semblent pas être synthétisés en réserves lipidiques, car une alimentation en eau sucrée ne favorise pas une augmentation de la concentration en lipides totaux.

L'eau semble jouer un rôle dans la consommation des réserves lipidiques. Les mâles non abreuvés semblent posséder des réserves en lipides inférieures à ceux ayant eu à disposition

de l'eau. L'une des voies anaboliques de l'eau se produit du processus d'oxydation des hydrates de carbone et des lipides. Pour les insectes au repos, la perte d'eau par la respiration est négligeable en comparaison de celle perdue lors de l'évaporation cuticulaire (Chapman, 1975). Les pertes en eau dépendent du gradient aqueux entre l'atmosphère et le corps de l'insecte (Colinet *et al.*, 2006). Ainsi, au terme de 5 jours, l'organisme semble avoir utilisé la dégradation des réserves pour produire de l'eau afin d'éviter une hyper-concentration plasmatique progressive et une déshydratation cellulaire ayant des conséquences sur l'équilibre osmotique et par conséquent métabolique de la cellule.

➤ **L'évolution de la Charge énergétique**

La mesure des adénylates, et notamment l'AMP, l'ADP et l'ATP, permet de calculer la charge énergétique (CE). Atkinson (1969) propose le concept de charge énergétique comme une mesure de l'état énergétique cellulaire d'un organisme. La charge énergétique module l'activité de diverses réactions métaboliques liées à l'utilisation et à la régénération de l'énergie métabolique. Ainsi, la mesure des adénylates et l'évaluation de la CE sont de plus en plus utilisées pour surveiller le niveau énergétique et le stress physiologique subi par divers tissus cellulaires (Napolitano et Shain, 2005). Le schéma d'augmentation et de diminution de la CE obtenu lors de l'étude du métabolisme basal pourrait être corrélé avec l'activité cellulaire des tissus. Au stade néonate, la CE est relativement faible en raison des concentrations en AMP élevées par rapport aux ADP et ATP. L'organisme vit sur les réserves *in vitellus* de l'œuf, suffisantes pour le développement de la larve (Chapman, 1975). C'est un stade précaire tant qu'elle n'aura pas trouvé de quoi se nourrir pour continuer sa croissance. Le stade larvaire présente une charge énergétique élevée. La concentration relativement élevée de l'ATP s'explique par le fait que la larve est un organisme en croissance impliquant une activité élevée (Ataullakhanov et Vititsky, 2002). De même, les changements qui se produisent lors de la métamorphose de la larve au stade adulte sont très importants chez les lépidoptères, expliquant des concentrations en adénylates et une CE élevées. Durant cette période pupale, il se produit l'élaboration de nouveaux tissus impliquant en particulier la croissance des ailes et le développement des muscles de vol. Le développement de l'adulte engendre une reconstruction complète des tissus vivants suivant leur destruction au cours de la métamorphose (histolyse) et la phagocytose des tissus larvaires. Le métabolisme énergétique diminue durant la période d'histolyse et augmente pendant la période d'histogenèse et de différenciation cellulaire (Chapman, 1975). Au stade adulte, au repos, les concentrations en

adénylates sont à l'équilibre confirmant l'hypothèse formulé par Atkinson et Walton (1967) qui dit que la cellule tend à stabiliser sa CE.

Les résultats des expériences destinées à mesurer l'impact du vol et de la phéromone sur le métabolisme, ou celles comparant trois populations, montrent que les CE des adultes s'élèvent toutes à un rapport inférieur à 0.5. Ce rapport, proche de celui obtenu pour les individus âgés de 2 jours au repos dans l'étude du métabolisme de base, indique que la transformation de la puppe en papillon correspond à un seuil critique, où désormais un processus de sénescence est initié, et où les réactions de régénération de l'ATP sont prédominantes (Atkinson, 1969). Cependant, ces rapports sont discutés selon les organismes (Ching *et al.*, 1974). Il serait intéressant de définir ces seuils pour *L. botrana* avant de mettre en place toute nouvelle expérimentation physiologique. Au moment de la mort, la CE est très faible en raison de l'inactivité cellulaire.

Les concentrations en adénylates obtenues pour les différents échantillons testés dans cette étude sont homogènes entre elles. Ces valeurs sont du même ordre de grandeur que celles obtenues par Beis et Newsholme (1975), mais 10 à 100 fois supérieures à celles rapportées par d'autres auteurs (Sacktor et Hurlut, 1966; Kohane et Watt, 1999; Napolitano et Shain, 2005). Cependant, pour chacune de ces études, des méthodes différentes d'extraction et de quantification des adénylates ont été utilisées. L'emploi du tampon d'extraction NRB pourrait optimiser l'extraction des adénylates. Pour confirmer cette hypothèse, une étude comparative des différentes méthodes serait à mettre en place. Il faut noter que dans des cellules de même type au sein d'une même espèce ou entre des espèces ou des règnes différents, les adénylates et les charges énergétiques varient considérablement d'un individu à l'autre (Chapman *et al.*, 1971; Ataullakhanov et Vititsky, 2002). De plus, afin d'optimiser les résultats, des quantifications individuelles seraient à envisager pour augmenter le nombre d'échantillons analysés et faciliter la mise en place des essais.

➤ **Influence du vol sur les réserves et la charge énergétique**

Comme vu précédemment, le mécanisme mobilisant les hydrates de carbone des corps gras ne reste pas actif durant un vol prolongé. On peut supposer que, tout comme *Locusta migratoria* (Beenackers *et al.*, 1984) ou *Phormia regina* (Sacktor et Hurlut, 1966; Sacktor et Worm-Shavit, 1966), *L. botrana* oxyde une partie de ses réserves d'hydrates de carbone dans les premières minutes du vol. Cependant, en raison de la faible quantité de réserves en hydrates de carbone stockée par *L. botrana*, seule une quantification des réserves en lipides totaux à été réalisée au cours de cette étude. La mesure de l'évolution des lipides totaux en fonction du vol

ne montre pas de diminution avec l'âge de l'insecte. Cependant, on peut observer une réduction significative des réserves de lipides chez les individus soumis au vol par rapport aux individus contrôles. Cette diminution est également mesurée chez les individus soumis au vol forcé sur le carrousel de vol. De même, cette réduction en lipides a été observée chez d'autres insectes après 4 à 7 heures de vol (Zera *et al.*, 1999; Williams et Robertson, 2008). Mais il faut noter que certaines études ont rencontré quelques difficultés à mettre en évidence une diminution des lipides chez des insectes connus pour réaliser de longs vols, et cela en raison de réserves trop importantes et d'une grande variabilité intra-individuelle (Van Handel et Nayar, 1972; Teo *et al.*, 1987).

Au terme de 7 jours de vol répété, on observe une tendance à l'augmentation des concentrations en lipides dans l'organisme. Cette observation est en opposition avec les données obtenues lors de l'étude du métabolisme basal, qui montrait une diminution des concentrations en lipides totaux avec l'âge. On peut supposer, que dans le cas de l'étude réalisée en tunnel de vol, le confinement des individus contrôles en petit cube pourrait avoir engendré un stress entraînant une consommation énergétique importante et anormale. Or, au terme de la vie, toutes les réserves ne sont jamais totalement consommées. Il reste une quantité minimale non métabolisable de glycogène et de lipides (Van Handel, 1984; Briegel *et al.*, 2001). Celle-ci représente le seuil critique de survie, en dessous duquel l'insecte va irrémédiablement vers une mort programmée. L'augmentation observée pourrait alors s'expliquer par le développement de cellules adipeuses à partir de cellules fibroblastiques afin de pouvoir fournir de l'énergie à l'organisme. Ceci peut se produire aussi bien au cours du développement normal que dans différentes conditions pathologiques (Alberts *et al.*, 2004).

L'exercice musculaire représente l'activité la plus coûteuse en énergie cellulaire pour un animal. Une seule contraction peut entraîner une augmentation de l'utilisation de l'ATP de plus de 100 fois la concentration nécessaire pour le muscle au repos (Kusmericks, 1983). Aussi, on peut observer, dans l'étude du métabolisme de base, qu'en période d'activité, la CE est légèrement diminuée. Le processus de consommation de l'ATP est activé entraînant une accélération de la production de l'ATP pour subvenir au besoin de l'organisme. La réaction réversible mettant en jeu l'adénylate kinase permet de maintenir à l'équilibre les concentrations d'AMP, ADP et ATP (Ataullakhanov et Vititsky, 2002). Ainsi, le pool d'adénylates est présumé suivre les changements de la CE. En raison de certaines réactions non réversibles, à terme, la charge énergétique diminue par une réduction du pool d'adénylates (Ataullakhanov et Vititsky, 2002). C'est pourquoi, on peut observer une

tendance à la diminution de la charge énergétique des individus testés en tunnel de vol et sur le carrousel de vol. Il faut noter, que pour répondre à la demande énergétique des contractions engendrées pendant le vol, un grand nombre de mécanismes sont impliqués pour maximiser la métabolisation en ATP et minimiser les besoins, tels qu'un nombre élevé de mitochondries dans la membrane et la faculté d'élévation de la température pour faciliter les réactions, ainsi qu'une réduction du travail des muscles (Conley et Lindstedt, 2002).

➤ **Influence de la phéromone sur les réserves et la charge énergétique**

Bien que les différences observées ne soient pas significatives, la présence de phéromone tend également à influencer le niveau des réserves en lipides. En effet, les individus exposés à la phéromone présente des réserves en lipides totaux légèrement inférieures aux individus contrôles. Tous les mâles manifestent un comportement sexuel déclenché seulement par la baisse de luminosité lors du crépuscule. Mais, en présence de phéromone, ce comportement est probablement plus intense car il est accentué par la stimulation des phéromones sexuelles (Torres-Vila *et al.*, 1995). Ceci expliquerait le phénomène de mort prématurée observé en présence de capsule phéromonale, également décrit par Torres-Vila *et al.* (1995). En conditions naturelles, cela peut se traduire par une sur-excitation des mâles en présence de phéromones synthétiques, tentant alors de poursuivre les fausses traces phéromonales sans jamais atteindre la source. Ce comportement entraîne une augmentation du temps passé en vol, et par conséquent un accroissement de la consommation d'énergie nécessaire pour le réaliser. Ce qui l'entraînera, à terme, vers une mort prématurée.

De même, bien que ces résultats ne soient pas significatifs, l'exposition à la phéromone semble entraîner une légère diminution de la charge énergétique. Il est cependant difficile de mettre en évidence l'influence de la phéromone sur ce paramètre en raison du rapide taux de renouvellement des adénylates par les cellules pour rétablir l'équilibre. Une exposition plus longue, supérieure à cinq jours, faciliterait la mise en évidence de la diminution du «pool» adénylates.

➤ **Perspectives**

Cette étude a ainsi permis d'obtenir des données de référence sur le potentiel de vol de *L. botrana* et sur son métabolisme. Cependant, au cours des analyses successives, il a été observé des difficultés pour tester, sur les mêmes groupes d'individus, les concentrations en adénylates puis les réserves en lipides totaux. La quantification des adénylates nécessite l'analyse d'échantillons de 10 individus. La méthode de quantification des lipides totaux peut

se réaliser sur des échantillons individuels. Aussi, l'association de ces deux analyses a favorisé une plus grande variabilité des résultats pour ce second test. Dans le futur, il serait important de dissocier ces deux méthodes de quantification. Les quantifications des lipides totaux et des hydrates de carbone ont été réalisées selon Van Handel et Day (1988). D'autres méthodes sont également disponibles. Une autre méthode d'extraction des lipides totaux pourrait être utilisée, à savoir l'extraction de Soxhlet par dissolution à l'éther de pétrole (Atkins, 1969). De même, le réactif de Schiff permet également de quantifier le glycogène. Cependant, ces deux analyses ne permettent pas d'être associées pour quantifier sur un même échantillon les lipides totaux et les hydrates de carbone. Il est également possible de quantifier les triacylglycérols par séparation des acides gras sur colonne de silice puis par chromatographie sur couche mince. Cependant, cette méthode est beaucoup plus longue et moins sensible, nécessitant des concentrations en acides gras plus importantes. Aussi, la méthode de quantification proposée par Van Handel (1988) à base de Vanilline et d'anthrone semble être la plus adaptée par sa simplicité et sa rapidité. La quantification des adénylates permet d'observer les conséquences de certaines conditions d'exposition (présence de phéromones) ou d'une activité (le vol) sur l'état énergétique cellulaire de l'organisme. Cependant, cette analyse ne permet pas de connaître ce qui se passe pendant cette activité. La mesure du quotient respiratoire ( $V_{CO_2}/V_{O_2}$ ) estimée *in vivo* à l'aide d'un respiromètre associée à la mesure *in vitro* de l'activité d'enzymes telles que la citrate synthase, l'hexokinase la glycéro-3-phosphate permettrait de donner des informations cruciales sur la nature des substrats oxydés pour assurer les besoins en ATP au cours du vol.

Le mécanisme de vol et l'exposition à la phéromone tendent à influencer la mobilisation des réserves énergétiques. Les phéromones sont des molécules excitatrices stimulant l'insecte dans la recherche de partenaire, qui se fait par le vol. Pour évaluer l'attractivité des insectes vis à vis de molécules volatiles, il serait donc envisageable d'utiliser la mesure du vol d'un individu exposé à un bouquet odoriférant donné combinée à l'évaluation de l'impact de cette activité musculaire sur l'organisme par la mesure des réserves et du statut énergétique de celui-ci. Ces observations apporteraient des informations complémentaires à l'évaluation de l'attractivité d'une source odoriférante mesurée en tunnel de vol, avant d'en tester son efficacité en piégeage et sur l'inhibition des accouplements en conditions naturelles.

