ParisTech
INSTITUT DES SCIENCES ET TECHNOLOGIES
PARIS INSTITUTE OF TECHNOLOGY

AgroParisTech

Ecole doctorale SIBAGHE

Doctorat ParisTech

T H È S E

pour obtenir le grade de docteur délivré par

L'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement

(AgroParisTech)

Spécialité : Agroécologie

présentée et soutenue publiquement par

Catherine Boreau de Roincé

le 31 janvier 2012

Biodiversité et aménagements fonctionnels en verger de pommiers : Implication des prédateurs généralistes vertébrés et invertébrés dans le contrôle des ravageurs.

Directeur de thèse : **Claire Lavigne**
Co-encadrement de la thèse : **Bill Symondson**

Jury

Mme Sandrine Petit, DR, UMR BGA, INRA- AgroSup de Dijon-Université de Bourgogne	Rapporteur
Mme Nuria Agustí, DR, Entomologie, IRTA de Catalogne	Rapporteur
M. Alain Ratnadass, CR, HortSys, CIRAD	Examinateur
Mme Muriel Morison, CR, UMR 211, INRA- AgroParisTech	Examinateur
Mme Claire Lavigne, DR, PSH UR115, INRA PACA	Examinateur
M. Bill Symondson, Pr, Cardiff school of biosciences, Cardiff university	Examinateur
M. Jean-Charles Bouvier, IR, PSH UR115, INRA PACA	Invité
M. Jean-Michel Ricard, ingénieur, CTIFL	Invité

AgroParisTech
Plantes et Systèmes de culture Horticoles, INRA PACA
Centre Technique Interprofessionnel des Fruits et Légumes

Remerciements

Je trouve que le froid d'une feuille convient mal aux remerciements chaleureux que j'aimerai faire à tous ceux qui ont de près ou de loin participé à ce travail. Les remerciements, j'aime les faire de vive-voix de préférence autour d'un verre et de petits mets bien assortis…mais comme mon anti-conformisme n'est pas très poussé, j'ai fait la liste de tous ceux à qui je souhaite montrer toute ma gratitude pour leur aide pendant ces trois ans. Je tâcherai par ailleurs de leur exprimer de vive voix dès qu'il m'en sera possible. Toutes ces personnes peuvent donc 1) exiger leur remerciements et 2) un moment chaleureux autour d'un verre et de ses mets assortis !

A l'INRA: Claire Lavigne, Jean-Charles Bouvier, Pierre Franck, Jean-François Toubon, Jérome Olivares, Sandrine Maugin, Odile Mascle, Mariline Maalouly et Myriam Siegwart,.

Au CTIFL : Jean-Michel Ricard, Michel Jay, Jean-François Mandrin, Alain Garcin et l'équipe qui a construit les mésocosmes.

A Cardiff: Bill Symondson, et tous les thésards cosmopolites de l'open-space.

Les membres de mon comité de thèse : Thomas Boivin, Nicolas Desneux, Yvan Capowiez, Armelle Cœur d'Acier.

Les stagiaires : Laetitia Durlin et Mickaël Mille.

Les collaborateurs : Christine Rollard et Sébastien Puechmaille.

Et l'inclassable : Sylvain Moulherat.

Tables des matières

Remerciements 1

Prologue 6

Chapitre I : La place de la biodiversité fonctionnelle dans la protection intégrée contre les ravageurs des pommiers en France 8

A. Vers l'écologisation des modes de culture : de la lutte chimique intensive à la lutte intégrée. 8

B. La lutte intégrée contre les ravageurs des pommiers : avancées et perspectives 9

1) Quels sont les ravageurs-clés des pommiers ? 9

2) Quels moyens de lutte intégrée contre ces ravageurs ? 11

3) Les avancées en lutte intégrée sur culture de pommiers 12

C. Fondements de la lutte biologique par conservation de la biodiversité fonctionnelle en verger de pommiers. 15

1) Le verger de pommiers comme agroécosystème 15

2) Les enseignements de l'écologie 17

3) Implications spécifiques dans l'étude de la régulation de ravageurs dans un agroécosystème. 21

4) Synthèse des études menées en lutte biologique par conservation en verger de pommiers 26

Chapitre II. Démarche, matériels et méthodes 28

A. Une démarche commune à quatre groupes de prédateurs 28

1) Focus sur quatre groupes de prédateurs généralistes 28

2) Quelle efficacité de régulation de ces prédateurs ? Une démarche en trois étapes 30

B. Le cadre du bassin arboricole de la basse vallée de la Durance 31

1) Description générale du bassin arboricole 31

2) Un réseau support de 15 parcelles de vergers commerciaux en agriculture biologique 32

3) Description du verger par système d'information géographique 32

C. Etude de la prédation et de ses effets sur les populations de ravageurs 34

1) Observation directe de la prédation par PCR diagnostique.....34

2) Observation indirecte de la prédation par suivi des populations.....47

Chapitre III : Quelles périodes d'action des prédateurs ?.....51

A. Prédation sur le carpocapse de la pomme et la tordeuse orientale 53

1) Les arthropodes du sol.....53

~ **Article 1**.....56

2) Les chauves-souris 86

3) Les mésanges.....87

B. Prédation sur le puceron cendré.....88

1) Les araignées de la frondaison 88

~ **Article 2**.....90

2) Les acariens (hors étude).....107

C. Quelles complémentarités fonctionnelles entre prédateurs ? 108

1) Prédateurs du carpocapse de la pomme et de la tordeuse orientale 108

2) Prédateurs du puceron cendré 109

Chapitre IV : Quelle mortalité du ravageur selon la diversité et la densité en prédateurs ? ...112

A. Mortalité observée du carpocapse de la pomme en fonction de l'abondance de deux espèces de carabes, *Calathus fuscipes* et *Pseudoophonus rufipes*. 114

1) Objectifs de cette expérience.....114

2)Matériels et méthodes.....114

3) Résultats et discussion.....115

~ **Article 3** 13516

B. Mortalité des pucerons du pommier en fonction de l'abondance des araignées de la frondaison. 132

1) Résumé du matériels et méthodes 132

2) Résultats 132

Chapitre V : Quelles caractéristiques environnementales favorisent l'abondance et la fonctionnalité des prédateurs ? 134

A. Etude des caractéristiques locales du verger favorisant les carabes et araignées du sol 135

1) Matériels and méthodes 135

2) Résultats 138

3) Discussion 142

B. Influence des caractéristiques du verger et du paysage sur le potentiel de régulation du puceron cendré par les araignées de la frondaison 145

1) Objectifs de cette étude 145

2) Matériels et méthodes 145

3) Résultats 145

~ **Article 4** 13546

Chapitre VI : Conclusions et perspectives 1655

A. Evaluation du potentiel des prédateurs par méthodes moléculaires 1655

1) Un potentiel limité des prédateurs étudiés ? 1655

2) Perspectives d'utilisation des PCR diagnostiques 1666

B. Enseignements sur la lutte biologique par conservation en verger 1677

1) Les conclusions inapplicables des études en système de culture céréalière 1677

2) Indications sur les aménagements fonctionnels en verger 1688

3) Implications dans la lutte intégrée contre les ravageurs étudiés 16969

C. Quelques pistes de recherche 17070

Références 1711

Annexe 1888

Planche amovible 1900

Prologue

La biodiversité est un enjeu majeur du XXI^{ième} siècle et sa conservation reçoit un fort intérêt sociétal. A ce titre, l'impact de l'intensification des activités agricoles qui couvrent 53.2% du territoire français a été évalué globalement négatif sur la biodiversité. En conséquence des mesures de protection de la biodiversité, par exemple des diminutions d'intrants (plan écophyto 2018) et des aménagements des parcelles (conditionnalité de la PAC : bonnes conduites agricoles et environnementales) ont été mises en place. Au-delà de cette problématique de conservation, il devient urgent de déterminer les conséquences de l'érosion de la biodiversité sur le fonctionnement global des écosystèmes. Dans le contexte agricole, cela revient à comprendre dans quelle mesure l'activité de la biodiversité soutient la production agricole. Un exemple illustratif est l'activité de pollinisation des cultures essentiellement supportée par la biodiversité. Face au risque de perte de cette part fonctionnelle de la biodiversité, les axes de recherche actuels cherchent à déterminer les facteurs anthropiques et environnementaux qui seraient susceptibles de conserver voire d'améliorer sa fonctionnalité.

Cette thèse s'inscrit pleinement dans cette problématique. En effet, l'objectif de la collaboration entre le Centre Technique Interprofessionnel des Fruits et Légumes (CTIFL), l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) et l'université de Cardiff dans le cadre de cette thèse CIFRE était de déterminer le rôle fonctionnel de la biodiversité, et plus particulièrement, celui des prédateurs généralistes dans la régulation de trois ravageurs clés de la pomme, le carpocapse de la pomme (*Cydia pomonella L.*), la tordeuse orientale (*Grapholita molesta* B.) et le puceron cendré (*Dysaphis plantaginea* P.). D'un point de vue agronomique, ce rôle de régulation constitue un moyen de lutte contre les ravageurs, appelé lutte biologique par conservation, qui doit être évalué de la même méthodologie pour tous les prédateurs afin d'être intégré dans des itinéraires techniques de protection.

C'est pourquoi, cette thèse traitera d'une part de la caractérisation du potentiel de ces prédateurs généralistes comme agents de contrôle en lutte biologique par conservation et d'autre part, de l'applicabilité de ce moyen de lutte dans le contexte actuel de production de pommes en France. Pour développer une approche systématique, il a semblé important d'adapter l'évaluation de l'efficacité d'un agent de contrôle chimique à celle d'un agent de contrôle biologique, c'est-à-dire de caractériser 1) le/ou les stades de vulnérabilité du ravageur vis-à-vis de cet agent, 2) la mortalité en fonction de la dose appliquée c'est-à-dire selon la densité et diversité en ennemis naturels 3) les

conditions d'applications, ici les facteurs environnementaux, favorisant son efficacité. Cette évaluation s'est faite en région méditerranéenne dans des vergers en agriculture biologique du bassin arboricole de la basse vallée de la Durance.

Par ailleurs, j'ai écrit ce document, issu d'une thèse finalisée (bourse CIFRE), de manière à ce qu'il puisse être plus directement utile à des personnes qui ne sont pas initiées aux aspects théoriques de l'agroécologie. En effet, ce travail s'appuie sur un socle théorique et empirique qui est plutôt développé dans les articles et dont on se servira pour sa mise en perspective. Le premier chapitre introductif en particulier permet de faire le point sur l'importance de la lutte biologique par conservation dans les itinéraires techniques de protection contre les ravageurs de la pomme (§ I.B), de définir les principaux concepts écologiques qui seront utilisés tout au long de ce manuscrit ainsi que l'état actuel des connaissances sur les prédateurs de ces ravageurs (§ I.C).

Chapitre I : La place de la biodiversité fonctionnelle dans la protection intégrée contre les ravageurs des pommiers en France

A. Vers l'écologisation des modes de culture : de la lutte chimique intensive à la lutte intégrée.

De plus en plus remise en question par l'opinion publique pour ses effets indésirables (Wezel *et al.*, 2009), la protection chimique intensive qui consiste à traiter les cultures selon des calendriers de traitements pré-établis est un modèle de pratique agricole obsolète. En effet, l'apparition de résistances aux insecticides (cas du carpocapse de la pomme, Denholm *et al.*, 2002 ; Franck *et al.*, 2007 ; Reyes *et al.*, 2009), les risques sanitaires encourus par les producteurs et les consommateurs (Pruess-Ustuen *et al.*, 2011), les effets collatéraux sur la biodiversité (synthèse pour l'arboriculture, Simon *et al.*, 2009) et l'environnement (Krebs *et al.*, 1999), ont poussé à optimiser les périodes de traitements, à varier les classes d'insecticides utilisés tout en évaluant leur toxicité sur les auxiliaires des cultures (Audemard, 1987).

Pour cela, une action concertée des acteurs des filières agricoles (instituts techniques, chambres d'agriculture, agro-fournisseurs, etc) et des producteurs a été mise en place pour développer des pratiques de traitements s'appuyant sur des avertissements phytosanitaires locaux mais aussi sur la décision individualisée selon des critères parcellaires. Cette dernière démarche est particulière aux luttes raisonnée et intégrée dont on peut prendre les définitions proposées par Audemard (1987).

> *Interventions décidées après estimation du risque réel à l'échelle de la parcelle par la mise en œuvre de méthodes appropriées d'observations et de surveillance des organismes nuisibles et par référence à des seuils de tolérance économique en faisant appel :*
>
> *- à des pesticides choisis selon des critères de moindre incidence écologique. Lutte raisonnée.*
>
> *- à plusieurs moyens de lutte judicieusement associés. Lutte intégrée.*
>
> *Extrait d'Audemard (1987)*

La lutte raisonnée a déjà prouvé son efficacité en culture de pomme avec une réduction de plus de 50% du nombre de traitements et un bon niveau économique de protection par rapport à la lutte chimique intensive des années 60-70 (Audemard, 1987). Néanmoins, les vergers, toujours

majoritairement en protection chimique, restent très demandeurs en insecticide comparativement aux grandes cultures, avec 21% du marché pour 1% de la surface agricole utile totale (Aubertot *et al.*, 2005). Or, les vergers de pommiers, certes en constante diminution avec -18 % de surface en 10 ans (Sauphanor and Dirwimmer, 2009), représentent 31.8% de la surface de vergers en France. La protection des pommes reste donc étroitement liée aux insecticides chimiques malgré les objectifs gouvernementaux imposés aux agriculteurs. Néanmoins, les moyens de lutte intégrée non chimiques sont en expansion (confusion sexuelle) et sont particulièrement utilisés dans les vergers de pommiers en agriculture biologique dont la SAU a été estimé à 2.1 % de la SAU en pommiers en France (Tableau I.1).

Bassin	Surface en production (ha)	Production (t)	% de la surface en confusion sexuelle (pommes+ poires)	% de la surface en agriculture biologique	% de la surface plantée avec des variétés résistantes
Sud-Est	16 253	477 301	32,5 %	1,8 %	0,5 %
Sud-Ouest	13 579	479 485	42,5 %	1,4 %	1,9 %
Val de Loire	10 864	407 468	44 %	3,4 %	2 ,8 %
Total France	42 852	1 676 000	40 %	2,1 %	1,6 %

Sources : confusion : A. Cazenave, SumiAgro (confusion GINKO / ISOMAT C, ajouter 1000 ha d'ECOPOM et importations d'Italie).
Le pourcentage de surface en confusion sexuelle comprend tous les types de cultures, c'est-à-dire des parcelles en agriculture biologique ou avec des variétés résistantes. Il en est de même pour le pourcentage en variétés résistantes (on y trouve des parcelles en agriculture biologique ou en confusion) et le pourcentage en agriculture biologique.
Autres données : Agreste 2006 et SCEES 2006.

Tableau I.1 : Tableau extrait de R&D ecophyto (Sauphanor and Dirwimmer, 2009). *Il décrit succinctement la structure des différents bassins de production de la pomme de table en 2006 en mettant en évidence les surfaces qui exploitent des moyens de lutte intégrée non chimiques.*

B. La lutte intégrée contre les ravageurs des pommiers : avancées et perspectives

1) Quels sont les ravageurs-clés des pommiers ?

Un ravageur est un insecte nuisible pour une production agricole. En région méditerranéenne, la culture de la pomme est particulièrement agressée par deux taxa comme le montre la répartition de l'indice de fréquence de traitement (IFT) (Tableau I.2) : les pucerons (Homoptera : Aphididae) et les tordeuses des fruits (Lepidoptera : Tortricidae). Elle est plus marginalement attaquée par une cochenille, le Pou de San José, *Diaspidiotus perniciosi* (Homoptera : Coccoidea), un acarien, *Panonychus ulmi*, (Acari : Tetranychidae), des mineuses de la feuille (dont *Phyllonoricter blancardella* (Lepidoptera : Gracillariidae)), une zeuzère (*Zeuzera pirina* (Lepidoptera : Cossidae)), plusieurs espèces de tordeuses de la pelure (Lepitoptera : Tortricidae) et enfin de charançons

(Coleoptera :Curculionidae). Nous décrirons uniquement les dégâts et cycles de vie des espèces d'intérêt pour cette thèse (source : http://www.inra.fr/hyppz/ravageur.htm).

Bassin de production	IFT total insecticides	*Dont IFT carpocapse*	*Dont IFT pucerons*	IFT acariens	IFT total fongicides	*Dont IFT tavelure*	IFT herbicides	IFT éclaircissage	**IFT total**
Sud-Est	15.7	*11.8*	*3.8*	0.3	14.7	*12.5*	1.8	2.5	**35.0**
Sud-Ouest	11.3	*8.4*	*2.9*	0.3	23.2	*16.8*	1.8	2.5	**39.1**
Val de Loire	10.0	*7.0*	*3.0*	0.3	28.8	*19.5*	1.8	2.5	**43.4**

Tableau I.1 : Tableau extrait de R&D ecophyto (Sauphanor and Dirwimmer, 2009). *Il décrit la répartition de l'indice de fréquence de traitement pour les différents bassins de production de la pomme.*

~ *Les pucerons*

D'une manière générale, les pucerons se caractérisent par la présence d'une phase parthénogénétique dans leur cycle, leur conférant un fort taux d'accroissement naturel et donc un fort potentiel de pullulation. De plus en arboriculture fruitière, leurs colonies sont le plus souvent entretenues par des fourmis (Hymenoptera :Formicidae) diminuant leur vulnérabilité aux ennemis naturels (Stewart-Jones *et al.*, 2008 ; Minarro *et al.*, 2010). Les dégâts causés par les pucerons sont le plus souvent indirects par baisse de vigueur de l'arbre via les déformations des organes photosynthétiques ou vasculaires.

Le puceron cendré, *Dysaphis plantaginea* : Ce puceron est le plus nuisible car ses piqûres provoquent de graves déformations des organes végétaux (feuilles et fruits) causant de fort dégâts au printemps (pour la description du cycle de vie voir, figure III.2). En effet, des réductions de rendement allant de 30% (Deberardinis *et al.*, 1994) à 80% sur verger abandonné (Qubbaj *et al.*, 2005) ont été observées. Il existe d'autres espèces de Dysaphis attaquant le pommier mais qui ne font pas l'objet de cette étude.

Les pucerons verts (*Rhopalosiphum insertum*, *Aphis pomi*, *Aphis spiraecola*): Morphologiquement très similaires, il n'est pas possible de les distinguer à même l'arbre. Ils ne piquent généralement que les feuilles mais peuvent aussi atteindre le fruit en cas de pullulation (Brown, 2004). Les œufs d'hiver déposés par les sexupares en automne près des bourgeons éclosent fin mars début avril. *Aphis pomi* a le pommier pour hôte permanent et peut effectuer jusqu'à 15 générations par an tandis que *Rhopalosiphum insertum* migre à la fin du printemps sur graminée et effectue jusqu'à 9 générations par an. Quant à *Aphis spiraecola*, il est anholocyclique en Europe méridionale et peut atteindre 40 générations par an.

~ *Les tordeuses des fruits*

Se nourrissant dans le fruit au stade larvaire, ces ravageurs causent des dégâts directs sur le fruit et donc impactent directement la récolte (Barnes, 1991). Adultes, ces papillons ont un vol crépusculaire.

Le carpocapse de la pomme (*Cydia pomonella*): Présent presque partout où l'on cultive des pommes, il est le ravageur le plus nuisible de cette culture pouvant entrainer une perte de rendement de 100% (Sauphanor and Dirwimmer, 2009). Jusqu'à 18 à 20 traitements sont réalisés au cours de la saison de production uniquement pour la lutte contre le carpocapse de la pomme (Boutin, 2001 ; Picard, 2007). Cette espèce qui présente 1 à 2 générations par an en France effectue une troisième génération partielle dans le sud du pays (voir la description de son cycle de vie, figure III.1).

La tordeuse orientale (*Grapholita molesta*) : Originellement ravageur des fruits à noyau, elle est de plus en plus observée sur pomme dans le sud de la France (Coupard and Ricaud, 2006 ; Sauphanor and Dirwimmer, 2009). Elle peut aussi causer des dégâts sur pousse telle une mineuse (Rothschild and Vickers, 1991). Son cycle de vie est similaire à celui du carpocapse de la pomme à l'exception d'une période de reproduction plus étendue allant de fin mars pour les premiers adultes de la génération hivernante à septembre-octobre pour les dernières pontes. Elle présente 4 générations par an qui se superposent.

2) Quels moyens de lutte intégrée contre ces ravageurs ?

Les programmes de lutte intégrée contre les ravageurs intègrent différentes stratégies de contrôle (Fig. I.1) dont la lutte biologique. Cette dernière se distingue des autres moyens de lutte par l'utilisation d'un organisme vivant appelé auxiliaire ou ennemi, qui par son activité, est capable de réduire ou de prévenir les effets d'une maladie ou d'un ravageur (Eilenberg *et al.*, 2001 ; Zehnder *et al.*, 2007). La lutte chimique (resp.biochimique) quant à elle consiste à épandre des matières actives d'origine synthétique (resp.biologique) sous forme de traitements, la lutte autocide ou biotechnique consiste à diminuer le taux de rencontre de partenaires fertiles, la lutte physique, mécanique ou culturale consiste à gêner le ravageur dans la réalisation de son cycle de vie. L'utilisation d'hôtes résistants (qui comprend celle d'organismes génétiquement modifiés) est fondée des génotypes qui limitent la prolifération des ravageurs soit par antibiose (production de substances répulsives voire toxiques pour le ravageur), soit par anti-xénose (rejet morphologique, physiologique ou phénologique du ravageur), soit par tolérance (faible sensibilité au ravageur).

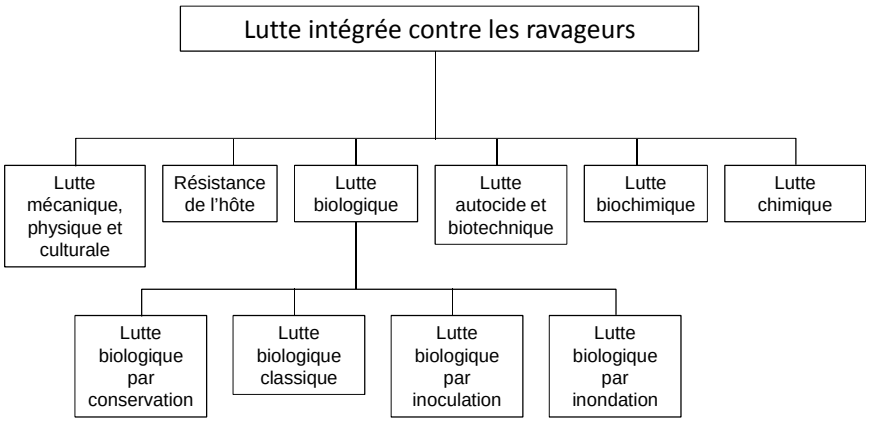


Figure I.1 : Diagramme récapitulatif des différents moyens de lutte intégrée contre les ravageurs. Traduit de Eilenberg et al.(2001).

3) Les avancées en lutte intégrée sur culture de pommiers

Cette brève revue des pratiques de lutte intégrée en culture de pommiers présentée ci-dessous s'inspire très largement du chapitre 4 de l'expertise collective de l'INRA et du CEMAGREF sous le thème Pesticide, Agriculture et Environnement (Aubertot *et al.*, 2005).

~ *La lutte chimique*

Les insecticides à large spectre d'action largement utilisés en lutte chimique conventionnelle tels que les pyréthrinoïdes et organophosphorés sont en cours de disparition. Les insecticides chimiques de type pyrimicarde et ethiophencarbe présentent une action aphicide sélective de même pour les acaricides clofentezine et hexythiazox et les régulateurs de croissance d'insectes diflubenzuron et fenoxycarbe. Cependant, des génotypes résistants de carpocapse de la pomme sont rapidement apparus pour les régulateurs de croissance.

~ *La lutte biochimique*

Les matières actives de ce mode de lutte sont produites par des organismes vivants. Il s'agit le plus souvent de spores ou enzymes de bactéries ou champignons ou d'extraits de plantes. Ce moyen de lutte n'est pas utilisé en pommier car les produits existants sont inefficaces sur ses ravageurs clés historiques malgré l'efficacité de *Bacillus Thuringiensis* sur la tordeuse orientale (Lacey and Shapiro-Ilan, 2008).

~ *Les luttes autocides et biotechniques*

Elles consistent à perturber la reproduction d'un ravageur soit part le lâcher de mâles stériles (lutte autocide), soit par la diffusion de phéromones mâles ou femelles en confusion sexuelle (lutte

biotechnique). Des essais de lâcher de mâles stériles de carpocapse de la pomme ont été réalisés depuis 1994 au sein d'un réseau expérimental international mais cette technique trop coûteuse n'est pas envisagée pour la commercialisation. A l'inverse, la lutte par confusion sexuelle des mâles contre le carpocapse de la pomme est en voie d'expansion en France surtout en agriculture biologique. Les produits à base de phéromone synthétique de tordeuse orientale ne sont pas homologués en culture de fruits à pépins en France. Ce mode de protection n'est donc pas utilisé sur pommiers.

~ *La résistance de l'hôte*

Parfois liée à la recherche de plantes OGM, elle consiste à créer des variétés tolérantes ou répulsives voire toxiques pour un ravageur/maladie ciblés. Des cultivars de pommiers présentent des résistances à la tavelure, au puceron cendré (Qubbaj *et al.,* 2005) et des tolérances à l'oïdium mais souvent leur expansion se heurte au manque d'intérêt du marché pour ces variétés.

~ *La lutte mécanique, physique et culturale*

L'acceptation par les producteurs des filets Alt'carpo (lutte physique) a été rapide depuis les premiers essais réalisés en 2005-2007. Ce filet installé en mono-rang ou en mono-parcelle forme une barrière physique de protection des fruits contre le carpocapse de la pomme. Les mesures prophylactiques pour réduire les populations de tordeuses consistent à poser des bandes pièges à l'automne sur les troncs des arbres, à éliminer les fruits piqués et à stocker les palox hors des vergers.

~ *La lutte biologique*

- La lutte biologique classique (Classical biological control): Introduction intentionnelle d'un auxiliaire exotique, qui a généralement co-évolué avec le ravageur ciblé, pour un établissement permanent et un contrôle du ravageur sur le long-terme.

D'une manière générale, la lutte biologique classique fut largement utilisée aux Etats-Unis dès le début du XX^{ième} siècle contribuant à de grands succès de protection des cultures (Van Driesche *et al.*, 2010). Néanmoins, le risque d'invasion non contrôlée ou de prédation sur des espèces non nuisibles sont autant d'effets délétères qui ont remis en question l'utilisation de cette technique. Kimberling (2004) a d'ailleurs proposé une démarche à suivre pour éviter des introductions à effets indésirables. Le lâcher de parasitoïdes en lutte biologique classique contre le carpocapse de la pomme semble peu efficace en verger comme par exemple en Allemagne avec des lâchers de Trichogramme. A l'inverse, l'introduction d'acarien Phytoséides a montré son efficacité sur acariens phytophages.

- La lutte biologique par inoculation (Inoculation biological control) : Lâcher intentionnel d'un organisme vivant auxiliaire dans le but qu'il se multipliera et contrôlera la population de ravageur pour une longue période mais pas définitivement.

Des lâchers inoculatifs de parasitoïdes contre les pucerons et le pou de San josé sont quelquefois entrepris. De plus, l'efficacité de la coccinelle *Harmonia axyridis* (P.) sur puceron a été évaluée et son application délaissée pour des raisons à la fois économique et de fiabilité en plus des problématiques de remplacement des espèces de coccinelle indigènes par cette espèce invasive.

- La lutte biologique par inondation (Inundation biological control) : Utilisation d'organismes vivants pour le contrôle de ravageurs lorsque ce contrôle est exclusivement obtenu par le lâcher des individus eux-mêmes.

Le virus de la granulose, commercialisé sous le terme carpovirusine, est couramment épandu en lutte microbiologique contre le carpocapse de la pomme (Lacey and Shapiro-Ilan, 2008) alors que les nématodes entomopathogènes qui ont fait l'objet d'une évaluation scientifique (Riga *et al.*, 2006 ; Navaneethan *et al.*, 2010) ne sont pas encore utilisés.

- La lutte biologique par conservation (Conservation biological control) : Modification de l'environnement ou des pratiques existantes pour protéger et augmenter des ennemis naturels ou autres organismes auxiliaires afin de réduire les effets des ravageurs.

La lutte biologique par conservation des ennemis naturels qui est au cœur de cette thèse a reçu généralement un intérêt plus tardif surtout en arboriculture fruitière et en est encore au stade de recommandations générales. Elle est la seule intégrant réellement la notion de biodiversité puisqu'elle s'appuie sur des assemblages d'ennemis naturels potentiellement présents dans le verger. Il existe des recommandations d'aménagement des parcelles comme la mise en place de haies composites et de nichoirs à oiseaux mais la preuve de leur réelle efficacité reste à établir. Les mésanges sont toutefois un groupe de prédateurs bien identifié pour la régulation des vers de la pomme s'installant facilement dans des nichoirs artificiels au sein des parcelles.

C. Fondements de la lutte biologique par conservation de la biodiversité fonctionnelle en verger de pommiers.

1) Le verger de pommiers comme agroécosystème

Le concept d'agroécosystème s'applique à un site ou une région de production agricole considéré comme un écosystème (Gliessman, 2006). Le verger de pommiers peut donc être défini comme l'unité fonctionnelle d'un agroécosystème de type arboriculture fruitière. D'autre part, l'écosystème est un système d'interactions complémentaires entre les organismes vivants et leur environnement, aux limites physiques arbitrairement choisies et dont l'équilibre dynamique est maintenu constant dans l'espace et le temps (Gliessman, 2006).

Un agroécosystème présente plusieurs composantes de biodiversité qui se distinguent selon leur rôle dans le fonctionnement du système de culture.

> *La composante productive : cultures, arbres et animaux choisis par les agriculteurs qui jouent un rôle déterminant dans la diversité et complexité de l'agroécosystème.*
>
> *La composante ressource : aussi appelée biodiversité fonctionnelle, elle représente les organismes participant à la réalisation de services écosystémiques d'intérêt agronomique en contribuant à la productivité de l'agroécosystème (encadré 2), comme la pollinisation, la régulation de ravageurs, la décomposition, etc.*
>
> *La composante destructive : les adventices, les insectes ravageurs, les pathogènes microbiens, etc, que les agriculteurs cherchent à réduire grâce aux pratiques culturales.*
>
> *Extrait de Swift et al (2004)*

Un agroécosystème a toutes ses composantes de biodiversité totalement ou en partie dirigées par l'activité anthropique, ce qui le différencie d'un écosystème naturel. Néanmoins, à partir du moment où l'on considère qu'une unité de production agricole est un agroécosystème, cela implique que les principes de fonctionnement d'un écosystème naturel pourraient aussi s'y appliquer. Ce point de vue a été le départ de l'agroécologie (Wezel *et al.*, 2009), discipline fondée sur l'écologie par l'extrapolation de ses résultats et méthodes au contexte agricole. Historiquement strictement appliqués, les travaux menés actuellement en agroécologie ont un intérêt à la fois appliqué et fondamental comme le prouvent les publications récentes dans des journaux scientifiques de référence en écologie (e.g. Finke and Denno, 2004 ; Cardinale *et al.*, 2006 ; Macfadyen *et al.*, 2009).

Encadré 2

Quels services écosystémiques sont rendus par la biodiversité en verger de pommier ?

Les services écosystémiques sont les bénéfices que les humains retirent du fonctionnement des écosystèmes sans avoir à agir pour les obtenir (Millenium Ecosystems Assessment). Ils proviennent donc des fonctions de l'écosystème. L'ensemble des fonctions correspond au nombre minimum de processus agrégés biochimiques, biophysiques et biologiques, qui assure la productivité biologique, l'intégrité organisationnelle et la perpétuation de l'écosystème (Swift *et al.*, 2004). Le groupe des espèces qui ont le même effet sur une fonction est un groupe fonctionnel.

Au sein d'un agroécosystème tel que le verger de pommier, de nombreuses fonctions et de nombreux groupes fonctionnels interviennent dans la réalisation de services d'intérêt agronomique (tableau I.3).

Services écosystémiques	Fonctions écosystémiques	Groupes fonctionnels clé
Cycle des nutriments	Décomposition Minéralisation et autres transformations élémentaires	Décomposeurs Transformateurs élémentaires
Régulation de la circulation et des réserves en eau	Synthèse de matière organique du sol Régulation-agrégat de la structure du sol et formation de pore	Décomposeurs Ingénieurs de l'écosystème
Régulation du mouvement du sol et sédiments	Protection du sol Synthèse de matière organique du sol Mainten de la structure du sol	Plantes Décomposeurs Ingénieurs de l'écosystème
Régulation des populations biologiques incluant des maladies et ravageurs	Métabolisme secondaire de la plante Pollinisation Herbivorie Parasitisme Micro-symbiose Prédation	Plantes Pollinisateurs Herbivores Parasites Micro-symbiotes Hyper-parasites, prédateurs
Détoxification des risques chimiques et biologiques incluant la purification de l'eau	Décomposition Transformation élémentaire	Décomposeurs Transformateurs élémentaires
Régulation de la composition atmosphérique et du climat	Emission de gaz à effet de serre	Décomposeurs, Transformateurs élémentaires, plantes, herbivores

Tableau I.3 : Relation entre les groupes fonctionnels clés, les fonctions écosystémiques qu'ils accomplissent et les services qu'ils fournissent. Traduit de Swift et al. (2004).

2) Les enseignements de l'écologie

~ *La composition en espèces d'un écosystème joue sur son fonctionnement*

La lutte biologique par conservation se rapproche des disciplines de l'écologie des communautés en ce qu'elle recherche la composition de la communauté la plus à même de réguler le ravageur ciblé. Plusieurs hypothèses sont toujours débattues sur la forme que prend la relation entre la richesse spécifique d'un écosystème, c'est-à-dire son nombre d'espèces, et son fonctionnement (Figure I.2). Cependant, la forme de type 2 qui présente un seuil de richesse spécifique pour lequel le fonctionnement de l'écosystème est maximal est la plus couramment avancée (Tscharntke *et al.*, 2005).

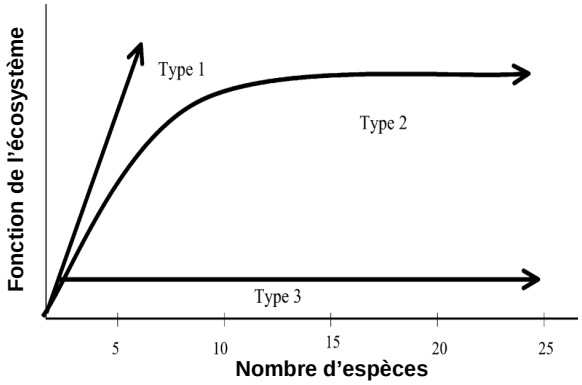


Figure I.2 :Relations possibles entre diversité spécifique et fonctions de l'écosystème dans le cas du sous-système plante.(de Vitousel et Hooper, 1993)

D'une manière générale, il est admis que le maintien de l'équilibre d'un écosystème est plus probable lorsque celui-ci présente une forte richesse spécifique (Loreau *et al.*, 2001). Il faut discerner deux raisons justifiant cet axiome :

L'hypothèse d'assurance, "the insurance hypothesis",(Yachi and Loreau, 1999).

Plus il y a d'espèces, plus la probabilité de maintenir des effets positifs et réguliers sur le fonctionnement de l'écosystème sera forte face aux aléas associés à la variabilité environnementale. L'adaptabilité des espèces aux variations environnementales étant limitée, la biodiversité assure l'écosystème contre la perte de fonctionnalité face aux fluctuations ou perturbations environnementales. L'importance de cette assurance peut être estimée par la redondance fonctionnelle qui correspond à l'ensemble des espèces ayant la même fonction dans l'écosystème (Petchey and Gaston, 2006).

L'effet d'échantillonnage, "the sampling effect"(Loreau and Hector, 2001): Une augmentation de la richesse spécifique augmente la probabilité que des espèces particulièrement influentes sur la réalisation d'une ou plusieurs fonctions de l'écosystème soient présentes dans l'assemblage. Elle est liée donc à l'identité fonctionnelle des espèces que l'on peut caractériser par l'ensemble des traits d'histoire de vie qui expliquent sa fonction dans l'écosystème, appelés aussi traits fonctionnels.

Nous pouvons introduire aussi le concept d'effet de sélection, "the selection effect " (Loreau and Hector, 2001) comme un cas extrême de l'effet d'échantillonnage appliqué à la fonction de régulation de ressource. Par effet de sélection, les espèces les plus compétitives exploitent la ressource plus intensément que les espèces moins compétitives et donc dominent numériquement l'assemblage des prédateurs par processus de marginalisation et d'exclusion des espèces compétitivement inférieures.

- *Les dynamiques démographiques des espèces sont influencées par la structure du réseau trophique.*

Un réseau trophique regroupe l'ensemble des interactions consommateurs-ressources d'un écosystème. Selon le nombre de niveaux du réseau, la complexité et l'intensité de ses connexions, les effets démographiques sont répercutés différemment d'un niveau à l'autre d'une chaine alimentaire. On distingue l'effet top-down qui implique que le contrôle de la chaine du réseau se fait du consommateur final vers la ressource primaire. A l'inverse, l'effet bottom-up correspond à une répercussion du bas de la chaine vers le haut des effets démographiques.

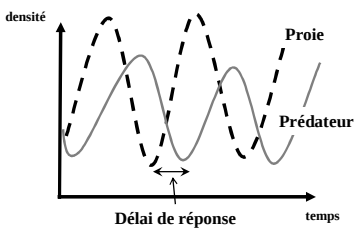
La lutte biologique cherche à conserver la population de ravageurs ou ses effets sur la production en dessous d'un niveau économique. Historiquement, il a été avancé que seul un équilibre bas et stable du ravageur par son ennemi naturel permettait d'atteindre cet objectif (Riechert and Lockley, 1984 ; Murdoch *et al.*, 1985). Les modèles théoriques et les études de cas réels ont ensuite montré que la solution d'un équilibre démographique du ravageur bas et stable n'est pas toujours obtenue et nécessaire pour un contrôle biologique efficace (Murdoch *et al.*, 1985). On peut aussi l'obtenir par des populations fluctuantes de proies et/ou d'ennemis sujettes à extinctions locales. Alors que le modèle d'équilibre stable et bas imposait l'intervention d'un ennemi spécialiste, la relaxation de cette hypothèse ne l'impose plus. En effet, une des propriétés du prédateur généraliste étant le découplage de sa dynamique avec celle de sa proie (encadré 3), l'hypothèse d'un contrôle biologique par un prédateur généraliste à l'équilibre démographique est aussi envisageable.

Encadré 3

Prédateurs spécialistes versus prédateurs généralistes

Le tableau I.4 présente les caractéristiques des stratégies de prédation des spécialistes et des généralistes (Murdoch *et al.*, 1985)

	Spécialiste Stratégie Search & destroy	Généraliste Stratégie Lying and wait
Régime alimentaire	Monophagie	Polyphagie
Réponse fonctionnelle	Type II	Type II ou III
Réponse numérique	Forte	Faible à moyenne
Temps de génération	inférieur ou égal à celui de sa proie	égal ou supérieur à celui de ses proies
Temps de résidence dans une parcelle	Variable colonisation puis extinction/migration selon la population de la proie	Résident changements réguliers de proie cible
Conséquence sur le couplage des dynamiques proie-prédateur	Fort potentiel de déstabilisation de l'équilibre démographique	Faible Potentiel de stabilisation de l'équilibre démographique



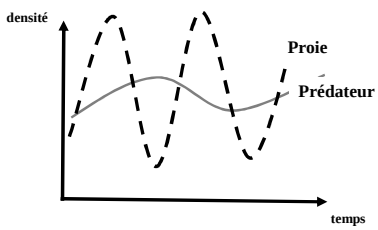


Tableau I.4 : Comparaison des caractéristiques biologiques et comportementales expliquant leur effet sur l'équilibre démographique d'une proie

Le délai de réponse dans la dynamique du prédateur spécialiste correspond en lutte biologique au décalage entre l'émergence du ravageur dans une parcelle et l'arrivée du prédateur soit par migration soit par reproduction. Plus ce délai sera long plus le risque de pullulation sera fort.

~ *L'occurrence des espèces dans un paysage dépend des facteurs environnementaux à plusieurs échelles.*

Une communauté se définit comme un assemblage de deux ou plusieurs populations d'espèces différentes occupant la même zone géographique. Il est largement admis (figure I.3) que l'influence des processus environnementaux sur la présence d'une espèce dans une communauté se fait à

plusieurs échelles (Duelli, 1997 ; Zobel, 1997 ; Schweiger *et al.*, 2005 ; Tscharntke *et al.*, 2005). A l'échelle du paysage, le groupe régional d'espèces (regional pool) représente l'ensemble des espèces pouvant potentiellement coexister dans une communauté particulière. Il est principalement déterminé par l'histoire du climat et par des aspects environnementaux (Tscharntke *et al.*, 2005). De plus, il a été montré que plus un habitat est répandu à l'échelle du paysage, plus le nombre d'espèces du groupe régional qui lui est adapté est grand (Zobel, 1997).

A plus petite échelle, le groupe local d'espèces représente l'ensemble des espèces présentes dans le paysage proche d'une communauté donnée, capable d'y coexister et d'y migrer rapidement (Zobel, 1997). Il est déterminé par l'hétérogénéité du paysage et sa fragmentation qui déterminent la quantité et l'isolement d'habitats équivalents (conditions biotiques et abiotiques) pouvant être atteints par dispersion. Le groupe actuel d'espèces d'une communauté est donc issu du double filtrage des interactions biotiques et des facteurs abiotiques (conditions physico-chimiques) du groupe local. Le groupe actuel d'une communauté évolue sans cesse par des processus d'exclusion/extinction puis de recolonisation d'espèces depuis le groupe d'espèces local.

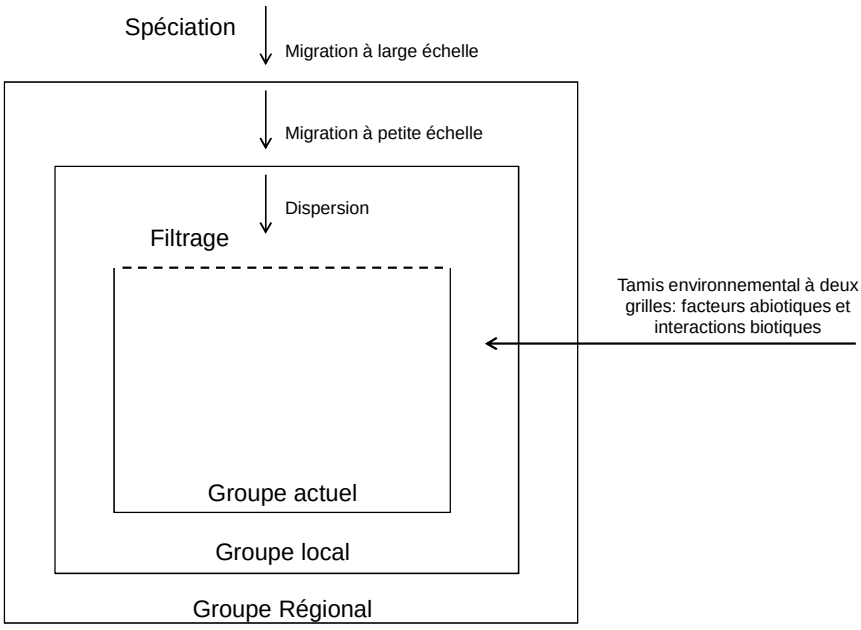


Figure I.3 : Le rôle des processus à petite et large échelle déterminant les richesses spécifiques. Extrait de Zobel (1997).

3) Implications spécifiques dans l'étude de la régulation de ravageurs dans un agroécosystème.