#### 4.5. Références

- Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P., 2004. Conversion énergétique: Mitochondries et Chloroplastes. Dans: Biologie moléculaire de la cellule. Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P., Editions Médecine-Sciences, Flammarion, Paris: 767-831
- Armes N.J. et Cooter R.J., 1991. Effects of age and mated status on flight potential of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Physiological Entomology*, **16**: 131-144
- Arn H., Rauscher S., Guerin P.M., Buser H.R., 1976. Sex pheromone of *Eupoecilia ambiguella*: cis-9-dodecenyloacetate as a major component. *Zeitschrift für Naturforschung*, **31**: 499-503
- Arn H. et Louis F., 1997. Mating disruption in European vineyards. Dans: Insect pheromone research. New directions. Cardé R.T. et Minsk A., Edition Chapman et Hall, London & New York: 377-383
- Ataullakhanov F.I. et Vititsky V.M., 2002. What determines the intracellular ATP concentration. *Bioscience Reports*, **22**: 501-511
- Atkins M.D., 1969. Lipid loss with flight in the Douglas-fir beetle. *Canadian Entomologist*, **101**: 164-165
- Atkinson D.E. et Walton G.M., 1967. Adenosine triphosphate conservation in metabolic regulation: Rat liver citrate cleavage enzyme. *Journal of Biological Chemistry*, **242**: 3239-3241
- Atkinson D.E., 1969. Regulation of enzyme functions. *Annual Review of Microbiology*, **23**: 47-68
- Badehnausser I., Lecharpentier P., Delbac L., Pracros P., 1999. Contributions of Monte-Carlo test procedures for the study of the spatial distribution of the European vine moth, *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) in European vineyards. *European Journal of Entomology*, **96**: 375-380
- Beenackers A. M. Th., 1969. Carbohydrate and fat as fuel for insect flight. A comparative study. *Journal of Insect Physiology*, **15**: 353-361
- Beenackers A. M. Th., Van Den Broek M., De Ronde T.J.A., 1975. Development of catabolic pathways in insect flight muscles. A comparative study. *Journal of Insect Physiology*, **21**: 849-859
- Beenackers A.M.T, Van der Horst D.J., Van Marrewijk W.J.A., 1984. Insect flight-muscle metabolism. *Insect Biochemistry*, **14**: 243-206
- Beis I. et Newsholme E.A., 1975. The contents of adenine nucleotides, phosphagens and some glycolytic intermediates in resting muscle from vertebrates and invertebrates. *Biochemistry*, **152**: 23-32.

- Blackmer J.L., Lindley V.A., Byrne D.N., 1995. Histological examination of flight muscle development and breakdown in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae): relationship to age and flight behaviour. *Journal of Morphology*, **226**: 213-221
- Blackmer J.L., Naranjo S.E., Williams L.H.III, 2004. Tethered and untethered flight by *Lygus hesperus* and *Lygus lineolaris* (Heteroptera: Miridae). *Environmental Entomology*, **33**: 1389-1400
- Blanckenhorn W.U., Fanti J., Reim C., 2007. Size-dependent energy reserves, energy utilization and longevity in the yellow dung fly. *Physiological Entomology*, **32**:372-381
- Boller E.F., 1993. Wie weit fliegt der Traubenwickler? Deutsches Weinbau Jahrbuch 44. Walderkircher Verlag, Waldkirch, Germany
- Botero-Garcés N. et Isaacs R., 2003. Distribution of grape berry moth, *Endopiza viteana* (Lepidoptera: Tortricidae), in natural and cultivated habitats. *Environmental Entomology*, **32**: 1187-1195
- Briegel H., Knüsel I., Timmermann S.E., 2001. *Aedes aegypti*: size, reserves, survival, and flight potential. *Journal of Vector Ecology*, **26**: 21-31
- Briegel H., 1990. Metabolic relationship between female body size, reserves, and fecundity of *Aedes aegypti*. *Journal of Insect Physiology*, **36**: 165-172
- Casas J., Driessen G., Mandon N., Wielaard S., Desouhant E., Van Alphan J., Lapchin L., Rivero A., Christides J.P., Bernstein C., 2003. Energy dynamics in a parasitoid foraging in the wild. *Journal of Animal Ecology*, **72**: 691-697
- Chance B. et Sacktor B., 1958. Respiratory metabolism of insect flight muscle. II. Kinetics of respiratory enzymes in flight muscle sarcosomes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **76**: 509-531
- Chapman A.G., Fall L., Atkinson D.E., 1971. Adenylate energy charge in *Escherichia coli* during growth and starvation. *Journal of Bacteriology*, **108**: 1072-1086
- Chapman R.F., 1975. The insects: Structure and Function. Chapman R.F., Editions The English Universities Press Ltd, London, 819 p.
- Cheng D., Sun Z., Tian J., Ni H., Li G., 1997. A computer-monitored flight mill system for tiny insects such as aphids. *Acta Entomologica Sinica*, **40**: 172-179
- Childress C.C. et Sacktor B., 1970. Regulation of Glycogen Metabolism in Insect Flight Muscle: Purification and properties of phosphorylase in vitro and in vivo. *Journal of Biological Chemistry*, **245**: 2927-2936
- Ching T.M., Crane J.M., Stamp D.L., 1974. Adenylate energy pool and energy charge in maturing rape seeds. *Plant Physiology*, **74**: 748-751
- Collatz K.G. et Wilps H., 1986. Aging of flight mechanism. Dans: Insect Aging. Collatz K.G. et Wilps H., Editions Springer, Berlin: 55-72

- Colinet H., Hance T., Vernon P., 2006. Water relations, fat reserves, survival, and longevity of a cold-exposed parasitic wasp *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Aphidiinae). *Environmental Entomology*, **35**: 228-236
- Colvin J. et Gatehouse A.G., 1993 The reproduction-flight syndrome and the inheritance of tethered-flight activity in the cotton-bollworm moth, *Heliothis armigera*. *Physiological Entomology*, **18**: 16-22
- Conley K.E. et Lindstedt S.L., 2002. Energy-saving mechanisms in muscle: the minimization strategy. *Journal of Experimental Biology*, **205**: 2175-2181
- Dingle H., 1985. Migration. Dans: Comprehensive Insect Physiology Biochemistry and Pharmacology. Kerkut G.A. et Gilbert L.I., Editions Pergamon Press, Oxford: 375-415
- Dorn S., Schumacher P., Abivardi C., Meyhofer R., 1999. Global and regional pest insects and their antagonists in orchards: spatial dynamics. *Agriculture Ecosystems & Environment*, **73**: 111-118
- El-Sayed A., Gödde J., Witzgall P., Arn H., 1999. Characterization of pheromone blend for grapevine moth, *Lobesia botrana* by using flight track recording. *Journal of Chemical Ecology*, **25**: 389-400
- Galet P., 1982. Les maladies et les parasites de la vigne. Tome II. Galet P., Editions Paysans du Midi, Montpellier, 1870 p.
- Geier P.W., 1963. The life history of Codling Moth, *Cydia pomonella* (L) (Lepidoptera: Tortricidae), in the Australian Capital Territory. *Australian Journal of Zoology*, **11**: 323-367
- Gu H. et Danthanarayana W., 1990 Age-related flight and reproductive performance of the light brown apple moth, *Epiphyas postvittana*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **54**: 109-115
- Gu H. et Danthanarayana W., 1992. Quantitative genetic analysis of dispersal in *Epiphyas postvittana*. I. Genetic variation in flight capacity. *Heredity*, **68**: 53-60
- Hughes J. et Dorn S., 2002. Sexual differences in the flight performance of the oriental fruit moth, *Cydia molesta*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **103**:171-182
- Ifoulis A., Savopoulou-Soultani A., Savopoulou-Soultani M., 2006. Use of geostatistical analysis to characterize the spatial distribution of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) larvae in northern Greece. *Environmental Entomology*, **35**: 497-506
- Jactel H., 1993. Individual variability of the flight potential of *Ips sexdentatus* Boern. (Coleoptera:Scolytidae) in relation to day of emergence, sex, size, and lipid content. *The Canadian Entomologist*, **125**: 919-930
- Jeanneret P., 1998. Les tordeuses (Lepidoptera, Tortricidae) des vergers: analyse uni- et multidimensionnelle de leur distribution, des échanges avec les écosystèmes adjacents et des processus de recolonisation (Bassin lémanique). Thèse de Doctorat, Université de Neuchâtel, 267 p.

- Kaufmann C. et Briegel H., 2004. Flight performance of the malaria vectors *Anopheles gambiae* and *Anopheles atroparvus*. *Journal of vector Ecology*, **29**: 140-153
- Kiel S., Gu H., Dorn S., 2001. Response of *Cydia pomonella* to selection on mobility: laboratory evaluation and field verification. *Ecological Entomology*, **26**: 306-314
- Koch U.T., 1990. A portable EAG system for measurement of pheromone in the field. *Abstract of papers of the American Chemical Society*, **200**: 31
- Kohane M.J. et Watt W.B., 1999. Flight-muscle adenylate pool responses to flight demands and thermal constraints in individual *Colias eurytheme* (Lepidoptera, Pieridae). *Journal of Experimental Biology*, **202**: 3145-3154
- Kushmerick M., 1983. Energetics of muscle contraction. Dans: Handbook of Physiology, Skeletal muscle. Peachey L.D., Adrian R.H., Geiger S., Editions Williams et Wilkinson, Baltimore: 189-236
- Lu Y., Wu K., Guo Y., 2007. Flight potential of *Lygus lucorum* (Meyer-Dür) (Heteroptera: Miridae). *Environmental Entomology*, **36**: 1007-1013
- Mani E. et Wildboz T., 1977. The dispersal of male codling moths (*Laspeyresia pomonella* L.) in the Upper Rhine Valley. *Zeitschrift für angewandte Entomologie*, **83**: 161-168
- Mathieu R., 1995. La respiration cellulaire. Dans: Biologie, Campbell. Campbell N. et Mathieu R., Editions du nouveau Pédagogique Inc., Saint laurent, Québec: 173-198
- Napolitano M.J. et Shain D.H., 2005. Quantitating adenylate nucleotides in diverse organisms. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, **63**: 69-77
- Naranjo S.E., 1990. Influence of Mass-Marking technique on survival and flight behaviour of *Diabrotica virgifera virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology*, **83**: 1360-1364
- O'Brien D.M., 1999. Fuel use in flight and its dependence on nectar Feeding in the hawkmoth *Amphion Floridensis*. *Journal of Experimental Biology*, **202**: 441-445
- Päts P. et Wikteliuss S., 1989. Tethered flight of *Chilo partellus* (Swinhoe) (Lepidoptera: Pyralidae). *Bulletin of Entomological Research*, **79**: 109-114
- Rauscher S., Arn H., Guerin P., 1984. Effect of dodecyl acetate and Z-10-tridecyl acetate on attraction of *Eupoecilia ambiguella* males to the main sex pheromone component, Z-9-dodecenyl acetate. *Journal of Chemical Ecology*, **10**: 253-264
- Roehrich R. et Boller E., 1991. Tortricids in vineyards. Dans: Tortricids pests – Their Biology, Natural Enemies and Control. Van der Geest L.P.S. et Evenhuis H.H, Editions Elsevier: 507-514
- Sacktor B. et Hurlbut C.E., 1966. Régulation of metabolism in working muscle *in vivo*. II. Concentrations of adenine nucleotides, arginine phosphate, and inorganic phosphate in insect flight muscle during flight. *Journal of Biological Chemistry*, **241**: 632-634

- Sacktor B. et Wormser-Shavitt E., 1966. Regulation of metabolism in working muscle *in vivo*. I. Concentrations of some glycolytic, tricarboxylic acid cycle, and amino acid intermediates in insect flight muscle during flight. *Journal of Biological Chemistry*, **241**: 624-631
- Sappington T.W. et Showers W.B., 1992. Reproductive maturity, mating status, and long-duration flight behavior of *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera: Noctuidae) and the conceptual misuse of the oogenesis-flight syndrome by entomologists. *Environmental Entomology*, **21**: 677-688
- Sappington T.W., Fescemyer H.W., Showers W.B., 1995. Lipid and carbohydrate utilization during flight of the migratory moth, *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera: Noctuidae). *Archive of Biochemistry and Physiology*, **29**: 397-414
- Sarvary M.A., Bloem K.A, Bloem S., Carpenter J.E., Hight S.D., Dorn S., 2008. Diel flight pattern and flight performance of *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae) measured on a flight mill: Influence of age, gender, mating status, and body size. *Journal of Economic Entomology*, **101**: 314-324
- Sauer A.E., Karg G., Koch U.T, De Kramer J.J., Milli R., 1992. A portable EAG system for the measurement of pheromone concentrations in the field. *Chemical Senses*, **17**: 543-553
- Sciarretta A., Zinni A., Mazzocchetti A., Trematerra P., 2008. Spatial analysis of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) male population in a Mediterranean agricultural landscape in central Italy. *Environmental Entomology*, **37**: 382-390
- Schmidt-Büser D., 2008. Host plant volatiles influence the behavioural responses of the European grape berry moth, *Eupoecilia ambiguella*, to its sex pheromone. Thèse de Doctorat, Université de Neuchâtel, 97 p.
- Schmitz V., 1992. Contribution à l'étude du mécanisme de la confusion sexuelle des mâles chez l'insecte. Application à la mise au point du procédé biotechnique de lutte contre l'eudémis de la vigne *Lobesia botrana* Den. et Schiff.. Thèse de Doctorat, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes, 138 p.
- Schumacher P., Weyeneth A., Weber D.C., Dorn S., 1997a. Long flights in *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) measured by a flight mill: Influence of sex, mated status and age. *Physiological Entomology*, **22**: 149-160
- Schumacher P., Weber D.C., Hagger C., Dorn S., 1997b. Heritability of flight distance for *Cydia pomonella*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **85**: 169-175
- Sohal R.S., 1976. Aging changes in insect flight muscle. *Gerontology*, **22**: 317-333
- Southwood T.R.E, 1962. Migration of terrestrial arthropods in relation to habitat. *Biological Review*, **37**: 171-214
- Stewart S.D. et Gaylor M.J., 1994. Effects of Age, Sex, and Reproductive Status on Flight by the Tarnished Plant Bug (Heteroptera: Miridae). *Environmental Entomology*, **23**: 80-84

- Stockel J., 2000. L'eudémis. Lépidoptères (du groupe des Tordeuses). Dans: Les ravageurs de la vigne. J. Stockel. Editions Ferret Bordeaux, 151-176
- Suarez R.K., Darveau C.A., Welch K.C., O'Brien D., Roubik D.W., Hochachaka W., 2005. Energy metabolism in orchid bee flight muscles: carbohydrate fuels all. *Journal of Experimental Biology*, **208**: 3573-3579
- Tasin M., Bäckman A.C., Bengtsson M., Varela N., Ioriatti C., Witzgall P., 2006. Wind tunnel attraction of grapevine moth females, *Lobesia botrana*, to natural and artificial grape odour. *Chemoecology*, **16**: 87-92
- Teo L.H., Fescemyer H.W., Woodring J.P., Hammand A., 1987. Carbohydrate and fatty acid titers during flight of the migrant noctuid moth *Anticarsia gemmatalis* Hubner. *Insect Biochemistry*, **17**: 777-781
- Torres-Vila L.M., Stockel J., Roehrich R., 1995. Le potentiel reproducteur et ses variables biotiques associées chez le mâle de l'Eudémis de la vigne *Lobesia botrana*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **77**: 105-119
- Timmermann S.E. et Briegel H., 1999. Larval growth and biosynthesis of reserves in mosquitoes. *Journal of Insect Physiology*, **45**: 461-470
- Van Handel E. et Day J.F., 1988. Assay of lipids, glycogen and sugars in individual mosquitoes: correlations with wing length in field-collected *Aedes vexans*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, **4**: 549-550
- Van der Pers J.N.C. et Minks A.K., 1993. Pheromone monitoring in the field using single sensillum recording. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **68**: 237-245
- Van Handel E. et Lum P.T.M., 1961. Sex as Regulator of Triglyceride Metabolism in the Mosquito. *Science*, **134**: 1979 - 1980
- Van Handel E. et Nayar J.K., 1972. Turn-over of diglycerides during flight and rest in the moth *Spodoptera frugiperda*. *Insect Biochemistry*, **2**: 6-12
- Van Handel E., 1984. Metabolism of nutrients in the adult mosquito. *Mosquito News*, **44**: 573-579
- Von Arx M., 2008; Perception of host plant volatiles contributes to an optimised strategy for reproduction in the European grapevine moth, *Lobesia botrana*. Thèse de Doctorat, Université de Neuchâtel, 148 p.
- Weber D.C, Ferro D.N, Stoffolano J.G. Jr., 1993. Quantifying flight of Colorado potato beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) with a microcomputer-based flight mill system. *Annals of the Entomological Society of America*, **86**: 366-371
- Weis-Fogh T., 1952. Fat Combustion and Metabolic Rate of Flying Locusts (*Schistocerca gregaria* Forskal). *Journal Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B, Biological Sciences*, **237**: 1934-1990

- White L.D., Hutt R.B., Butt B.A., 1973. Field dispersal of laboratory-reared fertile female codling moths and population suppression by release of sterile males. *Environmental Entomology*, **2**: 66-69
- Williams W.I. et Robertson I.A., 2008. Using automated flight mills to manipulate fat reserves in Douglas-fir beetles (Coleoptera: Curculionidae). *Environmental Entomology*, **37**: 850-856
- Witzgall P. et Arn H., 1990. Direct measurement of the flight behaviour of male moths to calling females and synthetic sex pheromone. *Zeitschrift für Naturforschung*, **45**: 1067-1069
- Wu H., Wu K., Wang D., Guo Y., 2006. Flight potential of pink bollworm, *Pectinophora gossypiella* Saunders (Lepidoptera: Gelechiidae). *Environmental Entomology*, **35**: 887-893
- Zebe E., 1954. Ueber den Stoffwechsel der Lepidopteren. *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, **36**: 290-317
- Zera A.J., Sall J., Otto, K., 1999. Biochemical aspects of flight and flightlessness in *Gryllus*: flight fuels, enzyme activities and electrophoretic profiles of flight muscles from flight-capable and flightless morphs. *Journal of Insect Physiology*, **45**: 275-285
- Ziegler R. et Schulz M., 1986a. Regulation of lipid metabolism during flight in *Manduca sexta*. *Journal of Insect Physiology*, **32**: 903-908
- Ziegler R. et Schulz M., 1986b. Regulation of carbohydrate metabolism during flight in *Manduca sexta*. *Journal of Insect Physiology*, **32**: 997-1001
- Zhang Y., Wang L., Wu K., Wyckhuys K.A.G., Heimpel G.E., 2008. Flight performance of soybean aphid, *Aphis glycines* (Hemiptera: Aphidae) under different temperature and humidity regimens. *Environmental Entomology*, **37**: 301-306



## 5. Discussion Générale

Ce travail a permis de mieux connaître les mécanismes métaboliques, physiologiques et comportementaux des insectes exposés aux phéromones sexuelles. L'ébauche d'un attracticide a mis en évidence le conflit entre l'attractivité et le contact d'une source phéromonale rémanente. L'élaboration d'une petite cage offre une méthode simple et rapide pour mesurer l'influence des composés sémiocchimiques sur l'accouplement des insectes. Finalement, les méthodes biochimiques développées ont permis de mesurer l'influence du vol sur le métabolisme énergétique et aideront à mesurer l'impact des phéromones sur l'état physiologique des organismes. Par la suite, les résultats obtenus dans ce travail seront discutés et intégrés dans des perspectives fondamentales et appliquées, pour l'étude et l'utilisation des sémiocchimiques.

L'identification et la synthèse des phéromones sexuelles des vers de la grappe a permis, dans les années 90, de développer la méthode de lutte par confusion sexuelle pour contrôler les populations de ces deux ravageurs. Plusieurs essais contre les tordeuses, réalisés en conditions naturelles, ont toutefois mis en évidence des limites dans l'installation et l'efficacité de cette méthode de lutte (Cardé et Minsk, 1995; Charmillot *et al.*, 2000). Aussi, pour surpasser ces limites, d'autres méthodes basées sur l'utilisation des phéromones sexuelles sont développées. C'est le cas de la méthode par attracticide. Développée pour de nombreux ravageurs, son efficacité dépend de l'exposition de l'insecte à l'insecticide mais également de l'attractivité de la source phéromonale synthétique et de sa compétitivité avec les femelles en appel. Dans le cadre de l'étude de l'attractivité de diverses concentrations en phéromone destinée à l'élaboration d'un attracticide présentée au **chapitre 2**, ce travail a mis en évidence la difficulté de trouver un compromis entre attractivité/contact et rémanence de la source en vignoble. Les sources surdosées, se montrant les plus attractives et compétitives avec les femelles en conditions naturelles, se trouvent répulsives lors de la phase d'approche et de contact en tunnel de vol, phénomène déjà observé par Baker et Roelofs (1981) pour *Grapholita molesta*. En réduisant la charge en phéromone, le contact est favorisé mais l'attractivité de la source ne sera plus persistante sur la saison et à terme elle ne sera plus compétitive avec les femelles. Or, une installation du procédé de lutte pour chaque génération

du ravageur au cours de la saison n'est pas acceptable tant sur le plan économique que sur le plan pratique. Bien qu'il soit important de prendre les conclusions de cette étude en considération lors de l'élaboration de futurs essais, il faut également les considérer avec précaution. En effet, la réalisation et l'analyse des résultats de ces essais comparatifs ont été confrontées à plusieurs problèmes. Tout d'abord, il n'est pas tout à fait correct de comparer les résultats obtenus en tunnel de vol avec ceux obtenus en piégeage dans le vignoble. Alors que le tunnel de vol permet une analyse rigoureuse quant au comportement attractif ou répulsif de l'insecte vis-à-vis d'un appât, cette méthode d'observation ne prend pas en considération l'influence que peuvent avoir les courants d'air et autres éléments naturels sur le nuage phéromonal (Farkas et Shorey, 1972; Kennedy et Marsh, 1974; Murlis, 1992). La méthode de piégeage en condition naturelle est beaucoup moins stricte. Elle informe sur l'attractivité de l'appât à 10 cm, mais aucune information n'est obtenue en ce qui concerne le contact avec la source (Rauscher *et al.*, 1984). Il se pourrait alors que les courants d'air atténuent l'effet répulsif des sources fortement chargées en phéromones, et favorisent le contact. De ce fait, une observation en conditions naturelles serait essentielle lors du développement de tels procédés. L'utilisation de caméras infrarouges postées face à l'appât installé en conditions naturelles permettrait d'enregistrer et dénombrer les contacts effectifs et le temps passé face à la source, tout en prenant en considération les éléments naturels influant. Ces informations représenteraient alors le comportement réel des mâles vis-à-vis de l'appât testé. Cependant, la difficulté est la réalisation de ce test en conditions standardisées. En effet, la mise en place de ces essais comparatifs de piégeage réalisés en vignoble a été confrontée aux densités faibles et non homogènes des ravageurs présents sur les différentes parcelles, rendant ainsi difficile la comparaison des résultats obtenus dans les différents sites d'études. L'utilisation d'une grande cage, d'une dimension de 4 mètres de côté et 2 mètres de hauteur par exemple, pallierait ce problème. De plus, les exigences d'installation des essais mis en place pour développer et évaluer de nouveaux procédés basés sur l'utilisation de phéromones sexuelles, telles que les superficies des essais ou l'homogénéité des densités de populations, sont de plus en plus sévères. Elles engendrent un coût non négligeable limitant l'obtention et par conséquent la fiabilité des résultats.

C'est dans cet objectif que s'inscrit l'étude réalisée dans le **chapitre 3**. Jusqu'à présent, seuls deux paramètres entraînent dans l'évaluation de l'efficacité de telles méthodes de lutte: le nombre de mâles capturés dans les pièges de surveillance et l'observation des dommages (Charmillot et Pasquier, 2001; Charmillot *et al.*, 2005; Thorpe *et al.*, 2007; Anfora *et al.*, 2008). La méthode d'évaluation de l'influence des phéromones sur le comportement

d'accouplement des vers de la grappe élaborée dans cette étude permet désormais de pallier les contraintes rencontrées telles que des densités de population homogènes et des surfaces importantes d'essais. La simplicité de cette méthode combinée à sa rapidité d'exécution permet la multiplication des répétitions au sein d'une même parcelle et sur l'ensemble de la saison, offrant ainsi des données fiables sur la réduction des accouplements. Faisant suite aux tests en laboratoires, les résultats obtenus à l'aide de ces cages fournissent des informations intermédiaires quant à l'intérêt d'installer des essais à grande échelle. Les surfaces et la durée des essais peuvent par conséquent être réduites, permettant de limiter les coûts financiers. Le dessin de cette petite cage n'est pas uniquement destiné à mesurer l'influence d'un appât phéromonal ou de la confusion sexuelle sur les accouplements. Elle pourrait également être utilisée pour mieux comprendre les mécanismes mis en jeu dans les différentes méthodes de lutte basées sur l'utilisation de phéromones sexuelles. En effet, si l'on prend l'exemple de l'attracticide, le rôle de l'insecticide est largement discuté. Bien que certaines études supposent que l'insecticide joue un rôle mineur dans l'efficacité de l'attracticide et que la poursuite de fausses traces phéromonales est le principal mécanisme permettant de maîtriser les populations de ravageurs (Evenden et Mc Laughlin, 2004), d'autres études affirment également que l'insecticide joue un rôle tout aussi essentiel dans l'efficacité de l'attracticide que la phéromone (Charmillot *et al.*, 2000). La mise en place d'un essai à l'aide de cette méthode permettrait de montrer la part de l'insecticide dans l'efficacité d'une telle méthode de lutte par la récupération des individus exposés qu'ils soient morts ou vivants permettant ainsi de déterminer leur sexe. La flexibilité de la taille de la cage permet de s'adapter à l'espèce étudiée mais également à la question posée. Elle peut ainsi être utilisée pour étudier et améliorer les connaissances des comportements des insectes vis à vis d'autres odeurs.