~ *L'érosion de la biodiversité consécutive de la simplification et intensification du paysage agricole conduit à la perte de contrôle des herbivores par les auxiliaires*

L'accélération de la mutation agricole après la seconde guerre mondiale par la généralisation de la mécanisation et le recours aux intrants a conduit à une simplification de la mosaïque paysagère à toutes les échelles ainsi qu'à une intensification des perturbations anthropiques (tableau I.5). Par exemple, la diminution de surfaces en habitats naturels et de leur connectivité (fragmentation) en limitant les zones de refuge et/ou source est une cause connue de l'érosion de la biodiversité (Bianchi *et al.*, 2006). Les agroécosystèmes présentent maintenant des carences fonctionnelles associées à la perte de services agronomiques que leurs communautés n'assument plus totalement (contrôle des ravageurs, nutrition azotée) (Bianchi *et al.*, 2006). Le besoin en intrants (pesticides, engrais, etc) à fort impact négatif sur la biodiversité s'est donc accru pour compenser ces dysfonctionnements enclenchant ainsi un cercle vicieux. L'effet des traitements pesticides sur la biodiversité a été d'abord étudié en comparant des exploitations en agriculture conventionnelle et biologique. Elles font état pour la plupart des taxa, d'un impact négatif à la fois sur l'abondance et la diversité spécifique (Bengtsson *et al.*, 2005 ; Hole *et al.*, 2005). Certaines études ont aussi montré une moindre régulation des ravageurs par la biodiversité fonctionnelle en agriculture conventionnelle (Ostman *et al.*, 2001 ; Macfadyen *et al.*, 2009 ; Crowder *et al.*, 2010 ; Geiger *et al.*, 2010). L'effet de la structure du paysage et de sa composition à plusieurs échelle a aussi été étudié (Clough *et al.*, 2005 ; Roschewitz *et al.*, 2005 ; Schweiger *et al.*, 2005 ; Tscharntke *et al.*, 2005 ; Hendrickx *et al.*, 2007). Il a été mis en évidence que la fragmentation du paysage est généralement plus défavorable aux ennemis naturels qu'aux herbivores, leur échelle d'action étant plus large (Bengtsson *et al.*, 2005 ; Bianchi *et al.*, 2006 ; Chaplin-Kramer *et al.*, 2011).

Intensification à l'échelle locale	Intensification à l'échelle du paysage
Réduction des cycles de rotation des cultures	Spécialisation des agriculteurs pour une ou quelques cultures à la place d'un mix de cultures
Diminution de la diversité des cultures (minimisation du couvert sous semis, des cultures intercalaires, de la polyculture, des cultures fixatrices)	Conversion des habitats pérennes (prairies) en terres arables
Augmentation de l'apport en engrais minéraux	Destruction des structures de bordure (haies, bords de champs, zones tampon le long de ruisseau)
Augmentation de l'apport en pesticides (herbicides, fongicides, insecticides, etc)	Remembrement pour élargir les champs et les regrouper en exploitations compactes
Semis de céréales d'hiver et non de printemps	Simplification des mosaïques paysagères avec un nombre de type d'exploitation limité dans le temps et l'espace augmentant l'homogénéité spatiale.
Mise en application de cultures génétiquement modifiées	Perte des exploitations traditionnelles extensives
Labour profond et non un travail superficiel du sol	Evitement des jachères et des champs/vergers/prairies abandonnés
Monocultures de variétés à fort rendement	Réduction de la résistance à l' invasion d'espèces introduites
Agriculture mécanisée	Baisse de la nappe phréatique à l'échelle du paysage
Baisse de la nappe phréatique par drainage	Fragmentation de l'habitat naturel

Tableau I.5 : Pratiques d'intensification agricole aux échelles locale et paysagère. Traduit de Swift et al., 2004.

- *L'augmentation de la richesse spécifique et la densité des auxiliaires implique-t-elle un contrôle plus efficace ?*

Cette question centrale de la lutte biologique par conservation est complexe et très débattue (Straub *et al.*, 2008 ; Letourneau *et al.*, 2009). D'un côté, il a été observé que les assemblages de prédateurs riches en espèces réussissent mieux à réguler les populations de ravageurs que les assemblages plus pauvres (Cardinale *et al.*, 2006 ; Snyder *et al.*, 2006 ; Letourneau *et al.*, 2009). De l'autre, la suppression du ravageur n'est souvent attribuable qu'à un seul ennemi naturel dominant dans l'assemblage des prédateurs (Straub *et al.*, 2008). Le premier cas illustre l'effet d'échantillonnage, le second cas, l'effet de sélection. Dans l'état actuel des connaissances, l'idée qu'il faille privilégier un fort contrôle top-down sur les herbivores par un à quelques ennemis naturels dominant l'assemblage est donc quelquefois privilégiée (Straub *et al.*, 2008). Mais son pendant inverse l'est aussi en se basant sur des principes de complémentarité de niches (Finke and Snyder, 2010) et d'hypothèse d'assurance (Tscharntke *et al.*, 2005 ; Letourneau *et al.*, 2009). En conséquence, il existe actuellement deux voies de recherche basées sur ces deux questions distinctes : 1) Pourquoi un assemblage riche de prédateurs est-il plus ou moins efficace pour contrôler un herbivore qu'un assemblage pauvre ? et 2) Comment un ennemi naturel est-il efficace ?

Comprendre la relation entre biodiversité et régulation implique de discerner deux effets confondants la richesse spécifique et la densité en prédateurs (Perfecto *et al.*, 2004 ; Straub and

Snyder, 2006a ; Griffiths *et al.*, 2008). Pour discerner ces effets, les chercheurs ont souvent recours à des réseaux trophiques simplifiés en construisant des communautés artificielles en microcosme pour contrôler la richesse et la densité en ennemis naturels (exemples : Snyder and Ives, 2001 ; Erbilgin *et al.*, 2004 ; Aquilino *et al.*, 2005 ; Koss and Snyder, 2005 ; Straub and Snyder, 2006b ; Gavish-Regev *et al.*, 2009 ; Worsfold *et al.*, 2009). Selon la nature des interactions prédateurs-proies et prédateurs-prédateurs testées les effets de la richesse spécifique et de la densité peuvent être positifs, neutres ou négatifs (Straub and Snyder, 2006b ; Griffiths *et al.*, 2008 ; Straub *et al.*, 2008 ; Letourneau *et al.*, 2009) (figure I.4). L'encadré 4 présente ces interactions prédateurs-prédateurs.

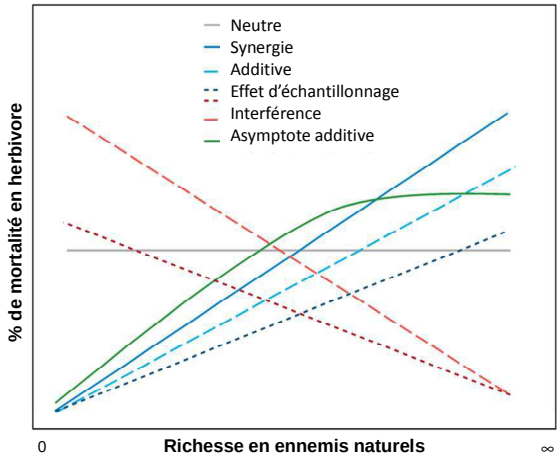


Figure I.4 : Possibles effets émergeant de la diversité en ennemis naturels sur l'intensité de suppression ou sur la taille des populations d'herbivores selon si l'interaction parmi les espèces d'ennemis naturels est positive (soit par effet additif, synergétique, ou d'échantillonnage positif), neutre (soit par interaction minimale ou annulation d'effets positifs et négatifs) ou antagoniste (via interférence par prédation intraguilde, compétition, perturbation, ou effet d'échantillonnage), interaction qui est décrite comme linéaire mais qui peut être non linéaire (exemple de l'effet asymptotique additif en vert). Traduit de Letourneau et al. (2009).

Définir les raisons pour lesquelles un ennemi naturel est efficace revient à trouver quels traits fonctionnels expliquent son efficacité (Casula *et al.*, 2006 ; Schmitz, 2007, 2008). L'objectif est de trouver pourquoi certains ennemis naturels sont plus efficaces à réguler un type de ravageur plutôt qu'un autre selon des critères objectifs et mesurables tels que l'habitat, la mobilité, etc (Schmitz, 2007, 2008). On cherche dans cette démarche à caractériser le degré de fonctionnalité d'un assemblage par des indices de diversité, de redondance et de complémentarité fonctionnelles, et donc d'en prévoir son efficacité (Casula *et al.*, 2006 ; Petchey and Gaston, 2006).

Encadré 4

Principales interactions prédateurs prédateurs

On définit quatre catégories d'interactions prédateurs-prédateurs (Losey and Denno, 1998) :

1. Absence d'interaction : Prédateurs n'interagissant pas.
2. Prédation intraguilde : Prédateurs qui s'attaquent et se consomment entre eux
3. Interférence : Prédateurs qui influencent le comportement ou la cible de prospection d'un autre prédateur.
4. Facilitation : Prédateurs qui influencent le comportement des proies et ainsi affectent sa vulnérabilité aux autres prédateurs

Les interactions prédateurs-prédateurs ont un effet positif sur la suppression de proies en cas de non interaction (additif) et facilitation (synergique). A l'inverse, elles ont un effet antagoniste en cas de prédation intraguilde et d'interférence.

~ *Quelles structures du paysage et pratiques culturales favorisent les ennemis naturels ?*

Nous savons que les communautés d'un écosystème sont composées à partir du pool régional d'espèces suite à un processus de filtrage environnemental depuis les habitats environnants. Il est donc possible de favoriser les ennemis naturels recherchés en privilégiant les conditions environnementales qui leur sont associées. Ces conditions environnementales se décrivent par une gamme de biodiversité et des conditions physico-chimiques associées. Or la gestion de l'agroécosystème, par l'aménagement des structures paysagères et des pratiques culturales à différentes échelles, permet d'orienter la biodiversité associée aux ennemis naturels pour augmenter leur abondance (Duelli, 1997 ; Altieri, 1999 ; Landis *et al.*, 2000 ; Swift *et al.*, 2004 ; Fiedler *et al.*, 2008) (figure I.5). En effet, on observe généralement un impact positif de la complexité du paysage, en termes d'hétérogénéité spatiale apportée par la diversité et la proximité des habitats productifs et non productifs, sur l'abondance et la diversité en ennemis naturels (Hendrickx *et al.*, 2007 ; Jonsson *et al.*, 2008 ; Chaplin-Kramer *et al.*, 2011). De plus, il apparait que les prédateurs spécialistes sont affectés par la complexité du paysage à une échelle plus petite que les prédateurs généralistes (Chaplin-Kramer *et al.*, 2011).

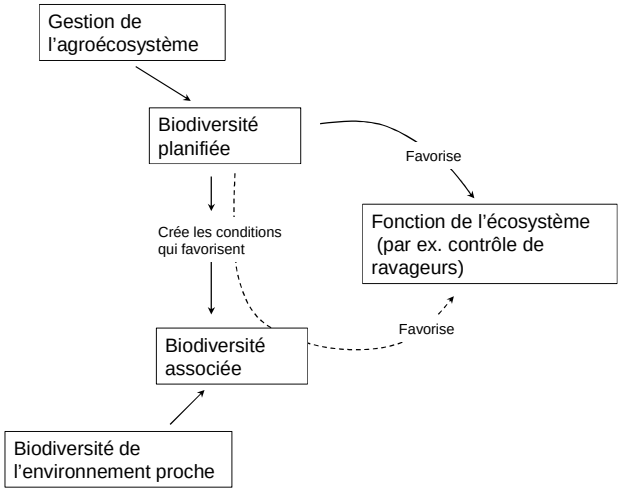


Figure I.5 : La relation entre la biodiversité planifiée (celle que l'agriculteur détermine, basée sur la gestion de l'agroécosystème) et associée (celle qui colonise l'agroécosystème suite à sa gestion par l'agriculteur) et comment les deux favorisent la fonction de l'écosystème. Traduit de Altieri (1999)

On distingue deux principaux types de besoins des ennemis naturels qui peuvent être satisfaits par la gestion de l'habitat (Landis *et al.*, 2000 ; Jonsson *et al.*, 2008):

Besoin en micro-habitat, macro-habitat et/ou refuge : Certains ennemis naturels prospectent dans les cultures mais sont inféodés pour une partie ou la totalité de leur cycle à des structures non productives telles que les haies et murs, voir à des zones non productives telles que les jachères et habitats naturels. La part de ces structures et zones dans le paysage et leur proximité avec les cultures déterminent donc la présence de ces ennemis. D'autres ont besoin de zones refuges telles que les bandes enherbées pour migrer lors de perturbations anthropiques fortes (labour, récolte, etc) et donc ainsi éviter de fortes mortalités, la recolonisation se faisant ensuite depuis ces zones refuges. Enfin, l'absence de micro-habitat favorable au sein de la culture est préjudiciable à l'installation de populations d'ennemis naturels. Ces micro-habitats sont caractérisés par la composition et la structure de la végétation du couvert sous la culture principale.

Besoin en ressource alternative : Cela peut être un besoin en nectar et pollen ou en proies et hôtes alternatifs selon les ennemis naturels. Il s'agit d'attirer et soutenir les populations d'ennemis naturels en absence de ravageurs et/ou aux stades de leur développement pendant lesquels ils ne sont pas consommateurs de ravageurs. Afin d'éviter l'effet antagoniste issu de l'exploitation d'une ressource supplémentaire par les ravageurs, les études s'efforcent de sélectionner des sources de nourriture uniquement consommées par les ennemis naturels.

Enfin, la gestion de l'habitat peut aussi influencer l'efficacité des ennemis naturels en modifiant leur comportement. En effet, il a été observé des modifications des interactions prédateurs-proies

(Aquilino *et al.*, 2005) et prédateurs-prédateurs (Schmidt and Rypstra, 2010) selon la structure du couvert végétal.

4) Synthèse des études menées en lutte biologique par conservation en verger de pommiers

Une synthèse des études menées en lutte biologique par conservation sur les prédateurs des tordeuses et pucerons ravageurs de pommiers est présentée dans le tableau I.6. Une grande diversité de taxa a été observée illustrant la complexité des communautés dans les vergers de pommiers certainement due à sa pérennité et à la structure complexe de sa végétation. Même si la plupart des ennemis naturels ne sont identifiés que pour un seul type de ravageurs, certains le sont pour les deux (cas des forficules et punaises prédatrices pour tordeuses et pucerons). Les méthodes utilisées pour suivre leur prédation sont variées du test en laboratoire jusqu'au suivi des dynamiques de populations sur plusieurs années. Par ailleurs, les effets de la protection contre les ravageurs sur la diversité et abondance des ennemis naturels ont été décelés par la comparaison de vergers traités et de vergers non traités ou en agriculture biologique. Enfin, la gestion de l'habitat favorable au prédateurs a été étudiée à l'échelle locale voir intra-parcellaire (gestion du couvert végétal, de l'intra-rang, etc). Je détaillerai l'état des connaissances sur les prédateurs étudiés dans le chapitre II de cette thèse.

Pour conclure ce chapitre, la lutte biologique par conservation des ennemis naturels des ravageurs de la pomme, plus particulièrement des prédateurs des tordeuses et des pucerons, reçoit un intérêt scientifique croissant. En effet, il existe un certain nombre d'études traitant des questions d'identification de ces agents de contrôle, de quantification de leur prédation et de détermination des conditions environnementales qui leur sont favorables. Cependant, en pratique, ces résultats ne sont pas encore exploitables pour adapter les itinéraires techniques des arboriculteurs à ce moyen de lutte et seules des recommandations générales sont actuellement disponibles.

	Prédation de tordeuses	Prédation de pucerons	Effet de la protection des ravageurs	Effet de la gestion de l'habitat
Acariens		(Cuthbertson *et al.*, 2003)	(Simon *et al.*, 2007)	
Araignées		(Brown, 2004)	(Bogya and Marko, 1999 ; Pekar and Kocourek, 2004 ; Simon *et al.*, 2007 ; Marko *et al.*, 2009 ; Minarro *et al.*, 2009)	(Wyss, 1995 ; Bogya and Marko, 1999 ; Bogya *et al.*, 1999 ; Mathews *et al.*, 2004 ; Fréchette *et al.*, 2008 ; Minarro *et al.*, 2009 ; Sackett *et al.*, 2009 ; Herrmann *et al.*, 2010)
Carabes,Cicindelles et Staphylins	(Glen and Milsom, 1978 ; Hagley and Allen, 1988 ; Riddick and Mills, 1994 ; Epstein *et al.*, 2001 ; Mathews *et al.*, 2004)		(Epstein *et al.*, 2001 ; Labrie *et al.*, 2003 ; Simon *et al.*, 2007 ; Minarro *et al.*, 2009 ; Funayama, 2011)	(Minarro and Dapena, 2003 ; Mathews *et al.*, 2004 ; Minarro *et al.*, 2009)
Chrysopes		(Brown, 2004 ; Dib *et al.*, 2010)	(Simon *et al.*, 2007)	(Wyss, 1995, 1996 ; Fréchette *et al.*, 2008)
Coccinelles		(Kehrli and Wyss, 2001 ; Brown, 2004 ; Minarro *et al.*, 2005 ; Dib *et al.*, 2010 ; Brown, 2011)	(Kehrli and Wyss, 2001 ; Simon *et al.*, 2007)	(Wyss, 1995, 1996 ; Spellman *et al.*, 2006 ; Fréchette *et al.*, 2008)
Diptères		(Brown, 2004 ; Minarro *et al.*, 2005 ; Dib *et al.*, 2010 ; Dib *et al.*, 2011)	(Simon *et al.*, 2007)	(Wyss, 1995, 1996)
Forficules	(Glen, 1977)	(Mueller *et al.*, 1988 ; Nicholas *et al.*, 2005 ; Dib *et al.*, 2010 ; Dib *et al.*, 2011)	(Nicholas *et al.*, 2005)	(Mathews *et al.*, 2004)
Passereaux	(Glen and Milsom, 1978 ; Solomon and Glen, 1979 ; Mols and Visser, 2002 ; Mols *et al.*, 2005)			
Punaises	(Glen, 1977)	(Brown, 2004 ; Dib *et al.*, 2010)		(Wyss, 1995, 1996 ; Fréchette *et al.*, 2008)

Tableau I.6 : Tableau synthèse des études sur les ennemis naturels des tordeuses et pucerons ravageurs en vergers de pommiers.

Chapitre II. Démarche, matériels et méthodes

A. Une démarche commune à quatre groupes de prédateurs

1) Focus sur quatre groupes de prédateurs généralistes

Certaines études menées en verger de pommiers sur les prédateurs généralistes (Hagley and Allen, 1988 ; Brown, 2004 ; Dib *et al.*, 2010) ont conclu à leur inefficacité à réguler les pucerons et tordeuses. Néanmoins, il existe deux principales raisons qui poussent à remettre en cause ces conclusions. Premièrement, ces études ciblaient des périodes de régulation pendant les phases exponentielles d'accroissement des populations de ravageurs de mai à juillet pour les tordeuses, d'avril à juin pour les pucerons en région méditerranéenne. Or, les stratégies *search and destroy* des prédateurs spécialistes (encadré 3) qui cherchent puis consomment une grande quantité de proies sont plus à même d'avoir un potentiel régulateur suffisant pendant ces périodes. A l'inverse, la stratégie *lying and wait* des prédateurs généralistes est décrite pour son potentiel régulateur pendant les phases non exponentielles des ravageurs donc en sortie de phases dormantes (diapause/œufs d'hiver) et/ou en migration (Symondson *et al.*, 2002). En effet, l'opportunisme alimentaire caractérisant ces prédateurs limite leur capacité de consommation d'une proie particulière. De plus, leur temps de génération généralement plus long que celui des ravageurs ralentit leur réponse reproductive face à un fort accroissement de la population du ravageur (Murdoch *et al.*, 1985 ; Kuusk and Ekbom, 2010). Enfin, les suivis ont été menés pour déceler une réponse numérique agrégative des prédateurs généralistes (par ex. Brown, 2004). Or, ce type de comportement agrégatif est plutôt observé pour la stratégie *search and destroy* même s'il est généralement admis qu'un prédateur généraliste reste plus longtemps dans un site riche en proies. Mais de nouveau son opportunisme alimentaire fait que le site riche en proie n'est pas toujours le site riche en ravageurs...C'est pourquoi, cette thèse continue à s'intéresser à certains de ces prédateurs généralistes sur lesquels des travaux ont été initiés (tableau I.6).

- ~ *Les arthropodes du sol*

Parmi les arthropodes du sol, les deux principaux taxa auxquels nous nous sommes intéressés sont les carabes (adultes uniquement) et les araignées du sol. Il existe des publications sur la prédation du carpocapse de la pomme par les carabes mais aucune par les araignées du sol. L'intérêt des carabes dans le contrôle des tordeuses a été jugé quelquefois limité car ils ne peuvent pas atteindre les larves

diapausantes qui trouvent leur refuge hivernal sous l'écorce des arbres (Glen and Milsom, 1978 ; Hagley and Allen, 1988). Par ailleurs, les travaux portant sur la gestion de l'habitat se sont focalisés sur celle du couvert végétal dans le rang. Ils montrent que le type de couvert (du couvert artificiel plastifié au mulch organique) influence la composition de la communauté des arthropodes du sol (Minarro and Dapena, 2003 ; Mathews *et al.*, 2004). A l'inverse, le type de fertilisation ne l'influençerait pas (Minarro *et al.*, 2009). Par ailleurs, les populations d'araignées apparaissent comme faiblement affectées par la protection chimique contre les ravageurs (Bogya and Marko, 1999). L'objectif de progression pour ce groupe concernera donc l'évaluation de leur potentiel de régulation des tordeuses ainsi que l'impact de la gestion du verger et des structures paysagères sur la composition de leur communauté.

~ *Les araignées de la frondaison*

Il s'est avéré étrange de constater que les araignées de la frondaison sont parfois considérées comme des agents de contrôle de pucerons en vergers de pommiers alors qu'aucune étude ne le démontre formellement et certaines même le réfutent (Brown, 2004 ; Dib *et al.*, 2010). L'effet des traitements insecticides sur leur diversité et abondance a été bien étudié montrant que celles-ci avaient une forte capacité de résilience après des traitements notamment grâce à la recolonisation depuis des milieux adjacents des vergers par dispersion aérienne (Marko *et al.*, 2009). En effet, si les abondances observées entre vergers traités et non traités sont assez similaires, la diversité en espèces est moindre en verger traités (Pekar and Kocourek, 2004). Enfin, il est reconnu que l'âge des arbres (Pekar and Kocourek, 2004) et l'isolement des vergers par rapport à un habitat boisé (Herrmann *et al.*, 2010) influencent la composition de la communauté. Compte tenu de ces résultats, nous chercherons donc à mettre en évidence l'efficacité de ce groupe de prédateurs dans la régulation des pucerons et à caractériser l'effet des structures paysagères sur la composition de leur communauté.

~ *Les chauves-souris*

A notre connaissance, il n'existe pas d'étude sur la régulation de tordeuses de la pomme par les chauves-souris même s'il a déjà été observé que le carpocapse de la pomme faisait partie du régime alimentaire d'une espèce canadienne (Clare *et al.*, 2009). L'objectif pour ce groupe était d'observer des événements de prédation et d'évaluer l'utilisation de gîtes artificiels dans les haies des vergers comme outils de gestion de leur habitat.

~ *Les mésanges*

L'intérêt des mésanges notamment de la mésange charbonnière, *Parus major* (Passeriformes : Paridae), dans la régulation du carpocapse de la pomme, est avéré (Glen and Milsom, 1978 ; Mols and Visser, 2002 ; Mols *et al.*, 2005 ; Mols and Visser, 2007). Il a en effet été montré que les mésanges installées dans des nichoirs artificiels placés dans les vergers pouvaient réduire l'abondance de larves diapausantes du carpocapse de la pomme (Mols and Visser, 2007). Un dispositif de nichoirs artificiels a donc été mis en place en 2008 pour déterminer les facteurs limitant la colonisation et l'abondance de mésanges dans les vergers. L'objectif pour ce groupe était de tester l'utilisation de la PCR diagnostique pour suivre la consommation de tordeuses par les mésanges qui utilisent ce dispositif.

2) Quelle efficacité de régulation de ces prédateurs ? Une démarche en trois étapes

Cette thèse suivra un plan selon trois axes d'évaluation de l'efficacité de régulation des quatre groupes de prédateurs.

~ *Définir les périodes d'action des prédateurs → Chapitre III*

Ce premier axe a pour objectif de mettre en évidence le lien trophique entre prédateur et ravageur pour mettre en évidence les prédateurs potentiels et leur complémentarité. Il répond aux questions suivantes

- Quelles espèces consomment des ravageurs ? Et à quels stades du ravageur et périodes de l'année ?
- Quel est l'intensité du lien trophique décelé ?
- Quels recoupements entre périodes d'activité des prédateurs et de vulnérabilité des ravageurs ?

~ *Estimer la mortalité en fonction de leur diversité et densité → Chapitre IV*

Ce deuxième axe cherche à décrire la relation de mortalité des ravageurs en fonction de la densité des prédateurs retenus comme agents de contrôle potentiel dans l'axe précédent et de la diversité des assemblages dans lequel ils se trouvent. Il étudie les questions suivantes :

- Quelle est la réponse fonctionnelle et numérique individuelle du prédateur ?
- Existe-t-il des interactions prédateurs-prédateurs perturbant leur potentiel de régulation ?

- Quelle est la réponse fonctionnelle et numérique collective de l'assemblage de prédateurs ?

Quantifier la mortalité en conditions réelles s'avère très difficile ce qui a exclu la possibilité de conclure sur ce point. Cependant, des protocoles et méthodes d'analyse ont été entrepris dans cette thèse et leur intérêt méthodologique sera discuté.

~ *Caractériser l'environnement qui favorise leur efficacité → Chapitre V*

Ce troisième axe s'appliquera à discerner quels éléments du paysage influencent les communautés de prédateurs. On envisagera les questions suivantes :

- Quelles échelles de gestion de l'agroécosystème, intra ou extra verger, structurent le plus les communautés observées ?
- A quel point les communautés du verger sont-elles déterminées par les structures du paysage ?
- La composition de la communauté des prédateurs impacte-t-elle sa fonctionnalité ?

De même, les travaux entrepris portant sur un nombre limité de vergers ne permettent pas de conclure définitivement sur cet axe. Ils ont néanmoins permis de dégager des perspectives de recherches.

A partir des éléments rassemblés dans ces trois axes, il nous sera alors possible de discuter de l'efficacité des prédateurs étudiés en tant qu'agents de contrôle dans le chapitre VI de synthèse.

B. Le cadre du bassin arboricole de la basse vallée de la Durance

1) Description générale du bassin arboricole

L'unité de recherche « Plantes et Systèmes de culture Horticoles » de l'INRA d'Avignon a développé depuis quelques années une collaboration étroite avec des producteurs d'une zone de vergers de fruits à pépins dans le bassin agricole de la Basse vallée de la Durance (bassin de production sud-est). Elle a été précisément décrite dans la thèse de Benoît Ricci (Ricci, 2009) dont est tirée la citation suivante.

Une zone d'étude a été définie dans le nord des Bouches-du-Rhône, entre la Durance au Nord et à l'Est et les Alpilles au Sud (coordonnées géographiques en WGS8 : de 43°46'27"N à 43°51'23"N et de 4°51'12"E à 4°57'34"E). Elle couvre en partie les communes de Saint-Rémy-de-Provence, Eyragues, Noves, Verquières, Cabannes, St Andiol et Mollégès, et s'étend sur environ 70 km². La majeure partie de la zone est constituée par une plaine située

entre 40 et 60 m d'altitude. Au nord-est, un étroit plateau s'élève avec une pente assez forte jusqu'à 95 m puis redescend à environ 40 m, aux alentours d'Eyragues. L'activité agricole est prédominante avec principalement des vergers, mais aussi du maraîchage, de la vigne, de l'olivier et des cultures céréalières. Parmi les vergers, on trouve essentiellement des pommiers et des poiriers (87% des vergers pour ces deux espèces), également des abricotiers (7%), des pêchers (1,2%), des cerisiers (1,3%) mais aussi quelques vergers de cognassiers, de noyers, de figuiers, de pruniers... (Les chiffres indiqués correspondent aux proportions de surface observées d'après la photo aérienne datant de 2004 et calculées à partir de la base de données géographiques que nous avons constituée et présentée dans le paragraphe suivant). Le paysage est fortement marqué par un dense réseau de haies brise-vents, essentiellement mono-spécifiques, de cyprès ou de peupliers. Le réseau hydrologique est également très développé. Il est constitué de nombreux canaux, ou "roubines", traditionnellement destinées à l'irrigation gravitaire des parcelles cultivées. Ce type d'irrigation qui consiste à inonder périodiquement les parcelles est encore utilisé aujourd'hui dans les vergers, mais il est souvent associé ou combiné à d'autres types d'irrigation comme l'aspersion ou les systèmes "goutte-à-goutte".

Extrait de Ricci (2009)

---

2) Un réseau support de 15 parcelles de vergers commerciaux en agriculture biologique

Au sein de cette zone, j'ai sélectionné 15 parcelles de vergers de pommiers commerciaux en agriculture biologique (voir carte de l'annexe amovible) car elles hébergent des populations de prédateurs et de ravageurs plus abondantes que des parcelles de vergers en agriculture conventionnelle. Les relevés de terrain peuvent avoir été effectués sur des sous-ensembles de ces 15 vergers selon les questions posées. En particulier, les relevés de biodiversité en arthropodes se sont effectués sur 9 vergers en 2009 puis seulement 8 vergers en 2010 car le verger 163 a été arraché pendant l'hiver 2009. Afin de clarifier ce point tout au long du manuscrit, l'annexe qui a été conçue pour être amovible afin de faciliter la lecture, présente le détail sur les vergers concernés par chaque chapitre et article. Enfin, il est à noter que certains gîtes artificiels à chauves-souris ont été placés hors de ce réseau de 15 parcelles quoique toujours dans la zone de production.

3) Description du verger par système d'information géographique

- *Des variables locales intra-verger obtenues par mesure directe*

Ces 15 vergers appartiennent à deux arboriculteurs (vergers 51, 145, 162, 163, 164, 165, 167, 168 pour le propriétaire A et les vergers 124, 169, 170, 171, 172, 173, 174 pour le propriétaire B). Pour les 8 vergers concernés par les relevés de biodiversité en arthropodes du sol en 2010, des variables environnementales locales décrivant l'environnement des vergers ont été mesurées directement sur le terrain et par enquête auprès des arboriculteurs.

- Caractérisation des pratiques agricoles.

Une enquête auprès de ces deux arboriculteurs a été réalisée afin de caractériser les pratiques agricoles et les itinéraires techniques de chacun notamment concernant les traitements phytosanitaires, la fertilisation, le travail du sol, la gestion du couvert végétal et des haies. Il en ressort que les pratiques agricoles de ses deux arboriculteurs se distinguent uniquement au niveau de l'entretien du couvert végétal. Le propriétaire A effectue des coupes peu fréquentes de l'herbe des inter-rangs (environ 2 fois dans l'année) dont une par broyage après la taille des arbres (début février) et une autre par fauchage avant la récolte. Il n'impose ainsi aucune limite à la hauteur du couvert végétal dans les vergers. En revanche, le propriétaire B effectue des coupes plus fréquentes (minimum de 4 par an) systématiquement par broyage limitant ainsi la hauteur maximum du couvert végétal à une vingtaine de centimètres. Le broyage étant beaucoup plus intensif que la fauche, la hauteur du couvert végétal est limitée à environ 2 cm après passage contre 10 centimètres après fauchage.

- Caractérisation du couvert végétal.

Des mesures de la largeur de l'inter-rang et du rang ont été effectuées dans chaque parcelle. Le rang correspond à la surface butée dans laquelle se trouvent les pommiers. L'inter-rang est la surface enherbée et non travaillée présente entre deux rangs. Ces mesures ont permis d'évaluer la proportion en inter-rang au sein des vergers qui permet de rendre compte de la surface du sol non travaillée. Un relevé de la composition floristique des inter-rangs dans chacune des parcelles a été réalisé au cours du mois de février 2011. Six répétitions ont été effectuées à l'aide de quadrats d'une surface d'1 m^2 pour chacune des parcelles. Pour chaque répétition, le nombre de familles végétales présentes par quadrat et leur pourcentage de recouvrement respectif ont été déterminés. Les 6 quadrats ont été disposés aléatoirement sur l'axe diagonal de chacune des parcelles. Les 6 quadrats ont été lancés manuellement sur cet axe et les relevés ont été effectués à l'endroit où ceux-ci étaient tombés. Enfin, pour empêcher tout effet de bordure, aucun relevé n'a été effectué sur le premier et dernier inter-rang de chaque verger. Plusieurs variables issues de ces données et permettant de décrire le couvert

végétal ont été construites : indice de Shannon, équitabilité, proportion du couvert végétal en Poacées et en sol nu.

- Caractérisation de la couverture de la canopée.

Pour chaque parcelle, la demi-longueur de la canopée des arbres (1/2 D1) et la distance entre deux arbres adjacents dans le rang (D2) ont été mesurées. L'ombre des pommiers au sol a ensuite été estimée comme la projection verticale au sol de la canopée des arbres à partir du rectangle ayant pour longueur D2 et largeur D1. De plus, afin de décrire les formes et dimensions des parcelles, des mesures de leur surface et périmètre ont été réalisées.

- Caractérisation des haies.

Leurs longueurs, largeurs et hauteurs ont été mesurées. La diversité de leur végétation a été estimée par un indice de Shannon calculé à partir des relevés de richesse spécifique effectués sur 5 transects verticaux distribués de manière homogène le long de la haie.

~ *Des variables paysagères extra-verger obtenues par système d'information géographique*

La base de données du système d'information géographique (SIG) décrivant les vergers de la zone de production agricole de la basse vallée de la Durance a été mise en place lors de la thèse de B. Ricci (Ricci, 2009). Elle prend pour référence des photos aériennes de la zone prises en 2004 et des mises à jour régulières par passage sur le terrain. Les structures paysagères linéaires (haies et fossés), parcellaires (vergers, bois, etc) ont été identifiées sur les photos, validées par des relevés de terrains et des enquêtes auprès des arboriculteurs, puis répertoriées dans la base. A partir de cette base de données, nous avons calculé des variables environnementales dans des zones tampons de 50 m autour de chaque verger : pourcentage de la surface de cette zone tampon en agriculture intensive, en bois et en haies.

C. Etude de la prédation et de ses effets sur les populations de ravageurs

1) Observation directe de la prédation par PCR diagnostique

~ *Intérêt de la PCR diagnostique parmi les méthodes d'observation de la prédation*

Le rôle de la prédation comme facteur structurant les dynamiques de populations (Murdoch *et al.*, 1985) est un domaine important de la recherche en écologie. Pour cela, plusieurs techniques d'étude

du régime alimentaire ont été développées pour s'adapter aux différents modèles biologiques. Historiquement, l'observation directe d'événements de prédation par un observateur fut la première utilisée. Elle est la seule permettant d'étudier de manière éthologique les comportements alimentaires mais suppose de pouvoir suivre l'individu visuellement (e.g. Novak, 2010). La signature en acides gras dans les tissus adipeux d'un prédateur, liée à la provenance des proies qu'il a consommées, donne des informations géographiques sur les liens trophiques entre proies et prédateurs (Thiemann, 2008). Elle est particulièrement utilisée chez les prédateurs marins très mobiles. A l'inverse, son intérêt est faible pour des espèces sédentaires pour lesquels l'étude des contenus stomacaux est privilégiée. L'identification des parties non digestibles des proies dans les faeces (Burles *et al.*, 2008 ; Deagle *et al.*, 2009) et les estomacs (Cornic, 1978) a été la première exploitée. Elle présente néanmoins deux limites importantes : les proies dépourvues de parties non digestibles ne sont pas détectées et l'identification des proies reste grossière le plus souvent jusqu'à l'ordre ou la famille. De plus elle ne peut pas être pratiquée sur les espèces se nourrissant de parties molles des proies pré-digérées (Greenstone, 1999 ; Ingerson-Mahar, 2002), les arachnides et certains carabes par exemple. Par la suite, les progrès dans les outils moléculaires ont permis le développement de méthodes ciblant soit les protéines soit l'ADN spécifiques des proies (Symondson, 2002 ; Sheppard *et al.*, 2005). La technique sérologique est basée sur l'obtention de sérum d'anticorps monoclonaux capable de détecter une protéine spécifique de la proie considérée. Cette technique qui offre l'avantage de pouvoir détecter des protéines de différents stades de développement de la proie est longue et coûteuse à mettre en place et a été largement délaissée pour les techniques utilisant l'amplification de l'ADN de la proie par Polymerase Chain Reaction (PCR) (Harwood and Obrycki, 2005 ; Sheppard and Harwood, 2005 ; King *et al.*, 2008). La PCR diagnostique consiste à définir une amorce hautement spécifique qui n'amplifie qu'une espèce ou un groupe d'espèces. Le résultat de la PCR, révélé généralement par électrophorèse ou analyse de fragments à l'aide d'amorces fluorescentes présentera donc une bande d'amplification si l'ADN de la proie est présent dans le contenu stomacal du prédateur. Elle permet un screening rapide de beaucoup de prédateurs pour une proie donnée. A l'inverse, la démarche, appelée analyse comparative de séquences, qui recherche à définir le régime alimentaire d'un prédateur donné, consiste à utiliser des amorces généralistes pour un groupe de proies, puis à séquencer les produits de PCR par une bibliothèque de clones (e.g. Jarman *et al.*, 2004) ou pyrosequencing, (e.g. Deagle *et al.*, 2009) et enfin à identifier de quelles espèces proviennent ces séquences (recherche BLAST sur Genbank ou autre bibliothèque de séquences). Par ailleurs, il existe des variantes techniques à ces deux démarches dont l'intérêt a été discuté par Sheppard and Harwood (2005).

Dans notre cas d'étude, l'utilisation d'amorces spécifiques de chacune des trois espèces de ravageurs est la technique la plus appropriée. En effet, elle permet l'étude d'un large spectre de prédateurs quelle que soit leur écologie, notamment les espèces nocturnes et celles à ingestion par succion de tissus prédigérés. De plus, elle permet de suivre l'évolution du réseau trophique sans présence d'observateur ou de dispositifs expérimentaux qui peuvent perturber les comportements de prospection des prédateurs.

~ *Obtention des amorces spécifiques utilisées dans les PCR diagnostiques.*

Mon objectif était de mettre en place des amorces spécifiques pour le carpocapse de la pomme et la tordeuse orientale en multiplex et des amorces spécifiques pour le puceron cendré en singleplex. Le principe de la PCR diagnostique est présenté dans l'encadré 5. Elle est considérée comme spécifique d'une espèce lorsque les amorces utilisées s'hybrident uniquement avec l'ADN de cette espèce. La méthodologie que j'ai suivie pour obtenir ces amorces spécifiques est séparée en trois étapes :

1. Définir les amorces en comparant des séquences d'ADN des espèces cibles et d'espèces proches pour le gène mitochondrial de la cytochrome oxydase I (COI).

J'ai cherché à déterminer les amorces au sein du gène COI qui est un gène utilisé dans la cartographie génétique du vivant. En effet, cela permet d'avoir accès à beaucoup de séquences via la base de séquence Genbank (source : www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/). De plus, il existe plusieurs copies de ce gène dans chaque cellule chez les insectes (d'une dizaine à quelques centaines de copies selon les espèces), ce qui augmente la probabilité de détection de la séquence cible à partir d'ADN digéré (King *et al.*, 2008). De plus, j'ai cherché à obtenir des amplicons de petite taille, c'est-à-dire inférieurs à 300 paires de bases pour augmenter le temps de détection de l'ADN cible dégradé par digestion (Agusti *et al.*, 2003 ; King *et al.*, 2008). Pour déterminer la séquence des paires d'amorces, j'ai recherché les zones du gène COI à forte variabilité inter-spécifique de séquence en bases azotées pour augmenter la spécificité des amorces mais à faible variabilité intra-spécifique pour m'assurer d'amplifier tous les haplotypes du ravageur ciblé. Puisque la distribution des haplotypes peut varier géographiquement (Franck *et al.*, 2007), j'ai prélevé plusieurs spécimens du ravageur dans les vergers de cette étude. J'ai ensuite séquencé l'ADN de ces spécimens en utilisant l' amorce forward Lco 1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTG-3') (Folmer *et al.*, 1994) et l'amorce reverse TL2-N-3013 (5'-TCCATTACATATAATCTGCCATATTAG-3') (Landry *et al.*, 1999) pour les tordeuses ou l'amorce reverse Hco 2198 (5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT-3')(Folmer *et al.*, 1994) pour le puceron cendré. De même, les séquences des espèces proches génétiquement des ravageurs ciblés et de leurs prédateurs (voir article 1 et article 2 pour la liste des

espèces) ont été obtenues soit en consultant la base de séquences Genbank, soit par séquençage de spécimens collectés dans les vergers de l'étude (mêmes amorces). J'ai ensuite défini les amorces du carpocapse de la pomme, de la tordeuse orientale et du puceron cendré dans des parties du gène à forte variabilité inter-spécifique de séquence en bases azotées (Figure II.1).

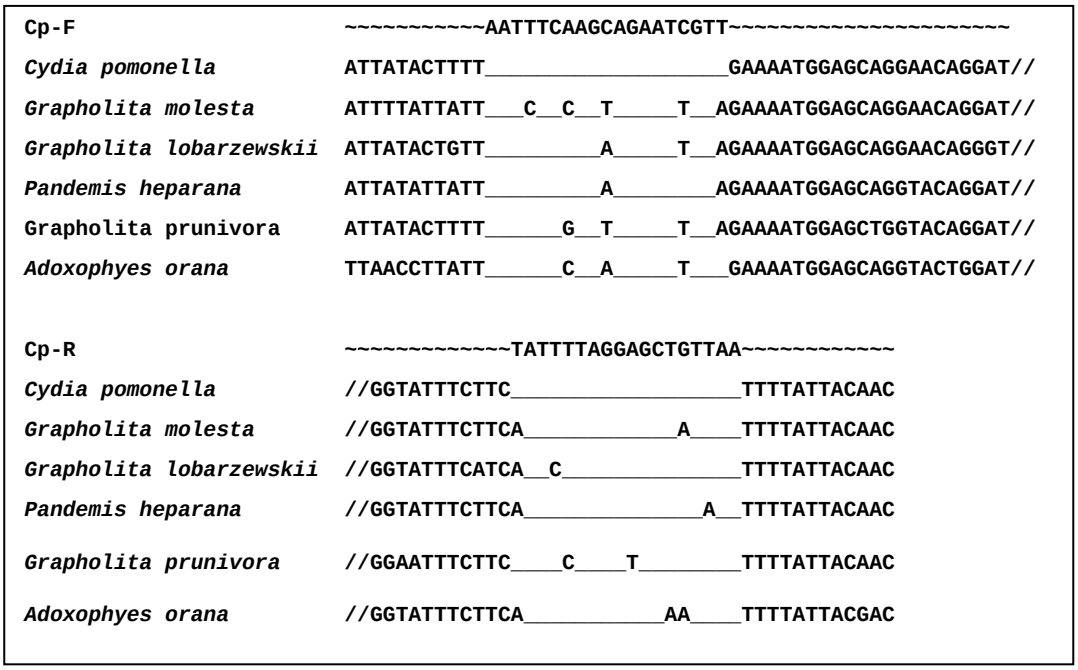


Figure II.1 : Alignement des séquences des amorces du carpocapse de la pomme Cp-F et Cp-R et des séquences du carpocapse de la pomme, de la tordeuse orientale et d'autres micro-lépidoptères proches génétiquement. Seules les bases azotées non redondantes de la séquence des amorces apparaissent.

2. Optimiser le rendement de PCR lors de l'amplification de l'ADN pur de l'espèce cible.

J'ai optimisé certains paramètres de la réaction chimique de PCR en amplifiant de l'ADN cible des trois ravageurs : la température d'appariement, la concentration en amorce, la concentration en $MgCl_2$ ainsi que le temps d'extension (Agusti *et al.*, 1999).