Il a pu être observé lors de l'étude réalisée dans le **chapitre 2**, que les appâts phéromonaux de type EcoTape contenant 2 mg de phéromones (soit une émission de 11  $\mu\text{g/j}$ ) et 4 mg (soit une émission de 36  $\mu\text{g/j}$ ), amènent peu d'individus au contact avec la source en tunnel de vol en comparaison aux sources plus faiblement chargées en phéromones, mais se montrent très attractifs en piégeage pour respectivement capturer *L. botrana* et *E. ambiguella* en vignoble. Cependant, les essais réalisés avec ces mêmes appâts installés dans les cages, au **chapitre 3**, montrent que ces émissions phéromonales ne semblent pas suffisamment élevées pour détourner l'attention des mâles des femelles et réduire significativement les accouplements. L'augmentation par trois du taux d'émission phéromonale pour *E. ambiguella* et par sept chez *L. botrana* permet une réduction significative des accouplements. Ainsi, plus le taux d'émission phéromonale est élevé, plus le niveau d'accouplement est réduit. Aussi, l'obtention

d'un bon appât ne réside pas uniquement dans le fait qu'il soit compétitif avec les femelles, mais qu'il en détourne l'attention du mâle du faiseau phéromonal de sa partenaire afin d'éviter l'accouplement. Mais le potentiel à réduire les accouplements d'un taux d'émission phéromonale donné est également dépendant de la densité de population présente. Ce potentiel sera réduit en présence d'une forte pression de population comme il a pu être montré lors de l'étude du nombre de couple à installer dans les cages. Aussi, dans la pratique, ces observations peuvent porter à conséquences. Actuellement, la tendance est à la diminution des coûts pour la protection des cultures. Une réduction du nombre de sources phéromonale ou une diminution des charges en phéromones contenues dans les appâts installés dans les vignobles entraîne une baisse de la quantité de phéromones présente dans la parcelle. Ceci peut alors engendrer des conséquences sur l'efficacité du traitement installé dans l'inhibition des accouplements en présence de hautes densités de ravageurs.

La méthode de lutte par confusion sexuelle a permis d'initier de nombreuses investigations pour comprendre les mécanismes comportementaux mis en jeu dans la perturbation du mâle lors de sa recherche de partenaires. Cependant, à ma connaissance, très peu d'études ont pour le moment mesuré l'impact de la phéromone synthétique sur le métabolisme et l'évolution de l'état physiologique de l'insecte. La présence de sources phéromonales synthétiques compétitives des femelles dans le vignoble va activer le mâle dans la poursuite de fausses traces phéromonales. Confondu par la présence de plusieurs nuages phéromonaux, celui-ci va passer beaucoup plus de temps en vol pour atteindre la source émettrice (Arn et Louis, 1995). L'investigation réalisée au **chapitre 4** présente une étude préliminaire quant à l'effet du vol et de l'exposition à la phéromone sur le métabolisme de *L. botrana*. Les résultats de cet essai montrent l'importante capacité de vol de *L. botrana*, mais également une grande variabilité entre les individus, phénomène déjà observé pour d'autres espèces (Päts et Wiktelius, 1989; Gu et Danthanarayana, 1990; Armes et Cooter, 1991; Sappington et Showers, 1992; Weber *et al.*, 1993; Jactel, 1993; Schumacher *et al.*, 1997; Kaufmann et Briegel, 2004; Sarvary *et al.*, 2008). Comme déjà observé chez *Cydia pomonella* (Schumacher *et al.*, 1997), le potentiel de vol s'accroît progressivement au cours des premiers jours de vie l'adulte, ce qui semble correspondre à la période de maturation sexuelle.

Le vol prolongé et répété a des conséquences sur la physiologie de l'insecte. Il implique un métabolisme global élevé qui nécessite une mobilisation importante des réserves énergétiques et notamment des lipides. On peut supposer que l'augmentation du temps de vol, stimulé par la présence de phéromones synthétiques, entraîne une consommation rapide des réserves énergétiques au détriment des besoins de base. *Eupoecilia ambiguella* et *L. botrana* se

nourrissant peu, les réserves énergétiques ne sont donc pas suffisamment renouvelées. L'état physiologique de l'insecte se dégrade rapidement conduisant ainsi le mâle à mourir d'épuisement. L'espérance de vie se trouve par conséquent réduite. La probabilité de rencontre avec une partenaire et par conséquent d'accouplement se trouve alors diminuée. Mais les résultats obtenus quant à l'influence de la phéromone sur la physiologie de *L. botrana* ne confirment pas cette hypothèse. Seule une tendance à été mise en évidence quant à la diminution des lipides totaux en présence de phéromone chez *L. botrana*. Des essais complémentaires seraient à mettre en place. Néanmoins, il serait important de jouer sur ce paramètre lors du développement de nouveaux appâts phéromonaux. En conséquence, l'effet des phéromones sur le comportement de vol et par conséquent sur la physiologie des vers de la grappe peut constituer un indice de l'efficacité d'un appât. Un grand nombre de travaux ont étudié le potentiel de vol ou l'influence du vol sur le métabolisme de nombreux insectes. Cependant, aucune étude n'a encore mis en relation ces deux paramètres pour mesurer l'attractivité d'un appât. Il est à noter que pour le moment, l'évaluation du potentiel de vol est réalisée en laboratoire en conditions contrôlées. L'installation, dans un vignoble, d'un carrousel de vol en conditions naturelles permettrait d'enregistrer l'effet réel de la stimulation phéromonale sur l'insecte. La méthode combinant le potentiel de vol et l'évaluation du métabolisme de ces ravageurs permet désormais de donner des informations complémentaires sur l'attractivité de nouveaux mélanges à incorporer dans les appâts. En résumé, il a pu être observé que le tunnel de vol est un excellent indicateur quant au contact du mâle avec l'appât (**chapitre 2**). L'évaluation du potentiel de vol lié aux mesures métaboliques informe sur le niveau d'occupation du mâle face au bouquet odoriférant (**chapitre 4**). Le piégeage indique le potentiel d'une source phéromonale à appâter les mâles (**chapitre 2**). De plus, la cage permet d'obtenir des informations quant à l'inhibition des accouplements en prenant en compte les densités de populations présentes (**chapitre 3**). Les résultats obtenus à partir de l'ensemble de ces méthodologies fournissent une bonne connaissance du comportement de l'insecte face à divers taux d'émission phéromonale.

L'observation du comportement de vol, montre que les mâles de l'espèce de *L. botrana* présentent une occupation plus longue face à la source lorsqu'ils sont exposés à une source surdosée en phéromone sexuelle. Cependant, comme vu précédemment, celle-ci ne favorise pas le contact. Or, les molécules volatiles émises par les plantes hôtes se sont montrées attractives pour les mâles et les femelles de vers de la grappe, suggérant qu'elles jouent un rôle essentiel dans leur comportement tel que la localisation des sources de nourriture et des sites de reproduction. (Maher, 2002; Masante-Roca *et al.*, 2002; Tasin *et al.*, 2005; Tasin *et*

*al.*, 2006; Tasin *et al.*, 2007; Schmidt-Büser, 2008; Von Arx, 2008). La combinaison des volatiles issus de plantes hôtes aux phéromones sexuelles pallierait les problèmes rencontrés avec le surdosage tout en assurant une rémanence du produit attracticide sur l'ensemble de la saison (Schmidt-Büser, 2008; Von Arx, 2008). Si l'association de la phéromone aux odeurs de plantes accentue l'attractivité du mélange, il intensifiera également le temps de recherche de la source mais également le temps passé devant celle-ci, impliquant des conséquences irréversibles sur la physiologie du mâle. Ces informations nous laissent imaginer la possibilité de développer des appâts destinés à confondre les mâles dans leur recherche de partenaire, mais également les femelles dans leur recherche de sites de ponte. Le temps de vol nécessaire pour trouver un site de ponte adéquate serait alors prolongé, favorisant une augmentation de la dépense énergétique, perdue au détriment de la production et la maturation des œufs, mais également de son espérance de vie (Chapman, 1975; Elkin et Reid, 2005). Les femelles de vers de la grappe n'étant pas affectées par les phéromones (El-Sayed et Suckling, 2005), la réalisation d'un seul type d'appâts serait suffisante. Par l'attrait et le contact engendrés par ces appâts, cette méthode de lutte permettrait d'éliminer les deux sexes en justifiant alors la présence actuellement discutée de l'insecticide dans la formulation (Charmillot *et al.*, 1996; Suckling et Brockerhoff, 1999; Charmillot *et al.*, 2000; Evenden et Mc Laughlin, 2004).

Les mécanismes mis en jeu dans cette méthode de lutte s'appuieraient sur trois phénomènes distincts: la perturbation des accouplements et de la recherche de plante hôte, les conséquences engendrées par le vol prolongé sur la physiologie de l'individu, ainsi que la survie réduite de l'insecte. L'impact des appâts odoriférants sur ces trois phénomènes est désormais mesurable. Le phénomène de perturbation des accouplements crée par le mélange odorant peut être mesuré par la méthode des cages. Les connaissances établies quant au potentiel de vol et l'impact de celui-ci sur la physiologie de *L. botrana* sans exposition aux phéromones, peuvent être comparées à celles obtenues suite à une exposition éventuelle au mélange testé. Combinée à un test de durée de vie, les informations obtenues par ces deux types de méthodes seraient alors pertinentes lors de la phase de développement de nouveaux appâts. L'étude de ces trois phénomènes permettrait d'évaluer la part de chacun dans l'efficacité de nouvelles méthodes de lutte basées sur l'utilisation de composés sémiouchimiques. Les résultats obtenus dans ce travail permettront d'étudier les mécanismes comportementaux des insectes mis en jeu, informations importantes tant au niveau fondamental que pratique, qui intéresseraient le domaine de la recherche mais également les industriels.

## 5.1. Références

- Anfora G., Baldessari M., De Cristofaro A., Germinara G.S., Ioriatti C., Reggiori F., Vitagliano S., Angeli G., 2008. Control of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) by biodegradable Ecodian sex pheromone dispensers. *Journal of Economic Entomology*, **101**: 444-450
- Armes N.J. et Cooter R.J., 1991. Effects of age and mated status on flight potential of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Physiological Entomology*, **16**: 131-144
- Arn H. et Louis F., 1995. Mating disruption in European vineyards. Dans: Insect pheromone research. New directions. Cardé R.T. et Minsk A., Edition Chapman et Hall, London & New York: 377-383
- Baker T.C. et Roelofs W.L., 1981. Initiation and termination of oriental fruit moth male response to pheromone charges in the field. *Environmental Entomology*, **10**: 211-217
- Cardé R.T. et Minsk A.K., 1995. Control of moth pests by mating disruption: Successes and Constraints. *Annual Review of Entomology*, **40**: 559-585
- Chapman R.F., 1975. The insects: Structure and Function. Chapman R.F., Editions: The English Universities Press Ltd, London, 819 p.
- Charmillot P.J., Pasquier D., Scalco A., Hofer D., 1996. Essais de lutte contre le carpocapse *Cydia pomonella* L. par un procédé attracticide. *Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft*, **69**: 431-439
- Charmillot P.J., Hofer D., Pasquier D., 2000. Attract and Kill: a new method for control of the codling moth *Cydia pomonella*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **94**: 211-216
- Charmillot P.J. et Pasquier D., 2001. Technique de confusion, lutte classique et dynamique des populations des vers de la grappe. *Bulletin IOBC/wprs*, **24**: 87-90
- Charmillot P.J., Degen T., Pasquier D., Briand F., 2005. Nouveaux procédés à base de phéromones pour lutter contre les vers de la grappe: Essais préliminaires en 2004. *Revue suisse de Viticulture, Arboriculture, Horticulture*, **37**: 283-288
- Elkin C.M. et Reid M.L., 2005. Low energy and energy allocation decisions affect reproduction by Mountain Pine Beetles, *Dendroctonus ponderosae*. *Functional Ecology*, **19**: 102-109
- El-Sayed A.M. et Suckling D.M., 2005. Behavioural observations of mating disruption in three lepidopteran pests. *Behaviour*, **142**: 717-729
- Evenden M.L. et Mc Laughlin J.R., 2004. Factors influencing the effectiveness of an attracticide formulation against the Oriental fruit moth, *Grapholita molesta*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **112**: 89-97

- Farkas S.R. et Shorey H.H., 1972. Chemical trail-following by flying insects: A mechanism for orientation to a distant odor source. *Science*, **178**: 67-68
- Gu H. et Danthanarayana W., 1990. Age-related flight and reproductive performance of the light brown apple moth, *Epiphyas postvittana*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **54**: 109-115
- Jactel H., 1993. Individual variability of the flight potential of *Ips sexdentatus* Boern. (Coleoptera:Scolytidae) in relation to day of emergence, sex, size, and lipid content. *The Canadian Entomologist*, **125**: 919-930
- Kaufmann C. et Briegel H., 2004. Flight performance of the malaria vectors *Anopheles gambiae* and *Anopheles atroparvus*. *Journal of vector Ecology*, **29**: 140-153
- Kennedy J.S. et Marsh D., 1974. Pheromone-regulated anemotaxis in flying moths. *Science*, **184**: 999-1001
- Maher N., 2002. Sélection du site de ponte chez *Lobesia botrana* (Lepidoptera, Tortricidae): influence de l'information chimique non-volatile présente sur les fruits de plantes hôtes. Thèse de Doctorat, Université Bordeaux 2, 124 p.
- Masante-Roca I., Gadenne C., Anton S., 2002. Plant odour processing in the antennal lobe of male and female grapevine moths, *Lobesia botrana* (Lepidoptera, Tortricidae). *Journal of Insect Physiology*, **48**: 1111-1121
- Murlis J., 1992. Odor plumes and how insect use them. *Annual Review of Entomology*, **37**: 505-532
- Päts P. et Wikteliuss S., 1989. Tethered flight of *Chilo partellus* (Swinhoe) (Lepidoptera: Pyralidae). *Bulletin of Entomological Research*, **79**: 109-114
- Rauscher S., Arn H., Guerin P., 1984. Effect of dodecyl acetate and Z-10-tridecyl acetate on attraction of *Eupoecilia ambiguella* males to the main sex pheromone component, Z-9-dodecenyl acetate. *Journal of Chemical Ecology*, **10**: 253-264
- Sappington T.W. et Showers W.B., 1992. Reproductive maturity, mating status, and long-duration flight behavior of *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera: Noctuidae) and the conceptual misuse of the oogenesis-flight syndrome by entomologists. *Environmental Entomology*, **21**: 677-688
- Sarvary M.A., Bloem K.A, Bloem S., Carpenter J.E., Hight S.D., DornS., 2008. Diel flight pattern and flight performance of *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae) measured on a flight mill: Influence of age, gender, mating status, and body size. *Journal of Economic Entomology*, **101**: 314-324
- Schmidt-Büser D., 2008. Host plant volatiles influence the behavioural responses of the European grape berry moth, *Eupoecilia ambiguella*, to its sex pheromone. Thèse de Doctorat, Université de Neuchâtel, 97 p.

- Schumacher P., Weyeneth A., Weber D.C., Dorn S., 1997. Long flights in *Cydia pomonella* L (Lepidoptera: Tortricidae) measured by a flight mill: Influence of sex, mated status and age. *Physiological Entomology*, **22**: 149-160
- Suckling D.M. et Brockerhoff E.G., 1999. Control of light brown apple moth (Lepidoptera: Tortricidae) using an attracticide. *Journal of Economic Entomology*, **92**: 367-372
- Tasin M., Anfora G., Ioriatti C., Carlin S., De Cristofaro A., Schmidt S., Bengtsson M., Versini G., Witzgall P., 2005. Antennal and behavioral responses of grapevine moth *Lobesia botrana* females to volatiles from grapevine. *Journal of Chemical Ecology*, **31**: 77-87
- Tasin M., Bäckman A.C., Bengtsson M., Varela N., Ioriatti C., Witzgall P., 2006. Wind tunnel attraction of grapevine moth females, *Lobesia botrana*, to natural and artificial grape odour. *Chemoecology*, **16**: 87-92
- Tasin M., Bäckman A.C., Coracini M., Casado D., Ioriatti C., Witzgall P., 2007. Synergism and redundancy in a plant volatile blend attracting grapevine moth females. *Phytochemistry*, **68**: 203-209
- Thorpe K.W., Hickman A.D., Tcheslavskaja K.S., Leonard D.S., Roberts E.A., 2007. Comparison of methods for deploying female gypsy moths to evaluate mating disruption treatments. *Agricultural and Forest Entomology*, **9**: 31-37
- Von Arx M., 2008; Perception of host plant volatiles contributes to an optimised strategy for reproduction in the European grapevine moth, *Lobesia botrana*. Thèse de Doctorat, Université de Neuchâtel, 148 p.
- Weber D.C, Ferro D.N, Stoffolano J.G. Jr., 1993. Quantifying flight of Colorado potato beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) with a microcomputer-based flight mill system. *Annals of the Entomological Society of America*, **86**: 366-371



# Liste des documents

## Liste des figures

### Chapitre 1

Figure 1.1: Carte de distribution mondiale de la vigne (Selon données OIV 2008).

Figure 1.2: Stade de développement des vers de la grappe (Source ACW): *a*) œufs sur feuille de vigne; *b-d-f*) *E. ambiguella*; *c-e-g*) *L. botrana*; *b-c*) Chrysalide; *d-e*) Larve; *f-g*) Imago.

Figure 1.3: Système reproducteur femelle de *E. ambiguella* (*a-c*) et *L. botrana* (*d-f*). *a-d*) extrémité de l'abdomen contenant la bourse copulatrice; *b-e*) bourse copulatrice contenant un spermatophore; *c-f*) spermatophore.

Figure 1.4: Figure 1.4: Cycle biologique des vers de la grappe basé sur 2 générations par année (Photos Source INRA).

Figure 1.5: Tissage formé par la larve d'*E. ambiguella* pour former un glomérule (Source ACW).

Figure 1.6: Structure antennaire de *Lobesia botrana*: *a*) Observation au microscope électronique à balayage (MEB) de sept anneaux d'une antenne de *L. botrana* couverte d'écailles et de sensilles (Matériel et méthode Annexe I). *b*) Observation au MEB de deux anneaux d'une antenne de *L. botrana* couverte d'écailles et de sensilles. *c*) Observation au MEB d'une sensille trichodéique de *L. botrana*. *d*) Schéma d'une sensille trichodéique contenant deux récepteurs (selon Gullan et Cranston, 1994).

Figure 1.7: Structures chimiques des principales phéromones sexuelles de: *a*) *L. botrana*; *b*) *E. ambiguella* (Source Pherolist)

Figure 1.8: Schéma synthétique de la respiration cellulaire (selon Chapman, 1975).

Figure 1.9: Dégâts causés par les vers de la grappe: *a*) nuisibilité directe causé par la pénétration larvaire; *b*) nuisibilité indirecte causé par l'installation de pourriture grise (Source ACW).

### Chapitre 2

Figure 2.1: *a*) Appât EcoTape de fabrication artisanale ; *b*) Appât EcoTape de fabrication industrielle.

Figure 2.2: Cage munie d'un abreuvoir utilisée pour contenir la femelle.

Figure 2.3 : Séquences comportementales du mâle enregistrées pendant l'exposition à la source phéromonale.

Figure 2.4: Influence de la concentration du bouquet phéromonal sur le piégeage de *E. ambiguella* sur les sites de *a*) Nyon, *b*) Riex et *c*) Alsace; les nombres de captures totales possédant des lettres différentes sont significativement différents ( $P < 0.05$ ).

Figure 2.5: Distribution des captures totales d'*E. ambiguella* appâtées en vignoble par différentes concentrations du bouquet phéromonal Z9-12:Ac, 12:Ac, 18:Ac (1:1:2)

Figure 2.6: Réponse comportementale des mâles de l'espèce *E. ambiguella* exposés, en tunnel de vol, à différentes concentrations du bouquet phéromonal Z9-12:Ac, 12:Ac, 18:Ac aux proportions 1:1:2. Elle est exprimée en pourcentage d'individus ayant eu un mouvement dans le tube.

Figure 2.7: Durées moyennes entre la phase d'envol de *E. ambiguella* et le contact avec la source phéromonale exprimées en fonction des charges du bouquet phéromonal Z9-12:Ac, 12:Ac, 18:Ac aux proportions 1:1:2, contenues dans un appât EcoTape exposé en tunnel de vol. Ces données sont exprimées en seconde. La barre d'erreur correspond à l'écart type.

Figure 2.8: Influence de la concentration phéromonale de E7,Z9-12:Ac sur le piégeage de *L. botrana* sur les sites de a) Nyon, b) Riex et c) Alsace. Les nombres de captures totales possédant des lettres différentes sont significativement différents ( $P < 0.05$ ). Dans le cas de Riex, l'analyse statistique est réalisée sans la Pheronet \*.

Figure 2.9: Distribution des captures totales de *L. botrana* appâtées, en vignoble, par différentes concentrations du bouquet phéromonal E7,Z9-12:Ac, E7,Z9-12:OH et de Z9-12:Ac (10:2:0.5).

Figure 2.10: Réponse comportementale des mâles de l'espèce *L. botrana* exposés, en tunnel de vol, à différentes concentrations de phéromone (E7, Z9-12:Ac) Elle est exprimée en pourcentage d'individus ayant eu un mouvement dans le tube.

Figure 2.11: Durées moyennes entre la phase d'envol de *L. botrana* et le contact avec la source phéromonale exprimées en fonction des charges phéromonales de E7, Z9-12:Ac contenues dans un appât EcoTape. Ces données sont exprimées en seconde plus ou moins un écart type.

### **Chapitre 3**

Figure 3.1: a) Cage d'une surface de 2 m x 2 m x 2 m, entourée d'un tulle en polyester blanc de type moustiquaire de maille 1.5 mm, installée au centre d'un vignoble et entourant deux ceps de vigne ; b) nacelle supportant la femelle attachées

Figure 3.2: Cage de petit volume, de 35 cm de côté, entourée d'un tissu de polyester blanc de type moustiquaire d'une maille de 1,5 mm.

Figure 3.3: Accouplements moyens obtenus en présence de diffuseur dans les cages entourées d'un manchon de gaze pour a) *E. ambiguella* et b) *L. botrana*. Les taux d'accouplement moyens assignés d'une lettre différente sont significativement différents ( $P < 0.05$ ). Les barres d'erreur correspondent à l'erreur standard.

Figure 3.4: Accouplements moyens obtenus dans les cages entourées d'un manchon de gaze en absence de diffuseur au centre pour a) *E. ambiguella* et b) *L. botrana*. Les taux d'accouplement moyens assignés d'une lettre différente sont significativement différents ( $P < 0.05$ ). Les barres d'erreur correspondent à l'erreur standard.

Figure 3.5: Accouplements moyens obtenus, en 2007, dans les cages entourées d'un tissu de type moustiquaire pour a) *E. ambiguella* et b) *L. botrana*. Les taux d'accouplement moyens assignés d'une lettre différente sont significativement différents ( $P < 0.05$ ). Les barres d'erreur correspondent à l'erreur standard.

Figure 3.6: Effet de la durée d'exposition sur l'accouplement d'*E. ambiguella* selon différents traitements. Les taux d'accouplement moyens assignés d'une lettre différente sont significativement différents ( $P < 0.05$ ). Les barres d'erreur correspondent à l'erreur.

Figure 3.7: Effet de la densité sur les accouplements moyens selon différents traitements.

#### Chapitre 4

Figure 4.1: Evolution des réserves en lipides totaux au cours de la vie de l'adulte de *L. botrana* élevé en présence d'eau ou d'eau sucrée pendant 10 jours. Le jour 0 correspond au jour de l'émergence. Les concentrations moyennes en lipides pour chaque âge des individus ayant eu à disposition de l'eau assignées d'une lettre différente sont significativement différentes ( $P < 0.05$ ). La barre d'erreur correspond à l'erreur standard.

Figure 4.2: Evolution des concentrations en glucides au cours de la vie de l'adulte de *L. botrana* élevé en présence d'eau ou d'eau sucrée pendant 10 jours. Le jour 0 correspond au jour de l'émergence. Les concentrations moyennes en glucides pour chaque âge des individus ayant eu à disposition de l'eau assignées d'une lettre différente sont significativement différentes ( $P < 0.05$ ). La barre d'erreur correspond à l'erreur standard.

Figure 4.3: Evolution des concentrations en glycogène au cours de la vie de l'adulte de *L. botrana* élevé en présence d'eau ou d'eau sucrée pendant 10 jours. Le jour 0 correspond au jour de l'émergence. Les concentrations moyennes en lipides pour chaque âge assignées d'une lettre différente sont significativement différentes ( $P < 0.05$ ). La barre d'erreur correspond à l'erreur standard.

Figure 4.4: Concentration en adénylates (a) et charge énergétique (b) des différents stades de développement de *L. botrana*: Néonate (L1), Larves L3 à L5 (L.); Pupes (P.); Adultes 2 jours (A. 2j); Adultes 2 jours pendant période d'activité (A. 2j act.); Adultes 15 jours (A. 15j); Morts (M.). Les charges énergétiques obtenus pour chaque stade de développement assignées d'une lettre différente sont significativement différentes ( $P < 0.05$ ). La barre d'erreur correspond à l'erreur standard.

Figure 4.5: Distribution des distances de vol, enregistrées sur 24 h, parcourues sur le carrousel de vol par les individus mâles de *L. botrana*.

Figure 4.6: Durée du premier vol enregistré au cours des cinq premiers jours de vie de *L. botrana*. Chacun de ces individus est exposé face à cinq capsules contenant 500 µg du bouquet phéromonal E7,Z9-12:Ac, E7,Z9-12:OH et Z9-12:Ac (10:2:0.5) suspendues à l'extrémité du tunnel de vol. Les durées moyennes de vol assignées d'une lettre différente sont significativement différentes ( $P < 0.05$ ). La barre d'erreur correspond à l'erreur standard.

Figure 4.7: Evolution de la concentration en lipides totaux au cours de la première semaine de vol de *L. botrana*. Le jour 0 correspond au jour de l'émergence. Pour stimuler le vol, cinq capsules contenant 500 µg du bouquet phéromonal E7,Z9-12:Ac, E7,Z9-12:OH et Z9-12:Ac (10:2:0.5) sont suspendues à l'extrémité du tunnel de vol. Les concentrations en lipides totaux obtenus pour les individus n'ayant pas volé assignées d'une lettre différentes sont significativement différentes ( $P < 0.05$ ). La barre d'erreur correspond à l'erreur standard.