3. Vérifier que les amorces choisies n'amplifient que l'espèce cible en essayant d'amplifier de l'ADN d'espèces proches et de prédateurs.

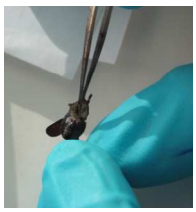
La spécificité des amorces n'est pas absolue. En effet, celles–ci peuvent s'apparier avec des séquences légèrement différentes de la séquence cible. Je me suis assurée de ne pas avoir d'amplification de l'ADN des prédateurs et de leurs autres proies potentielles avec les conditions de PCR optimisées pour chacune des amorces. La liste des prédateurs et proies testées est donnée dans les tableaux II.1 pour la PCR diagnostique spécifique au carpocapse de la pomme et la tordeuse

orientale, et II.2 pour la PCR diagnostique spécifique au puceron cendré. Les amorces ont aussi échoué à amplifier les ADN de chauves-souris et mésanges charbonnières.

Encadré 5

Principe d'analyse du contenu stomacal d'un prédateur par PCR diagnostique

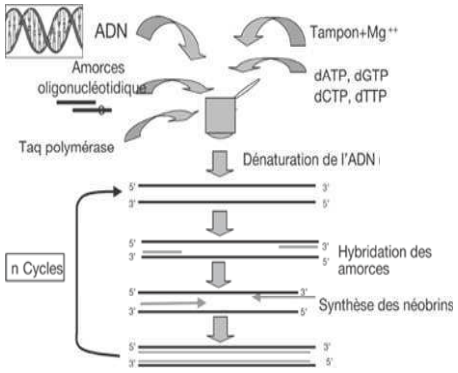
Dissection préalable des carabes et staphylins pour récupération de l'estomac



1. Extraction d'ADN à partir du contenu stomacal/faeces du prédateur

PCR en singleplex
=
Une paire d'amorce spécifique d'une proie

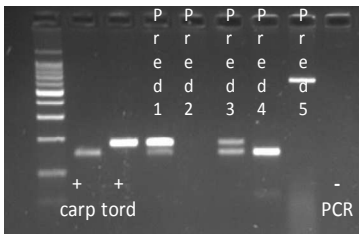
PCR en multiplex
=
Plusieurs paires d'amorces, chacune spécifique d'une proie différente



2. PCR à partir de l'ADN extrait

Après vérification des témoins positifs (+) et négatifs (-) de PCR,
Une bande (ou plusieurs en multiplex)
=
l'ADN de la proie est présent dans le contenu stomacal/faeces du prédateur

Absence de bande
=
l'ADN de la proie n'est pas présent



3. Révélation de la PCR
Par gel d'électrophorèse, analyse de fragments marqués, etc.

Les amorces ainsi obtenues sont présentées dans le tableau II.3, et les conditions de PCR sont décrites dans l'article 1 du chapitre III pour la PCR diagnostique spécifique au carpocapse de la pomme et tordeuse orientale, dans l'article 2 du chapitre III pour la PCR diagnostique spécifique au puceron cendré.

Amorce	Séquence F- forward, R-reverse	Taille de l'amplicon	Température d'appariement
Dp	F-GTTATCAAATAATATTGCACAC	105 bp	57.5°C
	R-CAAATAAAATTAATTGCTCCTAG		
Cp	F-AATTTCAAGCAGAATCGTT	153 bp	52°C
	R-TTAACAGCTCCTAAAATA		
Gm	F- GGAAACATTTGGTTGTTTAGGT	184 bp	52°C
	R-GAGTAGCTAGTCATCTGAAAATC		

Tableau II.3 : Description des paires d'amorces spécifiques du puceron cendré (Dp), du carpocapse de la pomme (Cp) et de la tordeuse orientale (Gm).

Tableau II.1: Espèces (proies et prédateurs) utilisées pour tester la spécificité des amorces du carpocapse de la pomme et de la tordeuse orientale.

Prey				**Predator**			
Order	Family	Species		Order	Family	Species	
Diptera	Syrphidae	*Syrphidae sp*		Aranea	Lycosidae	*Trochosa ruricola*	de Geer
	Tephritidae	*Bactrocera oleae*	Gmelin			*Pardosa hortensis*	Thorell
		Ceratitis capitata	Wiedemann		Gnaphosidae	*Drassodes sp*	
					Linyphiidae	*Erigone sp*	
Haplotaxida	Lumbricidae	*Eisenia foetida*	Savigny		Thomisidae	*Xysticus kochi*	Thorell
					Clubionidae	*Clubiona sp*	
Hemiptera	Aphididae	*Aphis pomi*	de Geer				
		Aphis spiraecola	Patch	Coleoptera	Carabidae	*Calathus fuscipes*	Goeze
		Dysaphis plantaginea	Passerini			*Pseudoophonus rufipes*	de Geer
		Eriosoma lanigerum	Haussmann			*Pterostichus niger*	Schalller
					Cicincellidae	*Cylindera germanica*	Linnaeus
Isopoda	Philosciidae	*Philoscia muscorum*	Scopoli		Coccinellidae	*Harmonia axyridis*	Pallas
	Porcellionidae	*Porcellio scaber*	Latreille		Staphylinidae	*Ocypus olens*	Müller
Lepidoptera	Crambidae	*Ostrinia nubilalis*	Hübner	Dermaptera	Forficulidae	*Forficula auricularia*	Linnaeus
	Pieridae	*Pieris brassicae*	Linnaeus				
	Pyralidae	*Euzophera bigela*	Zeller	Heteroptera	Miridae	*Pilophorus perplexus*	Douglas & S.
		Ectomyelois ceratoniae	Zeller			*Deraeocoris punctum*	Rambu
	Tortricidae	*Argyrotaenia ljungiana*	Thunberg				
		Cydia pomonella	Linnaeus	Opiliones		*Opiliones sp*	
		Grapholita molesta	Busck				
		Pandemis heparana	Denis & S.				
Pulmonata	Helicidae	*Cantarus aspersus*	Müller				
	Testacellidae	*Testacellus sp*					

Tableau II.2: Espèces (proies et prédateurs) utilisées pour tester la spécificité des amorces du puceron cendré.

Prey				Predator			
Order	Family	Species		Order	Family	Species	
Diptera	Syrphidae	*Syrphidae sp.*		Araneae	Clubionidae	*Clubiona sp.*	
	Tephritidae	*Bactrocera oleae*	Gmelin		Gnaphosidae	*Aphantaulax trifasciata*	Simon
		Ceratitis capitata	Wiedemann		Linyphiidae	*Meioneta sp.*	
					Lycosidae	*Pardosa hortensis*	Simo
Haplotaxida	Lumbricidae	*Eisenia fetida*	Savigny			*Trochosa ruricola*	de Geer
					Thomisidae	*Xysticus bifasciatus*	Koch
Hemiptera	Aphididae	*Aphis pomi*	de Geer				
		Aphis spiraecola	Patch	Coleoptera	Carabidae	*Calathus fuscipes*	Goeze
		Dysaphis plantaginea	Passerini			*Pseudoophonus rufipes*	de Geer
		Eriosoma lanigerum	Haussmann			*Pterostichus niger*	Schalller
		Myzus cerasi	Fabricius			*Cylindera germanica*	Linnaeus
		Myzus persicae	Sulzer		Coccinellidae	*Harmonia axyridis*	Pallas
		Myzus varians	Davidson		Staphylinidae	*Ocypus olens*	Müller
Isopoda	Philosciidae	*Philoscia muscorum*	Scopoli	Dermaptera	Forficulidae	*Forficula auricularia*	Linnaeus
	Porcellionidae	*Porcellio scaber*	Latreille				
				Hemiptera	Miridae	*Pilophorus perplexus*	Douglas & S.
Lepidoptera	Crambidae	*Ostrinia nubilalis*	Hübner			*Deraeocoris punctum*	Rambur
	Pieridae	*Pieris brassicae*	Linnaeus				
	Pyralidae	*Euzophera bigella*	Zeller	Opiliones		*Opiliones spp.*	
	Tortricidae	*Cydia pomonella*	Linnaeus				
		Grapholita molesta	Busck				
Pulmonata	Helicidae	*Cantarus aspersus*	Müller				
	Testacellidae	*Testacellus sp.*					

~ *Estimation du temps de détection de l'ADN de la proie au cours de la digestion*

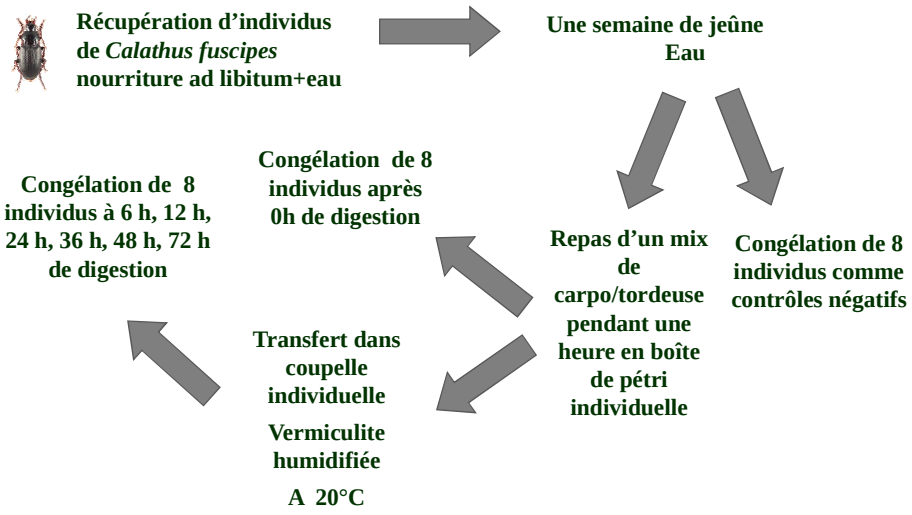
La sensibilité de la PCR diagnostique à la digestion doit être estimée via des tests alimentaires. J'ai effectué plusieurs tests alimentaires pour tester chaque couple prédateur/PCR diagnostique qui a été utilisé pendant cette thèse. Les protocoles sont présentés dans l'encadré 6.

A partir des données générées par les tests alimentaires sur arthropodes, on calcule généralement le temps de demi-détection pour caractériser la sensibilité de la paire d'amorces à l'ADN cible. Ce temps de demi-détection se définit comme le temps de digestion pour lequel la moitié des prédateurs sont toujours détectés positifs à la consommation du ravageur par la PCR diagnostique. De plus, les courbes d'extinction de signal de consommation du ravageur au cours de la digestion jouent le rôle de courbes d'étalonnage pour comparer des résultats obtenus par plusieurs paires d'amorces. En effet, puisque chaque paire a une sensibilité différente à la détection d'ADN cible (King *et al.*, 2008 ; Greenstone *et al.*, 2010), il est impossible de les comparer directement. Plus une paire d'amorces a un temps de demi-détection long, plus elle aura tendance à surestimer le nombre de prédateurs positifs au ravageur par rapport à une autre paire d'amorces dont le temps de demi-détection est plus court. Il est donc nécessaire d'effectuer une correction en utilisant ces courbes d'étalonnage (Greenstone *et al.*, 2010 ; King *et al.*, 2010). Dans cette thèse, j'ai en effet effectué dans l'article 1 du chapitre III des corrections de pourcentages observés de prédateurs positifs pour le carpocapse de la pomme en fonction des courbes d'étalonnage du carpocapse de la pomme et de la tordeuse orientale obtenues par le test alimentaire réalisé avec le carabe, *Calathus fuscipes* (G.).

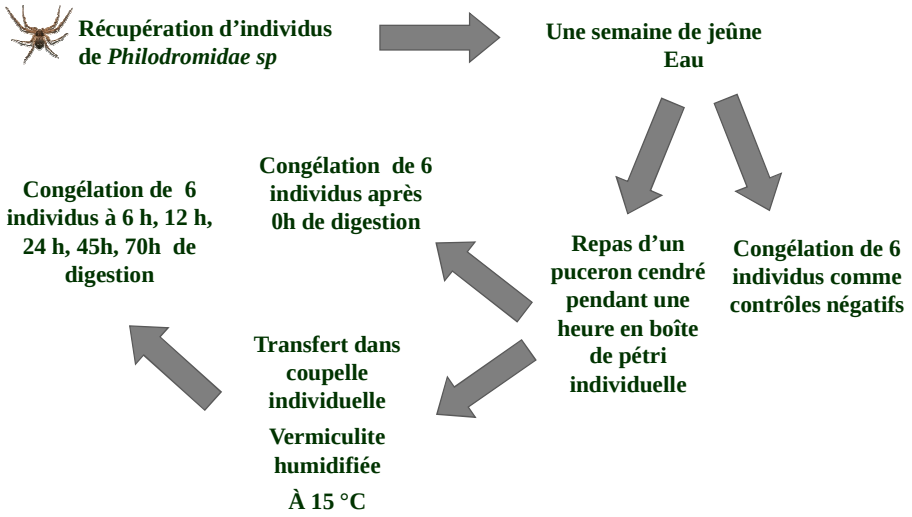
Encadré 6

Protocoles des quatre tests alimentaires

Test alimentaire sur carabes/tordeuses



Test alimentaire sur araignées/ puceron cendré



Encadré 6 (suite)

Test alimentaire sur chauves-souris/tordeuses et mésanges/tordeuses



Animaux en captivité (2 chauves- souris et 7 oisillons de 8 jours nourriture ad libitum+eau

Congélation de faeces comme contrôles négatifs

Repas d'une larve de carpocapse et une larve de tordeuse orientale

Congélation des faeces récupérés au fur et à mesure de la digestion

Nourriture ad libitum + eau

- Résultats du test alimentaire sur carabes/tordeuses.

Le modèle mixte généralisé avec la fonction de lien probit et la loi de distribution binomiale décèle un effet significatif du temps ($F = 63.4$, $df = 1$, $p < 0,001$) et de la paire d'amorces utilisée ($F = 5.3$, $df = 1$, $p= 0.02$) dans la probabilité de détecter l'ADN de tordeuses dans le contenu stomacal de *C.fuscipes*. L'effet significatif de la paire d'amorce indique que l'on ne peut pas comparer les pourcentages de prédation détectés par chaque paire d'amorces directement. Les courbes d'étalonnage pour chaque paire d'amorces ont été déterminées à partir de régressions linaires avec la fonction de lien probit et une loi de distribution binomiale (figure II.1). Les temps de demi-détection sont de 24h pour la paire d'amorces spécifique du carpocapse de la pomme et de 39 h pour la paire d'amorce spécifique de la tordeuse orientale.

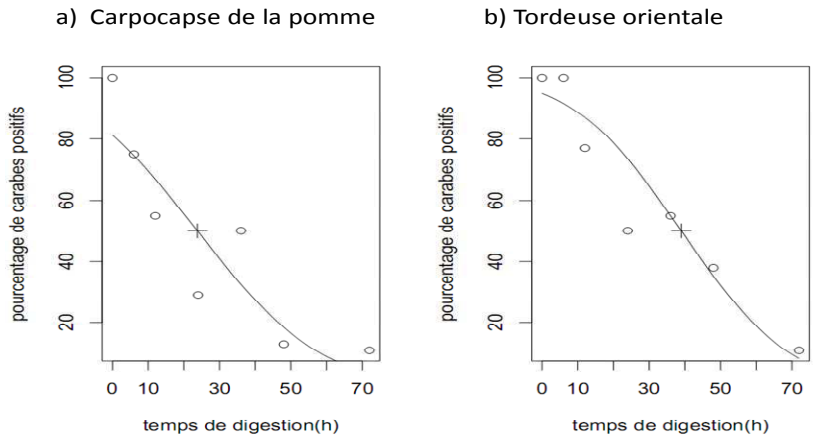


Figure II.1 : Pourcentage de carabes détectés positifs a) pour le carpocapse de la pomme et b) pour la tordeuse orientale en fonction du temps écoulé depuis la consommation. La croix signale le temps de demi-détection calculé à partir de la courbe de régression.

- Résultats du test alimentaire sur araignées/pucerons cendrés.

Ce test alimentaire n'a pas permis de calculer un temps de demi-détection car plus de 70% des araignées étaient encore positives à la consommation de pucerons cendrés après 70h de digestion (figure II.2). Précédemment, des tests alimentaires réalisés avec d'autres amorces de pucerons donnaient des temps de demi-détection entre 3h et 24h pour des Lycosidae (Kuusk *et al.*, 2008 ; Cassel-Lundhagen *et al.*, 2009) et entre 50h et 80h pour des Linyphiidae (Sheppard *et al.*, 2005). Etant donné le type de chasse et la taille des Philodromidae par rapport aux Lycosidae et Linyphiidae, j'avais posé l'hypothèse que le temps de demi-détection de ce couple araignée/puceron cendré se trouvait avant 70 h de digestion. Cependant, le test s'étant déroulé à une température de 15 °C dans le but de s'approcher des conditions de sortie d'hiver en verger, il se peut que le taux de digestion des araignées qui, comme toute espèce ectotherme, dépend de la température ambiante (Hoogendoorn and Heimpel, 2001) ait été sensiblement ralenti réfutant ainsi notre hypothèse de départ.

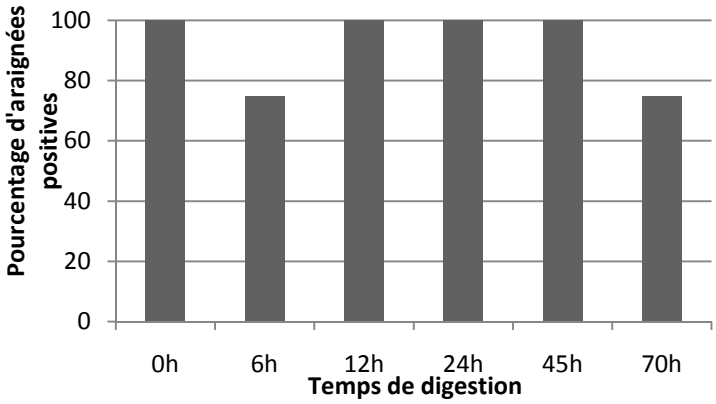


Figure II.2 : Pourcentage d'araignées détectées positives pour le puceron cendré en fonction du temps de digestion.

- Résultats du test alimentaire sur chauves-souris/tordeuses

L'objectif pour les tests alimentaires basés sur l'analyse de faeces est de déterminer la fourchette de temps de digestion entre les premiers faeces détectés positifs et les derniers. On observe pour les chauves-souris (Figure II.3.a), que les guanos récupérés juste après le repas de tordeuses sont tous positifs (0-2h). Puis la détection de guanos positifs oscille autour 30 % pour les guanos récupérés à partir de 2 h après le repas jusqu'à 28h. Le test ayant été fait sur deux chauves-souris captives, ces résultats ont évidemment une portée limitée. Néanmoins ils concordent avec les tests effectués par Zeale (2011) qui observe des pourcentages de détectabilité proches entre 6h et 24 h de digestion, avec une légère tendance à mieux détecter la proie consommée après 24h que 6h de digestion. Le test que j'ai mené décrit donc le processus de digestion chez les chauves-souris. Tout d'abord, une partie de la proie consommée passe dans le tractus digestif sans être digérée, ce qui permet de la détecter très rapidement, puis le reste de la proie est digéré dans le bol alimentaire et reste encore détectable après 28 h de digestion. Cette forte détectabilité de la proie juste après le repas permet d'envisager l'étude de la prédation par les chauves-souris pendant la nuit en les capturant à même les vergers puis en les relâchant après récupération d'un guano.

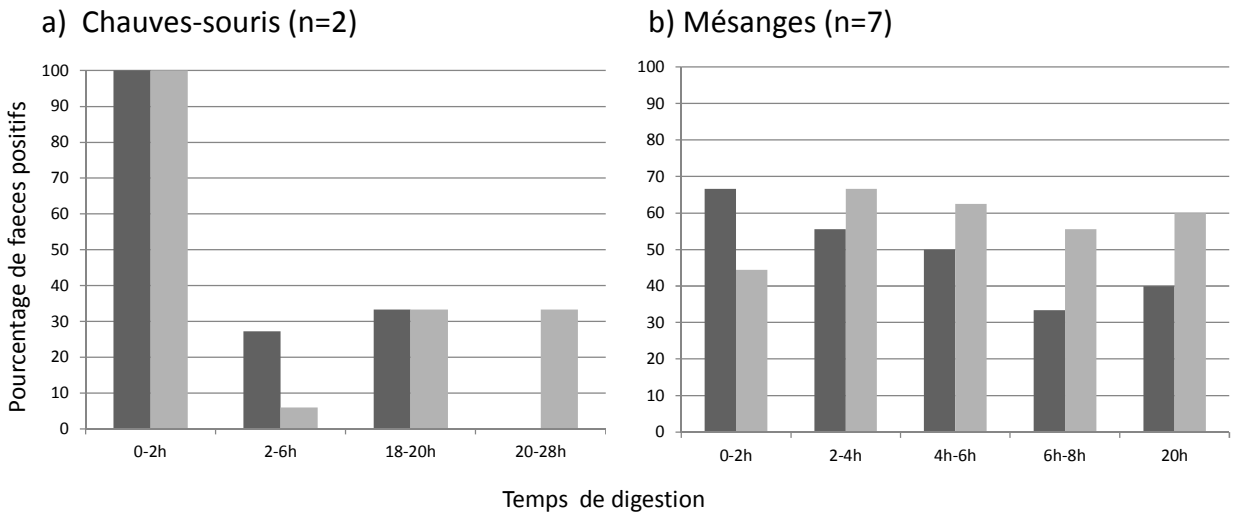


Figure II.3 : Pourcentage de faeces détectés positifs pour le carpocapse de la pomme (gris foncé) et la tordeuse orientale (gris clair) en fonction du temps de digestion. a) test réalisé avec deux chauves-souris captives du muséum d'histoire naturel de Bourges et b) test réalisé avec 7 oisillons de 8 jours prélevés dans les nichoirs des vergers de cette étude.

- Résultats du test alimentaire sur mésanges/tordeuses

Le pourcentage de fientes détectées positives ne dépassent pas les 70% quel que soit le temps de digestion (figure II.3.b). Néanmoins, la détection est elle aussi rapide puisque respectivement 67% des fientes récupérées dans les 2 h après le repas sont détectées positives

à la consommation de carpocapse de la pomme et 44% à la consommation de tordeuse orientale. De même le signal de consommation est toujours présent dans des fientes récupérées après 24 h de digestion. Ce test ayant été effectué sur des oisillons, le pattern de détection observé peut être différent chez les adultes. Cependant nous avons pu prouver par cette expérience que la PCR diagnostique peut être utilisée aussi pour étudier la prédation de tordeuses par les mésanges.

2) Observation indirecte de la prédation par suivi des populations

~ *Suivi des dynamiques des ravageurs et prédateurs en verger*

Les techniques de suivi des prédateurs ont été adaptées aux contraintes méthodologiques de piégeage pour la PCR diagnostique. En effet, les relevés que j'ai effectués avaient pour objectifs à la fois de suivre les dynamiques des ravageurs et de leurs prédateurs et de prélever des individus pour l'analyse de leurs contenus stomacaux par PCR diagnostique. Cette technique étant sensible à la digestion (King *et al.*, 2008), j'ai privilégié des temps de piégeage courts pour éviter un long jeûne des prédateurs. De plus, deux sources de biais dans les résultats devaient être évitées : les événements de prédation intraguilde dus à la proximité des prédateurs dans le piège et les contaminations par contact entre échantillons. Les événements de prédation intraguilde dans le piège ont été évités en plaçant des refuges pour les prédateurs dans les pièges. Les contaminations entre échantillons ont été évitées en traitant individuellement les prédateurs/faeces dès la collecte de terrain. Pour cela, j'utilisais des pinces que je trempais dans l'alcool puis passait sous la flamme entre deux prédateurs/faeces que je plaçais individuellement dans des tubes eppendorf. Pour pouvoir faire entrer les arthropodes vivants dans les tubes, je devais parfois les endormir temporairement en leur faisant inhaler du dioxyde de carbone (CO^2). L'encadré 7 présente les méthodes employées.

Encadré 7

Protocoles d'échantillonnage

pour l'analyse des contenus stomacaux/faeces des prédateurs

	Arthopodes du sol	**Araignées de la frondaison**	**Chauves-souris**	**Mésanges**
	Pièges Barber à sec	Bandes pièges	Gîtes	Nichoirs
Type				
Temps	15h maximum couvrant une nuit	indéfini	Fraîcheur estimée par couleur et humidité	Fraîcheur estimée par couleur et humidité
Refuges	Feuilles/cailloux	alvéoles	-	-
Collecte	CO^2 pour mise en tube individuel	CO^2 pour mise en tube individuel	Nettoyage de la pince entre deux guanos	Nettoyage de la pince entre deux fientes

Le suivi des dynamiques de pucerons a été mené par repérage des œufs d'hiver puis par le suivi de leur évolution jusqu'à la colonie par observation directe (protocole détaillé dans l'article 2 du chapitre III).

Le suivi des dynamiques de tordeuses s'est restreint à l'estimation de la quantité de larves diapausantes en début d'hiver par des pièges de bande cartonnées enroulées autour du tronc à environ 20 cm du sol (protocole détaillé dans l'article 1 du chapitre III). En effet, le suivi des vols d'adultes par piège à phéromones ne permet pas d'estimer uniquement les adultes provenant du verger ciblé mais depuis un secteur plus large. Le suivi des larves en cours de saison est difficile par le comptage des fruits piqués car il s'agit d'un indicateur cumulatif de dégâts.

~ *Suivi des dynamiques des ravageurs et prédateurs en mésocosme*

Sur le site du CTIFL de Balandran, un verger de pommiers composé de trois rangs de 16 arbres de variété Ariane, a été implanté pendant l'hiver 2008-2009. Il est destiné à étudier l'influence de la densité en arthropodes du sol (carabes et araignées) sur la prédation des larves de carpocapse de la pomme. Un total de 16 mésocosmes rectangulaires d'une surface

de 8 m² englobant chacun 2 arbres, ont été aménagés le long de chaque rang par la mise en place de barrières d'exclusion infranchissables par les arthropodes du sol (encadré 8). Au sein de ces mésocosmes, les populations des espèces d'arthropodes du sol ciblées par l'expérience sont manipulées par des transferts d'individus piégés par pièges Barber à sec jusqu'à obtenir des contrastes de densités entre les zones. Par ailleurs, afin d'estimer le nombre de larves consommées pendant l'expérience, des filets-barrières contre le carpocapse placés au dessus des mésocosmes servent à récolter les papillons adultes émergeant des larves préalablement relâchées.

Encadré 8

Principe des mésocosmes du verger expérimental de Balandran

Un mésocosme
=
Zone de 8 m² comprenant 2 arbres



Manipulation des arthropodes prédateurs par pièges barber à sec placés de part et d'autre de la barrière de 40 cm enterrée à 20 cm dans le sol



Filets barrière contre le carpocapse de la pomme pour suivre l'émergence des adultes



~ *Mise en place et suivi de gîtes à chauves-souris et nichoirs à oiseaux*

Au sein du réseau de 15 parcelles biologiques, des nichoirs artificiels à oiseaux ont été installés dans les pommiers selon trois différentes modalités de densité de nichoirs par hectare : 5 parcelles sans nichoirs (vergers 168, 169, 171, 172, 174), 5 parcelles avec 3 nichoirs par hectare (vergers 51, 124, 145, 164, 165) et 5 parcelles avec une densité de 20 nichoirs par hectare (vergers 162, 163, 167, 170, 173). Ces trois lots de vergers ont été

composés de manière à représenter des caractéristiques environnementales comparables. L'objectif de ce dispositif est d'estimer l'influence du nombre de mésanges au sein d'une parcelle sur les densités en carpocapses de la pomme et en tordeuses orientales. Ce dispositif est en place depuis le début de l'hiver 2008-2009 afin de pouvoir suivre l'arrivée de couples de mésanges dans ces nichoirs et leur reproduction à partir du printemps 2009.

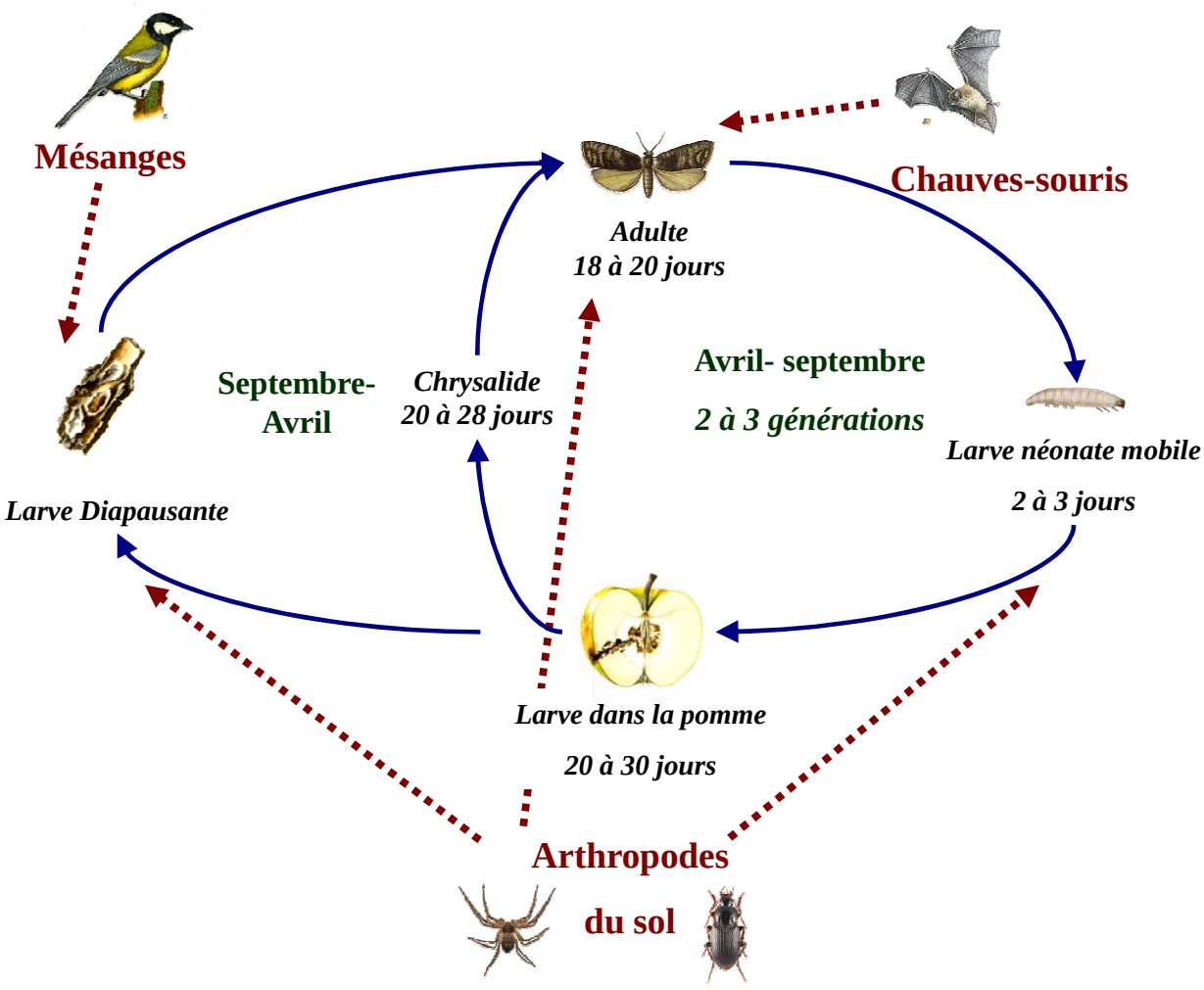
Par ailleurs, 8 gîtes à chauves-souris ont été installés en septembre 2008 dans les haies autour de 4 vergers du réseau : 3 gîtes autour de la parcelle 51, 2 gîtes autour des parcelles 124 et 163, et 1 gîte autour de la parcelle 145. D'autres gîtes ont été installés en 2007 et 2008 dans la zone d'étude autour des vergers en protection conventionnelle (8 gîtes) et en protection intégrée (8 gîtes).

Chapitre III : Quelles périodes d'action des prédateurs ?

Cette thèse a pour objectif de comprendre l'effet de l'action conjointe de prédateurs généralistes au-delà de leur action individuelle. En effet, les complémentarités de niches spatiales et temporelles entre prédateurs, concourent à restreindre l'existence de refuges protégeant le ravageur de toute prédation (Straub *et al.*, 2008). Ces complémentarités résultent de la partition de niches entre prédateurs c'est-à dire de l'exploitation de la ressource-ravageur à différents stades de son cycle de vie. La restriction de ces refuges, en diminuant les risques de pullulation du ravageur en absence de prédation, offre une piste à exploiter en lutte biologique (Riechert and Lockley, 1984 ; Symondson *et al.*, 2002 ; Gutierrez *et al.*, 2008). Alors que, selon le *selection effect*, le contrôle est plus sûrement atteint par l'action d'un ennemi naturel à fort potentiel de régulation et dominant l'assemblage, la complémentarité de niche suggère de favoriser une diversité de prédateurs dont l'action collective réussit à conserver la population de ravageur sous le seuil de croissance exponentielle (Murdoch *et al.*, 1985). Cette approche de lutte biologique s'applique tout particulièrement aux assemblages de prédateurs généralistes dont le potentiel individuel de consommation d'une proie ciblée est souvent limité mais qui présentent une grande diversité d'action sur les ravageurs.

Les travaux présentés dans ce chapitre visent donc à déterminer quels prédateurs généralistes consomment des tordeuses et des pucerons et à quelle période de l'année pour en déduire leurs complémentarités d'action. Ce chapitre s'appuie sur les résultats de détection de proies dans les contenus stomacaux ou les faeces de prédateurs potentiels. Cette détection a été effectuée grâce aux PCR diagnostiques qui ont été mises au point au cours de cette thèse (protocoles présentés dans les articles 1 et 2 de ce chapitre), l'une spécifique du carpocapse de la pomme et de la tordeuse orientale, l'autre spécifique du puceron cendré. Pour ne pas multiplier les échantillonnages, j'ai posé des hypothèses de stades de vulnérabilité des ravageurs aux prédateurs (figure III.1 et III.2) en fonction de leurs écologies respectives (habitat, mode chasse, etc). De plus, j'ai focalisé mes périodes d'observation sur les débuts ou fins du cycle de reproduction des ravageurs car ce sont les périodes durant lesquelles le contrôle par les prédateurs généralistes est potentiellement le plus efficace (Symondson *et al.*, 2002). Durant le cycle de vie du carpocapse de la pomme et de la tordeuse orientale, j'ai donc étudié la consommation d'adultes en vol par les chauves-souris pendant le printemps et l'été,

la consommation au printemps de larves néonates ou d'adultes se retrouvant au sol par les arthropodes du sol, la consommation à l'automne de larves diapausantes sur l'arbre par les mésanges et au sol par les arthropodes du sol. Par ailleurs, j'ai étudié la consommation de puceron cendré, des fondatrices à la sortie de l'hiver et des sexupares ailés à l'automne, par les araignées de la frondaison.



<u>Figure III.1</u> : Cycle de vie du carpocapse de la pomme et hypothèses de sa consommation par les mésanges chauves-souris et arthropodes du sol. Ces hypothèses sont identiques pour la tordeuses orientale.

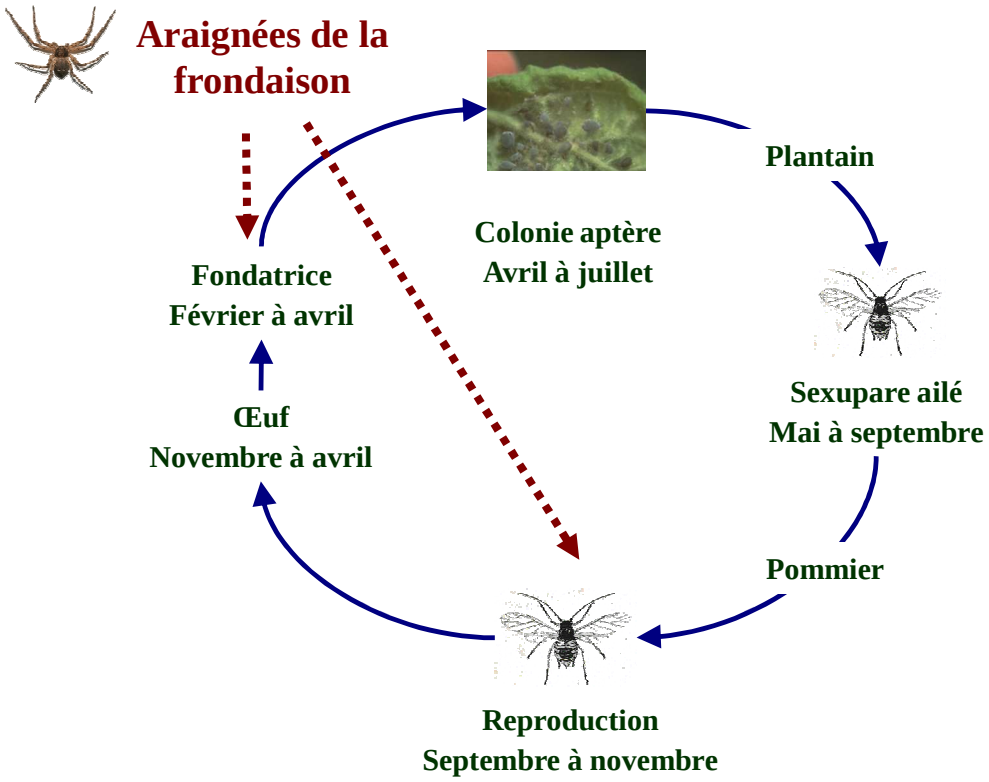


Figure III.2 : Cycle de vie du puceron cendré et hypothèse de sa consommation par les araignées de la frondaison.

A. Prédation sur le carpocapse de la pomme et la tordeuse orientale

1) Les arthropodes du sol

Je reprends ci-dessous brièvement les résultats de l'article 1 (p.58) qui seront discutés en conclusion dans ce chapitre.

~ *Matériels et méthodes*

L'échantillonnage des prédateurs par piège Barber à sec a été effectué en 2009 à 5 occasions entre avril et juin 2009 puis à 3 occasions entre mi-août et mi- septembre sur 9 vergers biologiques de la zone d'étude (planche amovible). Ce type de piégeage mesure l'activité-densité des prédateurs qui dépend donc à la fois de leur densité et de leurs déplacements dans le verger (Baars, 1979). Un total de 946 prédateurs ont été analysés par la PCR diagnostique spécifique au carpocapse de la pomme et à la tordeuse orientale.

~ *Résultats*

Je me suis focalisée sur les familles d'araignées du sol et les espèces de carabes suffisamment abondantes pour pouvoir conclure sur leur consommation en ravageur (tableau III.1). Les staphylins prédateurs, plus particulièrement *Ocypus olens* (M.), étaient initialement inclus dans les arthropodes du sol à tester. Cependant, les 9 vergers étudiés présentaient une faible abondance en ces staphylins et donc il n'a pas été possible de les étudier.

		Régime alimentaire	Nombre de prédateurs testés	Prédation de carpocapse de la pomme détectée	Prédation de tordeuse orientale détectée
Carabidae	*Amara aenea*	Granivore	45		
	Amara familiaris	Granivore	12		
	Calathus fuscipes	Carnivore	17		
	Harpalus affinis	Omnivore	16		1
	Harpalus dimidiatus	Omnivore	18	1	
	Harpalus distiguendus	Omnivore	14		
	Harpalus smaragdinus	Omnivore	11		
	Ophonus azureus	Herbivore	22		
	Pseudoophonus rufipes	Omnivore	210	17	7
	Pseudoophonus griseus	Omnivore	59	5	5
Gnaphosidae	*Drassodes sp*	Carnivore	18		1
Linyphiidae	*Erigone sp*	Carnivore	33		2
Lycosidae	*Pardosa sp (P. hortensis, P. agricola)*	Carnivore	126	4	4
	Trochosa sp (T. ruricola, T. terricola)	Carnivore	86	1	2
Thomisidae	*Xysticus sp (Xysticus kochi)*	Carnivore	24	1	1
Zodaridae	*Zodarion sp (Z. germanicum)*	Carnivore	12	1	

Tableau III.1 : Lien trophique révélé par PCR diagnostique entre ravageurs (carpocapse de la pomme et tordeuse orientale) et prédateurs (carabes et araignées du sol). Chez les carabes, le régime alimentaire correspond à la ressource dominante exploitée par l'espèce au stade adulte seulement. Les espèces pour lesquelles moins de 10 individus ont été prélevés ne figurent pas dans ce tableau. Par ailleurs, certaines araignées juvéniles n'ont pu être identifiées qu'au genre, sauf certains spécimens adultes dont on a précisé l'espèce entre parenthèses.

Les carabes :

Les événements de prédation du carpocapse de la pomme et de la tordeuse orientale ont été révélés chez des carabes dont le régime alimentaire est omnivore ou carnivore. Nous nous attendions à un lien trophique faible au printemps lorsque les stades des tordeuses c'est-à-dire les adultes volant et/ou les larves néonates se déplaçant sur l'arbre sont peu présents au sol et donc faiblement vulnérables aux carabes. En effet, les pourcentages de prédation ne sont pas élevés au printemps mais il est à noter que le lien trophique existe. Nous ne pouvons néanmoins pas exclure que ces événements observés puissent résulter de la prédation intraguilde d'un prédateur ayant préalablement consommé le ravageur, ou de la consommation du ravageur tombé au sol après sa mort.

A l'automne, la consommation de tordeuses représente une part importante du régime alimentaire des carabes (entre 10 et 40% des carabes sont positifs de mi-août à début septembre). Ils s'agit très probablement de larves se déplaçant au sol à la recherche d'un site d'hivernage Cette prédation concerne particulièrement les espèces de carabes à reproduction automnale qui sont très actifs et nombreux pendant cette période.

Les araignées du sol :

Les araignées du sol, quelle que soit leur stratégie de chasse capturent aussi bien les tordeuses au printemps qu'à l'automne. Les tordeuses semblent donc vulnérables aux araignées du sol à la fois au stade adulte (printemps) et au stade larvaire (automne). En effet, les araignées du sol ont déjà été observées sur d'autres cultures comme prédateurs d'insectes volants ou se déplaçant au sol ou sur le couvert végétal (Nyffeler and Sunderland, 2003 ; Monzo *et al.*, 2009)

~ *Conclusions spécifiques*

La période d'action identifiée pour les carabes est donc l'automne sur les larves diapausantes. Les espèces concernées sont omnivores et carnivores à reproduction automnale. Quant aux araignées du sol, leur action est équivalente entre le printemps et l'automne. Cependant, il serait intéressant de mieux déterminer quelles espèces sont les plus efficaces en adaptant la procédure d'échantillonnage aux araignées qui chassent à l'affût ou qui tissent des toiles, certainement sous –échantillonnées par la technique de piégeage utilisée dans cette étude (pièges Barber).

Article 1

Accepté dans Agricultural and Forest Entomology

Predation by generalist predators on the codling moth vs. a closely related emerging pest the oriental fruit moth: a molecular analysis

Authors: Catherine Boreau de Roincé[a,b,c], Claire Lavigne[b], Jean-Michel Ricard[a], Pierre Franck[b], Jean-Charles Bouvier[b], Alain Garcin[a] and W.O.C. Symondson[c]

a : Centre technique interprofessionnel des fruits et légumes, centre de Balandran, BP 32, 30127 Bellegarde, France.

b : INRA, UR 1115, Plantes et Systèmes de cultures Horticoles, F-84000, Avignon, France.

c : Cardiff School of Biosciences, Cardiff University, P.O. Box 915, Cardiff CF10 3TL, United Kingdom.

Running title: Predation by ground predators on two apple moths.

Corresponding author:

Catherine Boreau de Roincé.

Centre technique interprofessionnel des fruits et légumes,

Centre de Balandran,

BP 32, 30127 Bellegarde,

France.