Figure 4.8: Evolution de la charge énergétique au cours de la première semaine de vol de *L. botrana* réalisé en tunnel de vol. Pour stimuler le vol, cinq capsules contenant 500 µg du bouquet phéromonal E7,Z9-12:Ac, E7,Z9-12:OH et Z9-12:Ac (10:2:0.5) sont suspendues à l'extrémité du tunnel de vol. Le jour 0 correspond au jour de l'émergence. La barre d'erreur correspond à l'erreur standard.

Figure 4.9: Concentration en lipides totaux (a) et charge énergétique (b) de *L. botrana* exposés ou non aux phéromones en vignoble. La barre d'erreur correspond à l'erreur standard.

Figure 4.10: Evolution de la concentration en lipides totaux (a) et de la charge énergétique (b) de *L. botrana* soumis à différents traitements (eau/sans eau; phéromones/sans phéromones) en serre. La barre d'erreur correspond à l'erreur standard.

Figure 4.11: Comparaison de la concentration en lipides totaux (a) et de la charge énergétique (b) de *L. botrana* issue de différentes populations, à savoir: Population d'élevage ACW élevée sur milieu artificiel (Artificiel); Population d'élevage ACW élevée sur raisin (Raisin); Population naturelle (Vignoble). Les concentrations en lipides totaux et la charge énergétique assignées d'une lettre différente sont significativement différentes ( $P < 0.05$ ). La barre d'erreur correspond à l'erreur standard.

## Liste des tableaux

### Chapitre 1

Table 1.1: Caractères principaux des vers de la grappe *E. ambiguella* et *L. botrana* (selon Bovey, 1966; Baggiolini, 1979; Stockel, 2000).

### Chapitre 2

Table 2.1: Description des essais réalisés en vignoble durant l'étude.

### Chapitre 3

Table 3.1: Caractérisation des méthodes utilisées pour contrôler les populations de vers de la grappe dans les vignobles étudiés.

Table 3.2: Pourcentage moyen d'accouplement obtenu chez les femelles attachées en présence de différents traitements phéromonaux.

Table 3.3: Résultats de l'Ancova sur l'influence de la densité et des traitements sur l'accouplement des femelles: a) traitements phéromonaux + contrôle; b) traitements phéromonaux.

## **Listes des annexes**

Annexe I: Microscopie électronique à balayage (MEB)

Annexe II: Composition du milieu artificiel

Annexe III: Principe de l'EcoTape

Annexe IV: Evaluation de la perméabilité à l'air de la gaze

Annexe V: Métabolisme basal

Annexe VI: Influence du vol sur le métabolisme

Annexe VII: Poids moyens des individus ayant volés ou non volés

Annexe VIII: Influence de la phéromone sur le métabolisme

Annexe IX: Comparaison des populations



## **Annexe I: Microscopie électronique à balayage (MEB)**

### **Matériel et méthode pour l'observation en Microscopie électronique à balayage (MEB) des antennes de *L. botrana***

Les antennes de *L. botrana* sont fixés par des vapeurs de tétr oxyde d'osmium (solution aqueuse de 2% d'OsO<sub>4</sub> (w/v) et de 3% de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> (w/v)) durant 4 h dans une enceinte close saturée en humidité, puis déshydratés par des bains d'acétone (20 min à 4°C) de concentration croissante (10, 30, 50, 70, 90, 100, 100% (v/v)), séchés avec du CO<sub>2</sub> selon la technique du point critique (Critical Point Dryer, Baltech) puis métallisés à l'or (couche: 150 Å, gaz: argon, pression de travail: 6.10<sup>-2</sup> mbar, temps d'évaporation: 150 sec, distance de travail: 50 mm, sur MED 010 de Bal-Tec). Les échantillons ont été observés sur un microscope à balayage Jeol JSM-6300F à 5 KV et une distance de travail de 15 mm.



## Annexe II: Composition du milieu artificiel

Table A.1 : Composition du milieu artificiel pour l'élevage de *E. ambiguella* et *L. botrana* légèrement modifié selon Rauscher et *al.*, 1984\*.

Ingrédients	Quantités (pour 4 kg de milieu)
Eau	3'400 ml
Agar pulvérisé	100 g
Sucre	120 g
Germes de blé	360 g
Poudre de luzerne	100 g
caséine	160 g
Levure de bière	72 g
Sel de Wessen	50 g
Huile de tournesol pressée à froid	10 g
Cholestérine	5 g
Acide sorbique	8 g
Acide ascorbique	40 g
Vitamines Wanderzahnt	30 g
Tétramycine (95%)	5 g
Acide propionique	10 g
Acide linoléinique	4 g

\*Rauscher S., Arn H., Guerin P., 1984. Effect of dodecyl acetate and Z-10-tridecyl acetate on attraction of *Eupoecilia ambiguella* males to the main sex pheromone component, Z-9-dodecenyl acetate. *Journal of Chemical Ecology*, **10**: 253-264



# Annexe III: Principe de l'EcoTape

AgriSense

## *EcoTape*™

### Technical Data Sheet and Protocol for Testing the Experimental False Trail Following Formulation for the Control of Codling Moth (*Laspeyresia pomonella*).

Prepared by Enzo Casagrande  
AgriSense Technical Dept.

#### OVERVIEW:

This patented technology consists of a hand applied Codling Moth (*Laspeyresia pomonella*) control system. The False Trail Following (FTF) strategy relies on multiple false pheromone trails distracting the males from finding the females for long enough to prevent mating thus reducing the number of viable eggs laid by the females and preventing fruit damage.

This approach minimise the need for spray applications and controls the pest without insecticide contamination of the fruit and damage to the environment.

#### DESCRIPTION OF ECOTAPE SYSTEM

This is an integrated device comprising a continuous tape device with 3cm length point sources at 0.6 metre intervals along its length. The non active lengths of the tape have are coated with a weak adhesive which helps attach it to the fruit tree at application. This is designed to be attached by unreeling the tape down the length of a row of fruit trees using the tape adhesive to attach it to the tree branches.

#### Composition:

##### ACTIVE INGREDIENTS:

##### Attractants:

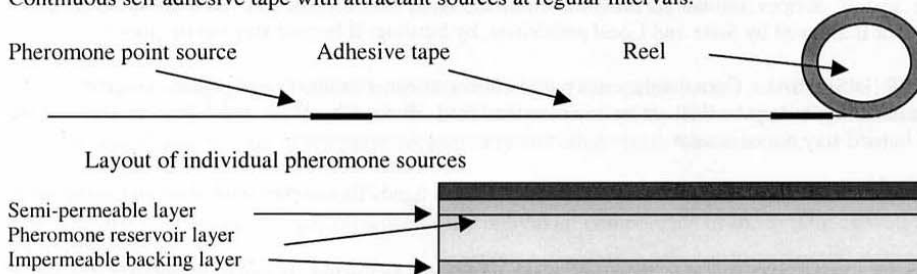
2.0mg of Codlemone (pheromone) per point source 0.50%

##### INERT INGREDIENTS:

398.0mg Inerts per point source 99.5%

#### Product presentation:

Continuous self adhesive tape with attractant sources at regular intervals.



#### APPLICATION RATE

For Codling moth it is recommended that a minimum of 4000 point sources per hectare are required to achieve good control. To achieve this a minimum of 2500 metres of tape must be applied. Based on an average row spacing of 4 metres treating, applying one line of tape per row will total 2500 metres per hectare. If the rows are 5 metre spaced this will total this will equal only 2000 metres. In this situation some rows will require a second line of tape. Apply second lines of tape to border rows and then evenly through out the orchard using up required length.

Ref.: Ecotape FTF ptl 04.doc page 1

Source: Casagrande E., AgriSense Technical Department



## Annexe IV: Evaluation de la perméabilité à l'air de la gaze

### Matériel et méthode :

Afin de connaître la perméabilité à l'air de la gaze utilisée pour confiner les insectes, huit mesures de la vitesse de l'air pénétrant dans la cage situé à une distance de 10, 50 et 100 cm de la soufflerie ont été réalisées à l'aide d'un anémomètre.

### Résultats :

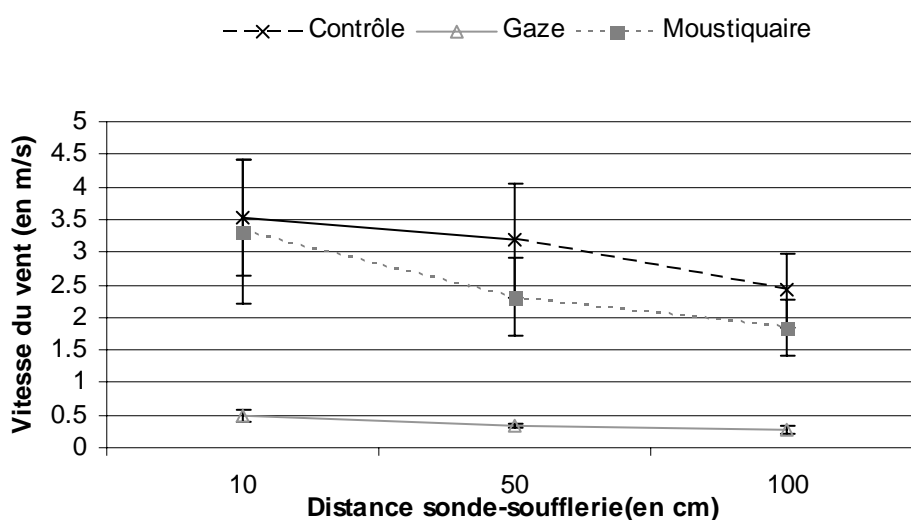


Figure A.1 : Mesure de la vitesse de l'air à distance d'une soufflerie à l'extérieur et l'intérieure de la cage entourée d'un manchon de gaze. La barre d'erreur correspond à l'erreur standard.

La mesure anémométrique montre une réduction de la pénétration de l'air à l'intérieur de la cage de 86% à 10 cm, puis 89% lorsque la soufflerie est située à 50 cm et 1 m de distance. La gaze employée présente donc un problème de perméabilité entraînant une non pénétration de l'air transportant la phéromone dans la cage.

Lors de l'utilisation de la moustiquaire pour contenir les insectes dans la cage, la réduction de la vitesse de l'air pénétrant dans la cage est de 6.5% à 10 cm, puis 27 et 24% à 50 cm et 1m. L'utilisation de ce type de tissu favorise la pénétration de l'air au sein de cage.



## Annexe V: Métabolisme basal

### *a) Réserves de lipides totaux et hydrates de carbone*

Table A.2 : Données brutes obtenues lors des quantifications de lipides totaux et hydrates de carbone selon Van Handel et Day (1988) sur des adultes de *L. botrana* élevé en présence d'eau ou d'eau sucrée pendant 10 jours.

Age	Traitement	n	Poids frais (mg)	Lipides totaux (µg/ mg de MV)	Sucres totaux (µg/ mg de MV)	Glycogène (µg/ mg de MV)
Jour émergence	eau	1	3.6	73.50	0.075	1.00
Jour émergence	eau	1	4.1	166.53	0.227	2.38
Jour émergence	eau	1	3.7	118.05	0.299	1.65
Jour émergence	eau	1	3.5	147.68	0.125	1.25
Jour émergence	eau	1	3.6	154.36	-	1.68
Jour émergence	eau	1	3.4	162.29	-	1.50
Jour émergence	eau	1	4.0	135.92	10.502	0.50
Jour émergence	eau	1	3.7	167.20	4.404	1.15
Jour émergence	eau	1	3.5	151.76	2.176	1.34
Jour émergence	eau	1	3.6	138.77	3.543	0.66
Jour émergence	eau	1	3.8	166.23	2.233	0.34
Jour émergence	eau	1	3.4	212.27	5.078	0.70
Jour émergence	eau	1	3.1	153.00	5.475	2.38
Jour émergence	eau	1	3.7	141.31	0.208	1.61
Jour émergence	eau	1	3.7	180.73	0.489	0.89
Jour émergence	eau	1	3.8	168.03	0.728	1.08
Jour émergence	eau	1	3.0	162.51	1.946	4.92
Jour émergence	eau	1	3.7	148.02	0.620	1.02
Jour émergence	eau	1	2.8	191.47	2.285	1.50
Jour 1	eau	1	3.3	200.02	3.282	0.64
Jour 1	eau	1	3.4	181.79	2.750	0.96
Jour 1	eau	1	3.5	157.02	3.582	0.80
Jour 1	eau	1	3.5	300.32	3.906	1.14
Jour 1	eau	1	2.4	219.59	1.378	1.11
Jour 5	eau	1	3.2	129.63	4.731	1.35
Jour 5	eau	1	2.8	99.77	4.417	2.35
Jour 5	eau	1	2.9	134.18	4.279	1.32
Jour 5	eau	1	2.9	167.55	9.390	1.55
Jour 5	eau	1	3	189.75	10.193	1.25
Jour 5	eau	1	3.2	153.65	8.274	1.18

<b>Age</b>	<b>Traitement</b>	<b>n</b>	<b>Poids frais (mg)</b>	<b>Lipides totaux (µg/ mg de MV)</b>	<b>Sucres totaux (µg/ mg de MV)</b>	<b>Glycogène (µg/ mg de MV)</b>
Jour 5	sucres	1	3	169.46	12.207	1.83
Jour 5	sucres	1	3.1	174.09	10.054	3.69
Jour 5	sucres	1	2.8	174.50	9.537	3.17
Jour 5	sucres	1	2.9	147.43	15.572	1.37
Jour 5	sucres	1	3.5	111.73	8.762	2.16
Jour 10	sucres	1	3.1	114.62	8.040	1.12
Jour 10	sucres	1	2.9	112.46	10.742	1.16
Jour 10	sucres	1	4.7	129.18	11.135	1.78
Jour 10	sucres	1	3.6	150.05	8.336	1.15
Jour 10	sucres	1	3.8	113.05	8.698	1.11
Jour 10	eau	1	3	147.70	8.783	0.57
Jour 10	eau	1	3.2	123.14	7.194	0.56
Jour 10	eau	1	2.8	41.74	5.138	0.75
Jour 10	eau	1	3.3	124.43	7.570	0.76
Jour 10	eau	1	3	69.10	8.443	1.12
Jour 10	eau	1	2.4	78.01	8.822	0.78

**b) Adénylates et charge énergétique**

Table A.3 : Données brutes issues de la quantification des adénylates par HPLC et du cacul de la charge énergétique aux différents stades développement de *L. botrana*.