Tél : +33 (0)4 66 01 10 54

Fax : +33 (0)4 66 01 62 28

Mail : boreau@ctifl.fr

Abstract:

1. Biological control by conservation of native natural enemies can, at its best, reduce the need for pesticides and prevent detrimental effects upon the environment. Here the role of ground-active generalist predators as natural enemies of two tortricid pests in apple orchards was analyzed.

2. This study aimed to compare predation rates on the well established codling moth, *Cydia pomonella,* and the emerging oriental fruit moth, *Grapholita molesta,* which has recently switched hosts to apples.

3. This study hypothesized that the ground-active predators consumed the two tortricid pests without preference, in significant numbers and attacked the pests at different developmental stage.

4. Using diagnostic PCR on the gut contents of field-caught ground-active predators, we found no difference in predation rates on these two pests. Spiders were the most efficient predators of emergent adult moths in spring while the carabid beetles, feeding on diapausing larvae, were important in autumn.

5. The temporal complementarity, between spiders and carabid beetles, attacking different stages of the pests at different times of year, highlights the need for diverse predator assemblages to optimise biological control.

Keywords: Apple orchard; Biological control; Carabidae; Diagnostic PCR; Generalist predator; Spider; Tortricidae

Introduction

Within the diverse community of insect pests attacking apples, tortricid moths (Lepidoptera: Tortricidae) are particularly detrimental because their larvae directly feed in the fruits (Barnes, 1991). As pest-damaged fruit cannot be sold, the economic damage threshold is low and farmers have little tolerance of such pests (Lloyd, 1960). Consequently, insecticide treatments are frequent in regions where these pests are present. In conventional apple orchards of southeastern France, over 70% of insecticide treatments are specifically targeted against the codling moth *Cydia pomonella* (Linné, 1758) (Franck et al., 2005), which, as a consequence, has developed resistances to most insecticides (Reyes et al., 2009). Further, the oriental fruit moth *Grapholita molesta* (Busck, 1916) has recently switched hosts from stone fruit to apples (Rothschild and Vickers, 1991). Both moth species are indeed now found in apple orchards Worldwide (Barnes, 1991 ; Rothschild and Vickers, 1991 ; Reyes *et al.*, 2009). In southeastern France, the recent spread of highly pest-specific control means, such as the use of granulovirus biopesticides and mating disruption using pheromones, which are only authorized for codling moths in apple orchards, may be assisting the oriental fruit moth through a reduction in the number of broad-spectrum insecticides.

Because of pesticide resistance (Denholm et al., 2002) and the negative impacts of insecticides on both human health (Pruess-Ustuen et al., 2011) and the environment (Krebs *et al.*, 1999 ; Letourneau and Bothwell, 2008), reduction in the use of pesticides is a major objective, hence the interest in alternative pest control methods. Biological control by conservation of generalist predators, and in particular of ground-active predators, is a promising alternative (Symondson et al., 2002). Determining which natural enemies feed at high rates on these pests has thus become important, with the objective of later devising habitat manipulation strategies that optimise natural enemy population densities and effectiveness as control agents.

In the present study, predation rates by generalist ground-active predators were analysed on two pests in apple orchards, the well established codling moth and the emerging pest, the oriental fruit moth. This study concentrated upon ground-active predators as their potential as biocontrol agents has been recognized in a broad range of agroecosystems (see references in Symondson et al., 2002). To date, most studies of the regulation of the codling moth by natural enemies have focused on parasitoids (Mills, 2005 ; Hackermann *et al.*, 2008 ; Jumean *et al.*, 2009), nematodes (Navaneethan et al., 2010), birds (Solomon and Glen, 1979 ; Mols and Visser, 2002 ; Mols *et al.*, 2005 ; Mols and Visser, 2007), carabid beetles (Hagley and Allen, 1988 ; Riddick and Mills, 1994 ; Epstein *et al.*, 2001), earwigs and predatory bugs (Glen, 1977 and references therein). To our knowledge, the only comparable work on regulation of the oriental fruit moth has been by parasitoids (Hackermann *et al.*, 2008 ; Poltronieri *et al.*, 2008) and nematodes (Riga et al., 2006). Apart from carabid beetles, predation by ground-active predators has not been investigated yet.

Although the codling moth is closely related to the oriental fruit moth, there are several morphological, behavioural and phenological differences between these two pests which might influence predation upon them by this predator guild. For example, the oriental fruit moth has smaller larvae than the codling moth for a given instar (Barnes, 1991 ; Rothschild and Vickers, 1991). Its mature larvae are more likely to seek cocooning sites on the ground than those of the codling moth, which prefer to seek sites under trunk barks (Causse, 1976 ; Rothschild and Vickers, 1991). Finally, the oriental fruit moth is present for a longer period in orchards and completes a partial fourth generation in southeastern France, while the codling moth completes no more than three generations. This study aimed at seeing whether these differences affect their control by the ground-active predators.

To address this question, predation rates on codling moth and oriental fruit moth by ground-active predators were measured by analyzing the gut content of field-caught predators,

using diagnostic multiplex PCR with species-specific primers. The aim was to discriminate between predation on these two close related pest species by a broad range of predators without disrupting predator-prey interactions in the field (King et al., 2008). Discrimating between ingestion of these two pests by microscopic examination of hard remains in the guts would have been difficult or, in the case of fluid feeders such as spiders, impossible (Ingerson-Mahar, 2002). The combination of predator monitoring and gut content analysis allowed us to address a number of hypotheses. These included: a. that the ground-active predators are consuming significant numbers of these tortricid moths; b. that the two tortricid pests are attacked at the same developmental stage by the ground-active predators; c. that temporal patterns of predation by different predator species within the predator community would provide complementary predation pressure.

Materials and methods

Before analysing guts of field caught predators, we designed new species-specific primers for the codling moth and the oriental fruit moth, tested their specificity against non target DNA and assessed their post-ingestion detection periods with a feeding trial in order to calibrate results obtained by multiplex diagnostic PCR.

Design of specific primers for multiplex PCR

1494 bp sequences of the mitochondrial cytochrome oxidase 1 gene (CO1) from field-caught codling moths (Accession no. HQ700336 & HQ700337), and oriental fruit moths (Accession no. HQ700338 & HQ700339) were amplified using the forward primer LCO1490 (Folmer et al., 1994) and the reverse primer TL2-N-3013 (Landry et al., 1999). The sequences were aligned, using Bioedit, with other sequences of the apple tortricid pests *Grapholita lobarzewskii* (Nowicki, 1860) (Accession no. FJ217786, FJ217787 & FJ217788), *Grapholita*

prunivora (Walsh, 1868) (Accession no. AY728153), *Pandemis heparana* (Denis & Schiffermüller, 1775) (Accession no AF499024) and *Adoxophyes orana* (Fischer von Röslerstamm, 1834) (Accession no. FJ416623). Species-specific primers for the codling moth were then designed (C.pom-F 5'-AATTTCAAGCAGAATCGTT-3' & C.pom-R 5'-TTAACAGCTCCTAAAATA-3'), and the oriental fruit moth (G.mol-F 5-' GGAAACATTTGGTTGTTTAGGT-3' & G.mol-R 5'-GAGTAGCTAGTCATCTGAAAATC-3') targeting sites with no intra-specific but high inter-specific variation. The amplicon sizes were 153 bp for the codling moth and 186 bp for the oriental fruit moth. After evaluating their compatibility with Primer3 (Rozen and Skaletsky, 2003), the primer concentration and annealing temperature were optimised in multiplex PCR. The multiplex PCR contained a mixture of the two primer pairs, permitting detection of DNA from both target species in a single PCR. The multiplex PCR reactions were carried out in a 10µL volume reaction with the Qiagen multiplex kit as follow: 1 µL of template DNA, 5 µL Multiplex solution (HotStar Taq), 1 mM bovine serum albumin (Promega), 0.4 µM of each primer. After an initial denaturing step of 15 min at 95°C, a cycle of 94°C for 30s, 52°C for 30s and 72°C for 45 s, was repeated 34 times, and then a last extension period at 72°C for 5 min was performed. PCR products were separated by electrophoresis in a 3% agarose gel with TBE buffer and visualised by ethidium bromide staining.

Cross amplification tests

To assess the specificity of the primers in multiplex PCR, cross-amplification tests were conducted on DNA from 34 non-target arthropod species. The specificity of the codling moth and the oriental fruit moth primers was tested against each other's DNA plus that of closely-

related moth species, non-related alternative prey species and predators occurring in the orchards (Table 1).

Feeding trial

To assess the specific primers post-ingestion detection limits, a feeding trial with *Calathus fuscipes* (Goeze, 1777) (Coleoptera: Carabidae) was conducted. *C. fuscipes* is a dominant species in orchards within the study area (Garcin et al., 2004) and is known to consume codling moth larvae (Garcin et al., 2008). Specimens were collected by overnight dry pitfall trapping, and then were kept in 30cm×30cm boxes filled with damp vermiculite and stones for shelter at 25°C and 16:8h (L:D) photoperiod. They were fed *ad libitum* on dog food and apple, then were starved (water only) for five days before the pest meal. Prior to any experiment, a batch of eight starved carabids, used as negative control, was killed by freezing. A 50:50 mix of the codling:oriental fruit moth larvae was homogenised with wheat flour (approximately 10 g for a total of 100 larvae). Carabids were then observed feeding on this pest mix for 1 h. We fixed the feeding time as the median of this feeding period. Batches of eight carabid beetles were killed by freezing just after the meal, and then 6 h, 12 h, 24 h, 36 h, 48 h, 72 h after the feeding time. Foreguts from dissected carabids (Symondson *et al.*, 2000 ; Foltan *et al.*, 2005) were homogenised before extracting the DNA with the Qiagen DNeasy® blood & Tissue extraction kit following the protocol for the purification of total DNA from animal tissues. The DNA was then resuspended in 200 µl of manufacturer's elution buffer and stored at −20 ° C. Finally, extraction success was verified by amplification of the extracted DNA with the universal arthropod primers LCO1490 and HCO2198 (Folmer et al., 1994) and any possibility of cross-over contamination within batches of samples was excluded by the use of negative controls (water) (King et al., 2008). We then modelled the decay curves for

detection of each species in the guts of the beetles over time using probit regression analysis with probit link function and binomial family errors (R Development Core Team, 2010).

Predator monitoring

Predator monitoring was conducted in nine organic apple orchards situated within a 10 km² area in the southeastern France. Generalist arthropod predators were collected by pitfall trapping on five occasions in spring (10/04/2009, 23/04/2009, 06/05/2009, 19/05/2009, and 18/06/2009) and three in autumn (18/08/2009, 02/09/2009 and 15/09/2009). Theory suggests that generalist predators can be most effective if they limit numbers of multivoltine pests early in the season, before they reach their rapid growth phase (Chang and Kareiva, 1999). Thus we concentrated our study on predation in spring (on emerging adults) and the autumn (on overwintering diapausing larvae). Six dry pitfall traps per orchard (11.5 cm diameter and 12 cm deep jars with refugia in the form of a layer of vermiculite, stones and leaves) were placed 10 m apart along one pathway between tree rows. The refugia help to minimize predation within the traps (Sunderland et al., 2005). Trapping took place overnight and predators were placed individually in tubes, killed by freezing and stored at –20 °C until subsequent dissection and DNA extraction. The catches from the traps in each orchard were pooled so that the orchard was the replicate in statistical analyses. Spiders were identified from family to genus level (Roberts, 1996 ; Garcin *et al.*, 2004), depending on their developmental stage, carabid beetles and rove beetles to the species level (Jeannel, 1941 ; Garcin *et al.*, 2004) and harvestmen to the order level. The rarely collected species (less than 10 specimens in total) were excluded from the gut content analysis and some spring catches, when predators were exceptionally numerous, were subsampled. Spiders were homogenised without prior dissection. All predators were then screened for the presence of the codling moth and the oriental fruit moth DNA by multiplex PCR.

Tortricid monitoring

These two close-related pests display similar life cycles except that the oriental fruit moth adults emerge earlier in spring and their overwintering larvae mature until later in autumn. Their annual cycle in the study region involves emergence of adults from the overwintering larvae from April to May, then the production of several generations whose larvae feed within the fruit. From early August to the end of October, larvae reach the fifth instar, leave the apple fruit, and then move down seeking refuge under the bark or the ground and enter diapause. During the autumn, the total abundance of diapausing larvae per tree was estimated using corrugated cardboard traps wrapped around the trunks (11 cm width). These traps were installed in mid July and collected in mid October. The density of traps (~ 54 traps/ha ± 25%) was similar between orchards. Once the traps were collected, the mean number of codling moth and oriental fruit moth larvae per trap was calculated for each orchard. Although this trapping method has been used for tortricid diapausing larvae in previous studies (Ivaldi-Sender, 1974 ; Franck *et al.*, 2007), there is no study comparing its respective efficacy on the codling moth and the oriental fruit moth. Therefore, in the absence of knowledge about any potential bias between tortricid species using this trapping method, we could not meaningfully use these data to compare the abundance of diapausing larvae between species. Similarly, we could not monitor adult pest abundances in spring in an orchard with pheromone traps because, depending on meteorological conditions such as wind speed and direction, the pheromones traps may attract males from surrounding orchards (Barnes, 1991 ; Knight and Light, 2005).

Analysis of the tortricid predation

First, the correlation between the observed predation rates and pest abundance in the orchards was tested. For this purpose, the percentage of positive predators and the number of diapausing larvae per trap was used. Further, because the number of diapausing larvae results from the accumulation of larvae throughout the autumn, the percentage of positive predators were pooled over the three autumnal dates. Spearman's correlations were performed as sample size did not support parametric analysis.

In addition, the relative contribution of each predator group (i.e carabid beetles and spiders) to overall predation was analysed to compare predation efficiency among predators. For this purpose, we pooled the data from the nine orchards for each season (i.e all spring dates pooled and all autumnal dates pooled). The seasonal contribution of each predator group to overall predation was then calculated as the ratio of the number of positive predators in that group to the total number of positive predators. This calculation was done separately for the codling moth and the oriental fruit moth. This approach allowed us to estimate the relative proportion of prey consumption which was due to a given predator group relative to the other predators within the assemblage.

Results

Cross amplification testing

The primers were found to be specific for their targets (Table 1). Additional bands were sometimes produced but their fragment sizes were easily distinguishable from the 153 bp fragment obtained with the codling moth's primers and the 183 bp fragment obtained with the oriental fruit moth's primers. Moreover, these spurious bands were randomly present in both positive and negative predators.

Detection period

Analysis of covariance showed that the decay curves for the two prey species being digested within *C. fuscipes* were different (F = 5.316, df = 1, p = 0.023).). Figure 1 shows the regression line for the percentage of positive beetles for codling moth and the oriental fruit moth. The estimated median detection periods were 23.8 h for the codling moth and 39.0 h for the oriental fruit moth. Observed percentages of positive predators for the codling moth were adjusted to the oriental fruit moth detectability using the probit regression equations from the feeding trial (Greenstone *et al.*, 2010 ; King *et al.*, 2010).

Predators of tortricids

A total of 1229 predators were trapped and identified. For clarity, we called predators all the trapped arthropods. Figure 2 illustrates how considerably the orchard assemblages differed in their total abundance of predators and in their taxonomic composition. The mean number of predators per date and orchard was 17.1 ± 1.9 predators (mean ± SE), with similar catches in spring with 33.4 ± 5.5 predators and in autumn with 14.6 ± 5.1 predators (two-tailed Student's t-test, t = 0.7559, df = 7, p = 0.4792). Fewer spiders were caught in autumn than in spring (one one-tailed Student's t-test, t = 3.7348, df = 7, p = 0.005). No tortricid moth (larvae or adult) was ever found in the traps, suggesting that within-trap predation was highly unlikely to have occurred. A total of 946 field-caught predators were tested for predation on the codling moth and the oriental fruit moth by diagnostic PCR. Although most positive predators had the DNA of just one of the two pests in their gut, some had both. Apart from one positive harvestman, which was excluded from the subsequent analysis, all predation events were recorded from carabid beetles and spiders. Pooling the positive predators for the two tortricid species, 61% of the predation events were by carabid beetles and 39 % by spiders.

Temporal pattern of the tortricid predation

A similar pattern of predation was found for both tortricid prey (Fig. 3). While predation by spiders occurred when tortricid adults emerged in spring, predation by carabid beetles was highest in early autumn. This peak coincided with the presence of diapausing larvae which were searching for cocooning sites on the tree trunks and the ground during this period. The percentage of positive predators was highly variable among dates and orchards. Indeed, no positive predators were found for tortricid consumption in orchards 1 and 9, that were low in both predator and pest abundance (Fig.2).

Exploitation of the diapausing larvae by predators

Diapausing codling moth larvae, with a mean of 5.9 ± 2.9 larvae per cardboard trap, were much more abundant than the oriental fruit moth larvae, with a mean of 0.1 ± 0.03 larvae per trap. The correlation between the percentage of positive predators and the abundance of diapausing larvae was positive for both pest species but marginally non-significant (S = 45.8429, df = 8, p = 0.076 for the codling moth and S = 47.272, df = 8, p = 0.084 for the oriental fruit moth).

Relative contribution to the overall predation

Predator abundance and contributions to overall tortricid predation differed between seasons (Table 2). Predation pressure was similar on the two pest species, for example, 87.5% and 85.7% by carabid beetles in autumn on codling moth and oriental fruit moth respectively (Table 2). Spiders and carabid beetles which displayed high rates of predation and abundance (Fig. 3) in both spring and autumn contributed the most to total predation pressure. Carabid species mainly involved in predation were autumn breeders. Spiders were ground-active species which are not present on the tree canopies, comprising mostly active hunters (Lycosidae) and web-builders (Linyphiidae).

Discussion

Predation by ground-active predators on two closely related tortricid pests was compared. New PCR primers were developed and gut content analysis of field-caught predators, sampled on eight different dates in nine apple orchards, was used to discriminate between predation on these species. For every predator group, the temporal patterns of predation, and their contribution to the overall predation, were similar for the two tortricid pests. Spiders had higher abundance, higher percentage of positive PCRs and a greater contribution to overall predation in spring. The reverse pattern was found for carabids, with greater numbers and higher rates of predation in autumn. The abundance of diapausing tortricid larvae was positively correlated with predation (though marginally non-significantly).

Carabid beetles (Coleoptera: Carabidae) are mostly polyphagous and eat both animal and/or plant materials (Lovei and Sunderland, 1996), compared with spiders which are all carnivorous (Roberts, 1996). The carabid assemblage in this study included species that are usually described as granivorous (e.g. *Amara spp*.), omnivorous (*Harpalus spp*. and *Pseudoophonus spp)* and carnivorous (*Calathus fuscipes*). The omnivorous species *Harpalus affinis* (Schrank, 1781) and *Pseudoophonus rufipes* (de Geer, 1774) have been observed to switch from a dominantly vegetarian diet to a dominantly carnivorous diet during the reproductive period (Cornic, 1978). Our observation that the autumnal breeders *P. rufipes* and *P. griseus* were consuming the tortricid moths at high rates is consistent with Cornic (1978) and suggests that omnivorous species of carabids could be influential in controlling pests in addition to purely carnivorous species.

No evidence was found that ground-active predators were attacking the oriental fruit moth and the codling moth at different rates. Indeed, the similar temporal pattern of predation for both pests indicates that they are available to predators at the same stages in their life

cycles. Moreover, the relative contributions of the predator groups to overall predation were also similar for both pests. These findings suggest that all predator species tested attacked both pests, when they were available, without discriminating between them. An absence of prey choice, where the prey were closely-related, was shown, for example, for carabid beetles feeding on slugs (Eskelson et al., 2011) and earthworms (King et al., 2010). However,.large taxonomic differences are not always necessary for prey choice: some spiders were shown to choose among Collembola (Agusti et al., 2003). Nevertheless, our data do not allow us to evaluate and compare the efficiency of the ground-active predators at suppressing these two pests. In the absence of comparable population data for both moths, no conclusion could be drawn as to whether they experienced different rates of predation for the same abundance. They may differ, for example, in their vulnerability to predators, as might be expected from differences in their mobility and numbers of generations per annum. Therefore, future experiments will be necessary to assess whether attack rates on the two moth species are similar and to test their vulnerability to predators (Agusti *et al.*, 2003 ; King *et al.*, 2010)

Niche complementarity (Loreau et al., 2001), which occurs when predator species partition their resources by attacking different subsets or life stages of the prey population, is thought to be a positive factor enhancing the effectiveness of diverse predator communities at suppressing pests (Straub *et al.*, 2008 ; Finke and Snyder, 2010). We found a partial niche complementarity between carabid beetles and spiders as they preferentially caught these pests at different developmental stages and times of year. Spiders are able to catch flying adult moths in spring while carabid beetles catch ground-active larvae in autumn, which is consistent with the results of Monzo *et al*. (2011) who observed that *P. rufipes* caught medfly larvae and pupae but not medfly adults. PCR cannot distinguish between predation on different developmental stages of pests. Laboratory studies would be needed to confirm which life stages spiders and carabids can effectively capture and kill. Nevertheless, spiders were

more abundant in spring, when adult moths are flying, and carabid beetles were abundant in autumn, when larvae are seeking diapausing sites, showing good temporal complementarity.

The proportions of predators testing positive for a given prey are generally dependent upon prey abundance, although with generalist predators this link may be weak when alternative prey are available (Koss and Snyder, 2005 ; Prasad and Snyder, 2006 ; Symondson *et al.*, 2006). Little impact of alternative prey on pest suppression was, for example, observed in cereal crops (Harwood *et al.*, 2004 ; Harwood *et al.*, 2007 ; Kuusk and Ekbom, 2010). The presence of alternative prey may in fact either disrupt biocontrol, because generalist predators may switch to the most abundant or accessible prey (Koss and Snyder, 2005 ; Kuusk and Ekbom, 2010), or enhance it by sustaining predators in the absence of pests (Symondson *et al.*, 2000 ; Eitzinger and Traugott, 2011). We found that predation of tortricids by generalist predators in autumn was marginally correlated with larval numbers. Therefore, predation was apparently not disrupted by alternative prey present in the orchards. No conclusion could be drawn on spiders during spring as we were not able to monitor pest abundance during this season. .