	<b>n</b>	<b>Poids total (mg)</b>	<b>AMP (µg/mg de MV)</b>	<b>ADP (µg/mg de MV)</b>	<b>ATP (µg/mg de MV)</b>	<b>Charge énergétique</b>
Néonates	-	15	0.119	0.215	0.147	0.53
Néonates	-	34.6	0.122	0.119	0.040	0.35
Néonates	-	51.07	1.014	0.113	0.048	0.09
Larves	10	32.08	0.048	0.213	0.501	0.80
Larves	10	20.08	0.031	0.157	0.280	0.77
Larves	10	184.9	0.045	0.121	0.214	0.72
Larves	10	188.87	0.025	0.103	0.264	0.81
Larves	10	178.54	0.139	0.122	0.373	0.68
Larves	10	167.86	0.074	0.223	0.561	0.78
Larves	10	178.55	0.170	0.139	0.284	0.60
Larves	10	141.02	0.102	0.176	0.693	0.80
Larves	10	144.2	0.332	0.095	0.327	0.50
Larves	10	124.5	0.045	0.120	0.106	0.61
Larves	10	125.2	0.066	0.179	0.560	0.81
Larves	10	125.9	0.044	0.145	0.186	0.69
Larves	10	136.2	0.037	0.087	0.249	0.78
Larves	10	201.1	0.050	0.180	0.194	0.67
Pupes	10	80	0.184	0.218	2.133	0.88
Pupes	10	80.5	0.257	0.184	1.779	0.84
Pupes	10	93.9	0.062	0.107	0.799	0.88
Pupes	10	94.3	0.129	0.177	0.888	0.82
Pupes	10	96.1	0.112	0.125	0.917	0.85
Pupes	10	96.3	0.139	0.144	0.918	0.82
Pupes	10	91.9	0.064	0.148	0.950	0.88
Pupes	10	93.6	0.064	0.122	0.946	0.89
Pupes	10	92.5	0.159	0.093	0.844	0.81
Pupes	10	93.7	0.095	0.120	0.909	0.86
Pupes	10	92	0.094	0.087	0.781	0.86
Pupes	10	94	0.053	0.065	0.787	0.91

	n	Poids total (mg)	AMP (µg/mg de MV)	ADP (µg/mg de MV)	ATP (µg/mg de MV)	Charge énergétique
Pupes	10	91.6	0.066	0.122	0.833	0.88
Pupes	10	94.8	0.072	0.070	0.752	0.88
Pupes	10	91.55	0.085	0.045	0.661	0.86
Pupes	10	91.1	0.036	0.025	0.685	0.94
Pupes	10	96.74	0.099	0.130	0.547	0.79
Pupes	10	96.14	0.083	0.097	0.513	0.81
Pupes	10	92.4	0.149	0.296	0.378	0.64
Pupes	10	89.2	0.052	0.206	0.134	0.60
Papillons 2 jours	10	40.8	0.452	0.301	0.278	0.42
Papillons 2 jours	10	41.7	0.415	0.233	0.186	0.36
Papillons 2 jours	10	41.1	0.616	0.405	0.434	0.44
Papillons 2 jours	10	49.58	0.096	0.225	0.144	0.55
Papillons 2 jours	10	41.1	0.305	0.314	0.401	0.55
Papillons 2 jours	10	42.2	0.131	0.357	0.188	0.54
Papillons 2 jours	10	41.8	0.351	0.261	0.135	0.36
Papillons 2 jours	10	43.52	0.215	0.333	0.224	0.51
Papillons 2 jours	10	50.7	0.142	0.385	0.177	0.53
Papillons 2 jours	10	52.1	0.230	0.755	0.049	0.24
Papillons 2 jours	10	52.4	0.171	1.610	0.133	0.46
Papillons 2 jours	10	48.3	0.595	1.587	0.069	0.18
Papillons 2 jours	10	62.1	0.071	1.228	0.056	0.47
Papillons 2 jours	10	48.1	0.123	0.631	0.017	0.24
Papillons 2 jours nuit	10	35.16	0.517	0.524	0.175	0.36
Papillons 2 jours nuit	10	40.2	0.198	0.403	0.081	0.41
Papillons 15 jours	10	29.75	0.106	0.303	0.402	0.68
Papillons 15 jours	10	31.5	0.681	0.113	0.118	0.19
Morts	10	31.04	1.423	0.111	0.018	0.05
Morts	10	27.94	1.278	0.990	0.016	0.04
Morts	10	19.8	0.940	0.002	0.007	0.01
Morts	10	13.91	1.632	0.016	0.007	0.01
Morts	10	18.82	2.037	0.001	0.021	0.01
Morts	10	18.53	1.473	0.016	0.059	0.04
Morts	10	15.04	2.691	0.018	0.016	0.01

## Annexe VI: Influence du vol sur le métabolisme

Table A.4 : Données brutes des quantifications d'adénylates obtenues par HPLC et de lipides totaux selon Van Handel et Day (1988) pour des individus ayant volés ou non en tunnel de vol. Des groupes de 10 individus par échantillon ont été analysés.

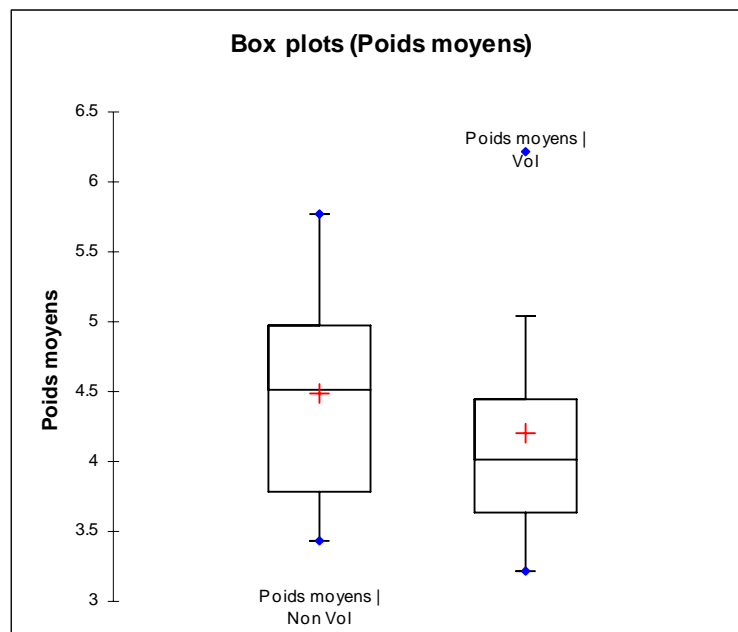
Age	Traitement	Poids (mg)	AMP (µg/ mg de MV)	ADP (µg/ mg de MV)	ATP (µg/ mg de MV)	Charge énergétique	Lipides totaux (µg/ mg de MV)
Jour émergence	Non vol	51.6	0.068	0.088	0.037	0.42	-
Jour émergence	Non vol	57.7	0.240	0.327	0.170	0.45	-
Jour émergence	Non vol	50.7	0.295	0.041	0.019	0.11	37.79
Jour émergence	Non vol	57.7	0.693	0.436	7.814	0.52	30.99
Jour émergence	Non vol	54.42	-	-	-	-	49.97
Jour 1	Non vol	49.5	0.212	0.070	0.012	0.16	
Jour 1	Non vol	48.06	1.818	0.432	0.795	0.16	95.13
Jour 1	Non vol	46.9	0.140	0.157	0.728	0.41	93.58
Jour 1	Non vol	44.9	1.243	0.308	1.349	0.17	78.95
Jour 1	Non vol	48.2	0.132	0.412	2.899	0.60	96.21
Jour 1	Non vol	48.34	0.222	0.358	1.875	0.58	84.23
Jour 1	Non vol	48.22	1.291	0.101	0.152	0.06	80.91
Jour 1	Non vol	48.44	-	-	-	-	70.83
Jour 1	Non vol	53.3	-	-	-	-	78.34
Jour 1	Vol	44.9	1.154	0.416	4.455	0.32	55.12
Jour 1	Vol	50.4	-	-	-	-	61.01
Jour 1	Vol	57.7	0.953	0.037	1.104	0.12	85.00
Jour 1	Vol	49.2	0.126	0.107	0.111	0.30	87.65
Jour 1	Vol	48.25	-	-	-	-	72.49
Jour 3	Non vol	40.2	-	-	-	-	76.71
Jour 3	Non vol	45.1	0.107	0.039	0.041	0.16	68.49
Jour 3	Non vol	43.4	0.769	0.190	0.057	0.11	-
Jour 3	Non vol	54.8	0.197	0.189	0.258	0.33	83.02
Jour 3	Vol	41	0.631	0.018	0.041	0.07	47.96
Jour 3	Vol	40.2	0.335	0.309	1.147	0.35	65.89
Jour 3	Vol	62.2	-	-	-	-	50.02
Jour 3	Vol	43.8	0.404	0.054	0.339	0.12	47.36
Jour 3	Vol	44.4	1.453	0.002	0.071	0.01	72.53

<b>Age</b>	<b>Traitement</b>	<b>Poids (mg)</b>	<b>AMP (µg/ mg de MV)</b>	<b>ADP (µg/ mg de MV)</b>	<b>ATP (µg/ mg de MV)</b>	<b>Charge énergétique</b>	<b>Lipides totaux (µg/ mg de MV)</b>
Jour 5	Non vol	45.8	0.227	0.009	0.027	0.12	70.30
Jour 5	Non vol	36.9	0.127	0.049	0.013	0.20	65.37
Jour 5	Non vol	36.9	1.710	0.001			58.68
Jour 5	Non vol	35.9	2.085	0.021	0.206		
Jour 5	Non vol	41.2	-	-	-	-	73.24
Jour 5	Non vol	40	-	-	-	-	62.75
Jour 5	Vol	37	0.246	0.084	0.032	0.20	-
Jour 5	Vol	35.9	0.551	0.031	0.026	0.07	-
Jour 5	Vol	32.1	3.022	0.160	0.389	0.04	68.66
Jour 5	Vol	36.4	2.467	0.025	0.097	0.01	55.98
Jour 5	Vol	32.6	1.154	0.505	4.103	0.43	57.96
Jour 7	Non vol	40.5	0.254	0.035	0.028	0.14	97.13
Jour 7	Non vol	36.66	0.622	0.164	0.877	0.19	98.89
Jour 7	Non vol	34.38	1.985	0.113	0.166	0.04	125.69
Jour 7	Non vol	34.6	1.250	0.176	0.145	0.08	89.47
Jour 7	Non vol	36.29	-	-	-	-	77.25
Jour 7	Non vol	34.8	-	-	-	-	78.54
Jour 7	Vol	36.9	0.463	2.817	0.081	0.14	57.54
Jour 7	Vol	35.1	2.259	5.783	1.305	0.28	100.00
Jour 7	Vol	36.29	1.223	2.873	1.233	0.05	103.22
Jour 7	Vol	35.8	2.144	4.141	1.455	0.05	84.00

## Annexe VII: Poids moyens des individus ayant volés ou non

Table A.5 : Poids moyens des individus ayant volés ou non dans le tunnel de vol, analysés pour mesurer les concentrations en adénylates et lipides totaux.

		J0	J1	J3	J5	J7
<b>Non vol</b> (flux d'air = 0.1 m/s)	Moyenne	5.44	4.92	4.45	3.88	3.82
	Ecart-type	0.33	0.22	0.63	0.25	0.59
	Erreur standard	0.15	0.07	0.28	0.10	0.24
<b>Vol</b> (flux d'air = 0.3 m/s)	Moyenne		4.91	4.58	3.50	3.73
	Ecart-type		0.49	0.74	0.19	0.19
	Erreur standard		0.20	0.28	0.07	0.10



(n = 55, t = -1.5, P = 0.140)

Figure A.2 : Boîte à moustache des données représentant les poids moyens des individus ayant volés ou non dans le tunnel de vol analysés pour mesurer les concentrations en adénylates et lipides totaux.



## Annexe VIII: Influence de la phéromone sur le métabolisme

Table A.6 : Quantifications des adénylates par HPLC et des lipides totaux selon Van Handel et Day (1988) issues des analyses des groupes comprenant 10 individus exposés ou non à la phéromone *a)* en vignoble ; *b)* en serre.

### *a)* en vignoble

Traitement	Poids total (mg)	AMP (µg / mg de MV)	ADP (µg / mg de MV)	ATP (µg / mg de MV)	Charge énergétique	Lipides totaux (µg / mg de MV)
Sans Phéromone	44.5	0.262	0.035	0.009	0.09	91.99
Sans Phéromone	46.4	0.208	0.043	0.010	0.12	114.72
Sans Phéromone	36.8	0.175	0.299	0.083	0.42	109.06
Sans Phéromone	50.2	0.667	0.162	0.728	0.23	120.28
Sans Phéromone	37.8	0.796	0.165	0.149	0.11	114.91
Sans Phéromone	50.1	1.108	0.069	0.182	0.05	95.81
Sans Phéromone	37.8	0.350	0.208	0.044	0.20	90.92
Sans Phéromone	38.5	1.382	0.139	0.036	0.05	91.14
Sans Phéromone	38.4	0.973	0.156	0.207	0.09	102.52
Sans Phéromone	36.8	0.240	0.211	0.098	0.27	141.80
Sans Phéromone	41.1	0.265	0.041	0.175	0.11	103.34
Sans Phéromone	39.1	1.478	0.113	0.041	0.04	127.41
Sans Phéromone	34.0	1.530	0.219	0.747	0.11	141.19
Sans Phéromone	44.4	1.114	0.027	0.020	0.01	104.16
Phéromone	46.2	0.210	0.070	0.020	0.18	127.60
Phéromone	45.8	0.222	0.080	0.008	0.16	95.25
Phéromone	45.0	1.337	0.191	0.079	0.07	52.97
Phéromone	37.7	1.770	0.032	0.030	0.01	105.11
Phéromone	36.4	1.167	0.147	0.114	0.07	119.91
Phéromone	36.7	1.630	0.248	0.570	0.09	104.37
Phéromone	25.2	1.196	0.346	0.360	0.15	92.85
Phéromone	40.6	1.461	0.003	0.142	0.02	114.09
Phéromone	36.4	0.597	0.044	0.128	0.07	114.86
Phéromone	40.7	0.632	0.218	0.404	0.19	96.57
Phéromone	36.9	1.265	0.004	0.009	0.00	125.16
Phéromone	37.8	0.138	0.017	0.194	0.16	84.86
Phéromone	42.1	0.172	0.100	0.016	0.19	81.28
Phéromone	44.1	0.628	0.044	0.061	0.04	98.89

**b) en serre**

Traitements		Poids total (mg)	AMP (µg/ mg de MV)	ADP (µg/ mg de MV)	ATP (µg/ mg de MV)	Charge énergétique	Lipides totaux (µg/ mg de MV)
Sans eau	Sans phéromone	38.00	0.207	0.131	0.025	0.25	113.39
Sans eau	Sans phéromone	33.93	0.457	0.233	0.093	0.27	157.47
Sans eau	Sans phéromone	46.00	1.624	0.192	0.083	0.09	169.14
Sans eau	Sans phéromone	46.00	1.104	0.190	0.138	0.16	153.23
Sans eau	Sans phéromone	32.00	0.285	0.410	0.201	0.45	211.79
Sans eau	Sans phéromone	33.93	0.833	0.003	0.053	0.06	145.03
Sans eau	Sans phéromone	43.33	2.131	0.156	0.028	0.05	149.02
Eau	Sans phéromone	41.90	0.207	0.070	0.007	0.15	142.64
Eau	Sans phéromone	42.28	0.106	0.071	0.005	0.22	53.09
Eau	Sans phéromone	44.10	0.088	0.059	0.016	0.28	86.51
Eau	Sans phéromone	41.50	0.421	0.172	0.015	0.17	186.95
Eau	Sans phéromone	42.28	0.289	0.102	0.008	0.15	618.65
Eau	Sans phéromone	41.60	0.456	0.287	0.049	0.24	156.88
Sans eau	Phéromone	40.90	0.255	0.052	0.031	0.17	124.26
Sans eau	Phéromone	36.70	0.104	0.036	0.001	0.13	104.68
Sans eau	Phéromone	30.70	1.559	0.094	0.009	0.04	125.54
Sans eau	Phéromone	36.78	0.382	0.141	0.004	0.14	209.22
Sans eau	Phéromone	43.70	0.574	0.109	0.003	0.08	85.45
Sans eau	Phéromone	31.80	0.260	0.130	0.005	0.18	158.72
Eau	Phéromone	42.70	0.219	0.100	0.021	0.21	113.75
Eau	Phéromone	31.96	0.256	0.266	0.100	0.38	186.57
Eau	Phéromone	38.04	1.653	0.147	0.036	0.06	163.23
Eau	Phéromone	38.04	0.194	0.116	0.093	0.37	162.31
Eau	Phéromone	37.70	0.375	0.090	0.015	0.13	158.36
Eau	Phéromone	39.80	1.045	0.089	0.014	0.05	124.96

## Annexe IX: Comparaison des populations

Table A.7 : Quantifications des adénylates par HPLC et des lipides totaux selon Van Handel et Day (1988) issues des analyses de groupes comprenant 10 individus provenant de la population naturelle et de la souche ACW élevée sur grappe de raisin et sur milieu artificiel.

	<b>Poids (mg)</b>	<b>AMP (µg/mg de MV)</b>	<b>ADP (µg/mg de MV)</b>	<b>ATP (µg/mg de MV)</b>	<b>Charge énergétique</b>	<b>Lipides totaux (µg)/ mg de MV</b>
Population naturelle	25.2	0.172	0.256	0.065	0.39	59.10
Population naturelle	20.6	0.570	0.437	0.528	0.49	33.40
Population naturelle	24.2	0.374	0.469	0.288	0.46	123.82
Population naturelle	25.1	0.266	0.408	0.218	0.47	82.23
Population naturelle	22	0.751	0.263	0.137	0.23	35.44
Population naturelle	23.8	0.419	0.135	0.016	0.15	59.09
Population naturelle	19.4	0.206	0.236	0.056	0.35	53.98
Population naturelle	21.8	1.159	0.206	0.083	0.13	36.41
Population naturelle	22.5	1.638	0.133	0.044	0.06	83.80
Population naturelle	26.4	0.326	0.255	0.098	0.33	37.95
Population naturelle	20.5	-	-	-	-	41.65
Population naturelle	22.5	-	-	-	-	28.72
Population naturelle	22.3	-	-	-	-	138.08
Population naturelle	20.1	-	-	-	-	90.13
Population naturelle	22.5	-	-	-	-	93.55
Population raisin	23.2	0.542	0.429	0.535	0.50	105.00
Population raisin	24	0.078	0.261	-	0.66	33.10
Population raisin	23.8	0.926	0.083	-	0.06	38.39
Population raisin	22.6	1.830	0.149	0.847	0.07	53.67
Population raisin	21.2	1.754	0.264	0.751	0.10	49.74
Population raisin	28.1	0.365	0.171	0.519	0.23	43.04
Population raisin	26.9	1.187	0.169	0.520	0.10	41.17
Population raisin	24.3	-	-	-	-	33.98
Population raisin	22.1	-	-	-	-	50.75
Population raisin	32.1	0.574	0.147	0.545	0.16	49.20
Population raisin	29.4	1.557	0.377	2.308	0.19	63.78
Population raisin	21.1	-	-	-	-	49.31
Population élevage	49.5	0.212	0.070	0.012	0.16	-
Population élevage	28.06	1.818	0.432	0.795	0.16	95.13
Population élevage	46.9	0.140	0.157	0.728	0.41	93.58
Population élevage	44.9	1.243	0.308	1.349	0.17	78.95
Population élevage	48.2	0.132	0.412	2.899	0.60	96.21
Population élevage	28.22	0.222	0.358	1.875	0.58	84.23
Population élevage	28.2	1.291	0.101	0.152	0.06	80.91
Population élevage	28.28	-	-	-	-	70.83
Population élevage	53.3	-	-	-	-	78.34



## Remerciements

C'est pour moi un agréable exercice d'exprimer ici mes sincères remerciements aux personnes et institutions qui ont contribué à la réalisation de ce travail. Cela n'aurait pu être possible sans l'aide et le soutien de nombreuses personnes que je souhaiterais remercier :

Tout d'abord, je souhaiterais remercier les Drs. Patrick Guerin et Pierre-Joseph Charmillot pour m'avoir donné l'opportunité de réaliser cette thèse, mais aussi pour la transmission de leurs connaissances et les nombreuses discussions instructives et constructives que nous avons eues ensemble pour faire évoluer ces projets.

Je remercie le « National Centre of Competence in Research (NCCR) » pour avoir financé ce projet. Je souhaiterais également remercier les viticulteurs du canton de Vaud, M. Becker, Vignerons sur la commune de Zellenberg en Alsace, ainsi que les firmes Andermatt Biocontrol (CH), AgriSens (RU), Suterra (USA), Isagro (It), pour la mise à disposition de leurs vignes et du matériel phéromonal, sans quoi je n'aurais pu réaliser l'ensemble de ces essais.

Je remercie l'organisme Agroscope Changins-Wädenswil ainsi que tout ces collaborateurs pour la mise à disposition des laboratoires et du matériel nécessaire à la réalisation de ce travail.

Merci au comité de thèse, pour l'intérêt porté à ce travail.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à Katia Gindro et Patrik Kerhli.

Je te remercie infiniment Katia de m'avoir aidée à garder le cap même par gros temps !

Ton « libertinage scientifique », tes idées parfois loufoques et ton enthousiasme contagieux m'a permis de faire de ce travail ce qu'il est....

Patrik, je te remercie sincèrement pour ta patience, ta rigueur et ton perfectionnisme. J'ai beaucoup appris et beaucoup apprécié travailler avec toi. Nous avons pu observer ensemble que « Les hommes viennent de mars ; les femmes viennent de vénus ».

Je remercie également Jean-Pierre De Joffrey pour le temps qu'il m'a consacré et les connaissances des techniques de laboratoire qu'il m'a apportées.

Un grand merci à toute l'équipe du service entomologie pour leur aide, leurs conseils et les bons moments que nous avons passés ensemble et notamment : Françoise, Jacques, Thomas, Lukas, Gabriel.

Un grand merci à Martine et Suzanne, pour leur bonne humeur communicative et l'ambiance chaleureuse que vous transmettez, même au fin fond de votre sous sol froid et sombre.

Isabelle, un peu triste de te quitter si tôt, nous commençons à former une belle équipe.... Mais surtout, n'oublie pas « Prends l'air ! Tu y trouveras toujours du plaisir »!

Denis, je te remercie d'être venu à mon secours lors de mes petits problèmes de communication avec mon ordinateur.

Merci à Serge pour les quelques notes de musiques quotidiennes qui ont égayé le petit violoncelle !

Stève, merci pour ta présence, tes conseils, tes critiques, et nos longues discussions. Ce n'est pas toujours facile de refaire le monde, mais c'est avec des bons moments comme ceux là qu'un jour on y arrivera !

Ah oui.... Christian, je crois que toi, je ne te remercie pas !!!

Je remercie également l'ensemble des stagiaires, apprentis et auxiliaires qui ont participé à ce travail. Carine et Christelle pour leur compagnie du week-end ; Manue, Luc et Jessica pour l'aide au sexage et la vaisselle, Carine, Ophélie, Pascal et Claire pour leur travail sur les cages ; Denis pour son travail sur le carrousel de vol, et Charlotte pour nos travaux de coutures.

Je remercie l'ensemble du produit 15 de m'avoir laissé utiliser leur laboratoire pour réaliser mes diverses expériences, et plus particulièrement toutes les personnes de la Mycologie.

Evelyne... Merci à toi pour ton sourire matinal et surtout pour les nombreuses fois où tu m'as secouru dans mes petits soucis d'organisation.

Je remercie également André et les bibliothécaires. C'est très agréable et confortable de travailler avec des personnes aussi efficaces.

Merci à Daniela et Martin pour nos discussions et votre aide lors de mes visites à l'Université de Neuchâtel.

Une petite pensée pour la famille Fabre et la famille De Groote. Leur présence et leur cuisine ont bien souvent été d'un grand réconfort.

Une petite pensée pour Thomas Degen et Philippe Jeanbourquin, pour m'avoir aidé à m'ouvrir l'esprit sur le monde passionnant qu'est la recherche fondamentale.

Merci à mes professeurs d'orthographe, Monique et Christine.

Merci beaucoup Monique pour ton soutien technique hebdomadaire, tu m'as été d'une très grande aide. Christine, je te dis un grand merci pour m'avoir fait réfléchir sur les choses de la vie, m'avoir appris à positiver et prendre les événements du bon côté ! La Buzelle est un petit coin de Paradis ou il fait toujours beau !

Je remercie mes amis ainsi que ma famille de m'avoir soutenu tout au long de ce travail, et plus particulièrement ma « petite Cécile », sans qui cette thèse ne serait probablement pas ce qu'elle est...

Mon *P'tit Schnée Illustré*, un grand merci pour ta présence et ton soutien quotidien....

Et pour finir mes P'tites choses, vos gazouillis ont été d'un grand réconfort et ont bien souvent illuminé mes journées.....