This study underlines the importance of the abundance and component identity of predators within an assemblage for successful pest suppression (Altieri, 1999 ; Symondson *et al.*, 2002 ; Straub and Snyder, 2006b). There were large differences in predator abundance and species composition between orchards and seasons, with some extreme cases in which orchards contained mainly spiders (orchard 6) or mainly carabid beetles (orchard 7). Predator assemblages in the different orchards would not have been equally efficient at controlling tortricid pests. Moreover, it would be expected that orchards displaying high abundances of spiders and autumn-breeding carabid beetles would have the most impacted the tortricid population. Predator assemblages (Landis *et al.*, 2000 ; Minarro *et al.*, 2009) and their predation rates (Pfiffner *et al.*, 2009 ; Szendrei *et al.*, 2009) are influenced by farming

practices and landscape features, and it would be useful to be able to analyse the factors leading to the different assemblages found in the nine orchards, in order to manipulate the environment in a way that would encourage higher densities of spiders and autumn-breeding carabids. Even then, if carabids were numerous throughout the season (as we found) it is possible that intraguild predation between the carabids and spiders, which can be at remarkably high levels (Davey, 2010), would have a negative impact upon the effectiveness of the community as a whole at controlling tortricids in spring.

In conclusion, there appeared to be no inhibition by generalist predators to prey upon both of these closely-related pests. Within the ground-active predator assemblage, spiders and carabid beetles were found to be complementary as they attacked the tortricid pests at two different developmental stages, mature larvae and flying adults. They are also complementary to the generalist predators that have been shown previously to prey on eggs, such as earwigs and predatory bugs (Glen, 1977). These tortricid pests have a large panel of generalist predators which would be able to diminish their initial abundance before the reproductive season. By attacking the pests when the specialist predators and parasitoids are not present or efficient, they would be able to prevent the pests from having temporal refugia (Symondson et al., 2002). Identification of farming practices and landscape features that enhance generalist predator efficiency is needed.

Acknowledgements:

This work was funded by CTIFL (Centre technique interprofessionnel des fruits et légumes). C. BDR's PhD was granted by a CIFRE (Convention Industrielle de Formation par la Recherche) from ANRT. We are thankful to Sandrine Maugin and Myriam Siegwart for providing the tortricid larvae, to Jérome Olivares, David Brown and Jeff Davey for their advice on the molecular work, to Jean-François Toubon for the information on the phenology of the tortricid pests and for contacts with farmers.

References

Agusti, N., Shayler, S. P., Harwood, J. D., Vaughan, I. P., Sunderland, K. D. and Symondson, W. O. C. (2003) Collembola as alternative prey sustaining spiders in arable ecosystems: prey detection within predators using molecular markers. Molecular Ecology, 12, 3467-3475.

Altieri, M. A. (1999) The ecological role of biodiversity in agroecosystems. Agriculture Ecosystems & Environment, 74, 19-31.

Barnes, M. M. (1991) Codling moth occurrence, host race formation, and damage In Tortricid Pests, Their Biology, Natural Enemies and Control(Eds, van der Geest, L. P. S. and Evenhuis, H. H.), pp. 313–327. Elsevier, Amsterdam.

Causse, R. (1976) Etude de la localisation et de la mortalité hivernale des larves de Laspeyresia pomonella L. (Lepidoptera, Tortricidae) en vergers modernes de pommiers de la basse vallée du Rhone. Annales de Zoologie et Ecologie Animale, 8, 83-101.

Chang, G. C. and Kareiva, P. (1999) The case for indigenous generalists in biological control In Theoretical Approaches to biological control(Eds, Hawkins, B. and Cornell, H.), pp. 103-115. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

Cornic, J. F. (1978) Etude du régime alimentaire de trois espèces de carabiques et de ses variations en verger de pommiers. Annales de la société entomologique de France, 9, 69-87.

Davey, J. S. (2010), Vol. PhD thesis Cardiff university, UK.

Denholm, I., Devine, G. J. and Williamson, M. S. (2002) Evolutionary genetics - Insecticide resistance on the move. Science, 297, 2222-2223.

Eitzinger, B. and Traugott, M. (2011) Which prey sustains cold-adapted invertebrate generalist predators in arable land? Examining prey choices by molecular gut-content analysis. Journal of Applied Ecology, 48, 591-599.

Epstein, D. L., Zack, R. S., Brunner, J. F., Gut, L. and Brown, J. J. (2001) Ground beetle activity in apple orchards under reduced pesticide management regimes. Biological Control, 21, 97-104.

Eskelson, M. J., Chapman, E. G., Archbold, D. D., Obrycki, J. J. and Harwood, J. D. (2011) Molecular identification of predation by carabid beetles on exotic and native slugs in a strawberry agroecosystem. Biological Control, 56, 245-253.

Finke, D. L. and Snyder, W. E. (2010) Conserving the benefits of predator biodiversity. Biological Conservation, 143, 2260-2269.

Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. and Vrijenhoek, R. (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Molecular Marine Biology and Biotechnology, 3, 294-299.

Foltan, P., Sheppard, S., Konvicka, M. and Symondson, W. O. C. (2005) The significance of facultative scavenging in generalist predator nutrition: detecting decayed prey in the guts of predators using PCR. Molecular Ecology, 14, 4147-4158.

Franck, P., Guerin, B., Loiseau, A. and Sauphanor, B. (2005) Isolation and characterization of microsatellite loci in the codling moth Cydia pomonella L. (Lepidoptera, Tortricidae). Molecular Ecology Notes, 5, 99-102.

Franck, P., Reyes, M., Olivares, J. and Sauphanor, B. (2007) Genetic architecture in codling moth populations: comparison between microsatellite and insecticide resistance markers. Molecular Ecology, 16, 3554-3564.

Garcin, A., Demarle, O. and Soldati, F. (2004) Les Carabes, indicateurs de biodiversité et auxiliaires généralistes. Ctifl-infos, 199, 42-47.

Garcin, A., Darthout, L. and Lochard, G. (2008) Les carabes en verger de pommier : des auxiliaires à préserver. Ctifl-infos, 244, 31-35.

Glen, D. M. (1977) Predation of codling moth eggs, Cydia pomonella, predators responsible and their alternatie prey. Journal of Applied Ecology, 14, 445-456.

Greenstone, M. H., Szendrei, Z., Payton, M. E., Rowley, D. L., Coudron, T. C. and Weber, D. C. (2010) Choosing natural enemies for conservation biological control: use of the prey detectability half-life to rank key predators of Colorado potato beetle. Entomologia Experimentalis Et Applicata, 136, 97-107.

Hackermann, J., Rott, A. S. and Dorn, S. (2008) Consequences of mixed species infestation on the searching behavior and parasitism success of a larval parasitoid. Biocontrol, 53, 725-736.

Hagley, E. A. C. and Allen, W. R. (1988) Ground beetles (Coleoptera: Carabidae) as predators of the codling moth, Cydia pomonella (L) (Lepidoptera: tortricidae). Canadian Entomologist, 120, 917-925.

Harwood, J. D., Sunderland, K. D. and Symondson, W. O. C. (2004) Prey selection by linyphiid spiders: molecular tracking of the effects of alternative prey on rates of aphid consumption in the field. Molecular Ecology, 13, 3549-3560.

Harwood, J. D., Desneux, N., Yoo, H. J. S., Rowley, D. L., Greenstone, M. H., Obrycki, J. J. and O'Neil, R. J. (2007) Tracking the role of alternative prey in soybean aphid predation by Orius insidiosus: a molecular approach. Molecular Ecology, 16, 4390-4400.

Ingerson-Mahar, J. (2002) Relating diet and morphology in adult carabid beetles In The Agroecology of Carabid Beetles (Ed, Holland, J.), pp. 111-136. Intercept, Andover, UK.

Ivaldi-Sender, C. (1974) A simple technique for the permanent rearing of the oriental fruit moth, Grapholita molesta (Lepidoptera Tortricidae) on an artificial medium. Techniques simples pour un elevage permanent de la tordeuse orientale, Grapholita molesta (Lepidoptera Tortricidae) sur milieu artificiel. Annales de Zoologie, Ecologie Animale, 6, 337-343.

Jeannel, R. (1941) Coléoptères Carabiques. In Faune de France, Vol. 39-40. Librairie de la Faculté des Sciences, Paris, France.

Jumean, Z., Jones, E. and Gries, G. (2009) Does aggregation behavior of codling moth larvae, Cydia pomonella, increase the risk of parasitism by Mastrus ridibundus? Biological Control, 49, 254-258.

King, R. A., Read, D. S., Traugott, M. and Symondson, W. O. C. (2008) Molecular analysis of predation: a review of best practice for DNA-based approaches. Molecular Ecology, 17, 947-963.

King, R. A., Vaughan, I. P., Bell, J. R., Bohan, D. A. and Symondson, W. O. C. (2010) Prey choice by carabid beetles feeding on an earthworm community analysed using species- and lineage-specific PCR primers. Molecular Ecology, 19, 1721-1732.

Knight, A. L. and Light, D. M. (2005) Seasonal flight patterns of codling moth (Lepidoptera : Tortricidae) monitored with pear ester and codlemone-baited traps in sex pheromone-treated apple orchards. Environmental Entomology, 34, 1028-1035.

Koss, A. M. and Snyder, W. E. (2005) Alternative prey disrupt biocontrol by a guild of generalist predators. Biological Control, 32, 243-251.

Krebs, J. R., Wilson, J. D., Bradbury, R. B. and Siriwardena, G. M. (1999) The second silent spring? Nature, 400, 611-612.

Kuusk, A. K. and Ekbom, B. (2010) Lycosid spiders and alternative food: Feeding behavior and implications for biological control. Biological Control, 55, 20-26.

Landis, D. A., Wratten, S. D. and Gurr, G. M. (2000) Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. Annual Review of Entomology, 45, 175-201.

Landry, B., Powell, J. A. and Sperling, F. A. H. (1999) Systematics of the Argyrotaenia franciscana (Lepidoptera : Tortricidae) species group: Evidence from mitochondrial DNA. Annals of the Entomological Society of America, 92, 40-46.

Letourneau, D. K. and Bothwell, S. G. (2008) Comparison of organic and conventional farms: challenging ecologists to make biodiversity functional. Frontiers in Ecology and the Environment, 6, 430-438.

Lloyd, D. C. (1960) Significance of the type of host plant crop in successful biological control of insect pests. Nature, 187, 430-1.

Loreau, M., Naeem, S., Inchausti, P., Bengtsson, J., Grime, J. P., Hector, A., Hooper, D. U., Huston, M. A., Raffaelli, D., Schmid, B., Tilman, D. and Wardle, D. A. (2001) Ecology - Biodiversity and ecosystem functioning: Current knowledge and future challenges. Science, 294, 804-808.

Lovei, G. L. and Sunderland, K. D. (1996) Ecology and behavior of ground beetles (Coleoptera: Carabidae). Annual Review of Entomology, 41, 231-256.

Mills, N. (2005) Selecting effective parasitoids for biological control introductions: Codling moth as a case study. Biological Control, 34, 274-282.

Minarro, M., Espadaler, X., Melero, V. X. and Suarez-Alvarez, V. (2009) Organic versus conventional management in an apple orchard: effects of fertilization and tree-row management on ground-dwelling predaceous arthropods. Agricultural and Forest Entomology, 11, 133-142.

Mols, C. M. M. and Visser, M. E. (2002) Great tits can reduce caterpillar damage in apple orchards. Journal of Applied Ecology, 39, 888-899.

Mols, C. M. M., van Noordwijk, A. J. and Visser, M. E. (2005) Assessing the reduction of caterpillar numbers by Great Tits Parus major breeding in apple orchards. Ardea, 93, 259-269.

Mols, C. M. M. and Visser, M. E. (2007) Great Tits (Parus major) Reduce Caterpillar Damage in Commercial Apple Orchards. PLoS One, 2, 3.

Monzo, C., Sabater-Munoz, B., Urbaneja, A. and Castanera, P. (2011) The ground beetle Pseudophonus rufipes revealed as predator of Ceratitis capitata in citrus orchards. Biological Control, 56, 17-21.

Navaneethan, T., Strauch, O., Besse, S., Bonhomme, A. and Ehlers, R. U. (2010) Influence of humidity and a surfactant-polymer-formulation on the control potential of the entomopathogenic nematode Steinernema feltiae against diapausing codling moth larvae (Cydia pomonella L.) (Lepidoptera: Tortricidae). Biocontrol, 55, 777-788.

Pfiffner, L., Luka, H., Schlatter, C., Juen, A. and Traugott, M. (2009) Impact of wildflower strips on biological control of cabbage lepidopterans. Agriculture Ecosystems & Environment, 129, 310-314.

Poltronieri, A. S., Silva, E. D. B. d., Araujo, E. S., Schuber, J. M. and Pastori, P. L. (2008) Biological characteristics of two strains of Trichogramma pretiosum Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) of the oriental fruit moth eggs of different ages. Caracteristicas biologicas de duas linhagens de Trichogramma pretiosum Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos da mariposa-oriental com diferentes idades. Boletin de Sanidad Vegetal, Plagas, 34, 349-356.

Prasad, R. P. and Snyder, W. E. (2006) Polyphagy complicates conservation biological control that targets generalist predators. Journal of Applied Ecology, 43, 343-352.

Pruess-Ustuen, A., Vickers, C., Haefliger, P. and Bertollini, R. (2011) Knowns and unknowns on burden of disease due to chemicals: a systematic review. Environmental Health, 10.

R Development Core Team (2010) Vienna, Austria. R Foundation for Statistical Computing: 3-900051-07-0. http://www.r-project.org.

Reyes, M., Franck, P., Olivares, J., Margaritopoulos, J., Knight, A. and Sauphanor, B. (2009) Worldwide variability of insecticide resistance mechanisms in the codling moth, Cydia pomonella L. (Lepidoptera: Tortricidae). Bulletin of Entomological Research, 99, 359-369.

Riddick, E. W. and Mills, N. J. (1994) Potential of adult carabids (Coleoptera: Carabidae) as predators on 5th instar codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) in apple orchards in California. Environmental Entomology, 23, 1338-1345.

Riga, E., Lacey, L. A., Guerra, N. and Headrick, H. L. (2006) Control of the oriental fruit moth, Grapholita molesta, using entomopathogenic nematodes in laboratory and fruit bin assays. Journal of nematology, 38, 168-71.

Roberts, M. J. (1996) Spiders of Britain and Nothern Europe, HarperCollins, London, UK.

Rothschild, G. H. L. and Vickers, R. A. (1991) Biology, ecology and control of the oriental fruit moth In Tortricid Pests, Their Biology, Natural Enemies and Control(Eds, Van der Geest, L. P. S. and Evenhuis, H. H.), pp. 389-412. Elsevier Science Publishers, Amsterdam.

Rozen, S. and Skaletsky, H. (2003) Primer 3 on the WWW for general users and for biologist programmers. In Bioinformatics Methods and Protocols: Methods in Molecular Biology(Eds, Krawetz, S. and Misener, S.), pp. 364–386. Humana Press, Totowa, NJ.

Solomon, M. E. and Glen, D. M. (1979) Prey density and rates of predation by tits (Parus spp) on larvae of codling moth (Cydia pomonella) under bark. Journal of Applied Ecology, 16, 49-59.

Straub, C. S. and Snyder, W. E. (2006) Species identity dominates the relationship between predator biodiversity and herbivore suppression. Ecology, 87, 277-282.

Straub, C. S., Finke, D. L. and Snyder, W. E. (2008) Are the conservation of natural enemy biodiversity and biological control compatible goals? Biological Control, 45, 225-237.

Sunderland, K. D., Powell, W. and Symondson, W. C. (2005) Populations and communities In Insects as Natural Enemies: A Practical Perspective (Ed, Jervis, M. A.), pp. 299-434. Springer, Berlin.

Symondson, W. O. C., Glen, D. M., Erickson, M. L., Liddell, J. E. and Langdon, C. J. (2000) Do earthworms help to sustain the slug predator Pterostichus melanarius (Coleoptera : Carabidae) within crops? Investigations using monoclonal antibodies. Molecular Ecology, 9, 1279-1292.

Symondson, W. O. C., Sunderland, K. D. and Greenstone, M. H. (2002) Can generalist predators be effective biocontrol agents? Annual Review of Entomology, 47, 561-594.

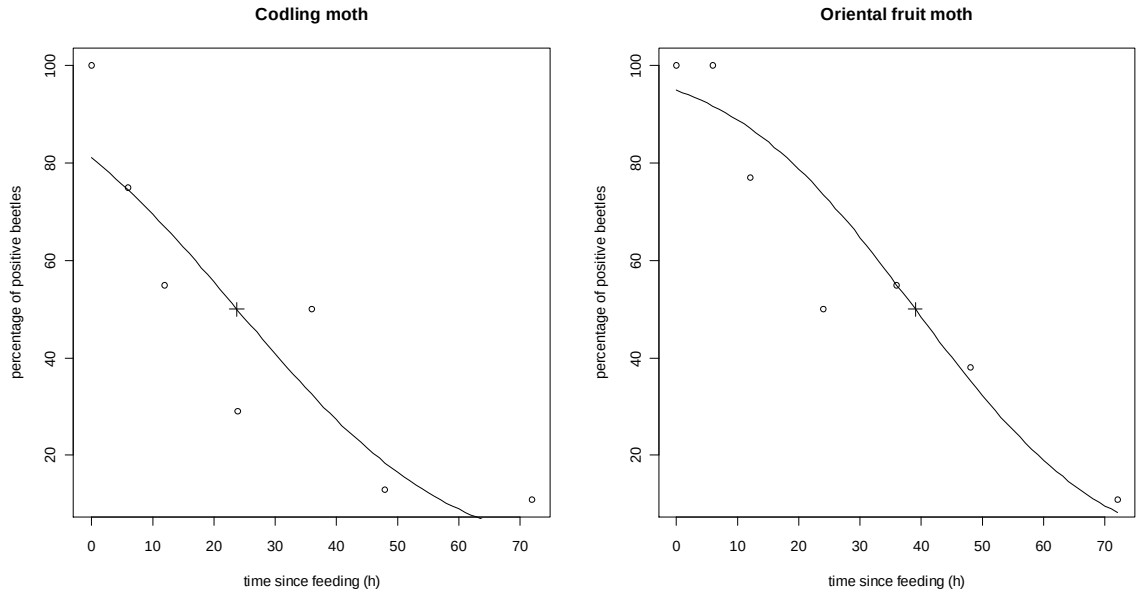
Symondson, W. O. C., Cesarini, S., Dodd, P. W., Harper, G. L., Bruford, M. W., Glen, D. M., Wiltshire, C. W. and Harwood, J. D. (2006) Biodiversity vs. biocontrol: positive and negative effects of alternative prey on control of slugs by carabid beetles. Bulletin of Entomological Research, 96, 637-645.

Szendrei, Z., Greenstone, M. H., Payton, M. E. and Weber, D. C. (2009) Molecular gut-content analysis of a predator assemblage reveals the effect of habitat manipulation on biological control in the field. Basic and Applied Ecology, 11, 153-161.

Table 1 : Species (prey and predators) tested with the codling moth and oriental fruit moth primers to establish specificity.

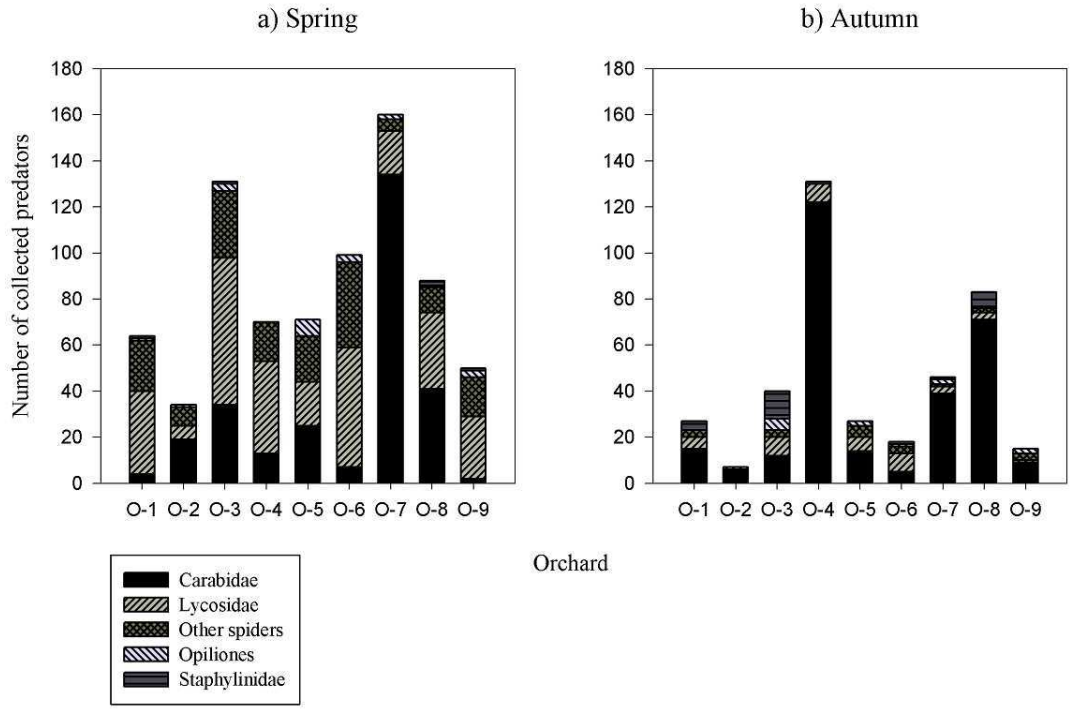
Prey				Predator			
Order	Family	Species		Order	Family	Species	
Diptera	Syrphidae	*Syrphidae sp.*		Araneae	Lycosidae	*Trochosa ruricola*	de Geer, 1778
	Tephritidae	*Bactrocera oleae*	Gmelin, 1790			*Pardosa hortensis*	Thorell, 1872
		Ceratitis capitata	Wiedemann, 1824		Gnaphosidae	*Drassodes sp.*	
					Linyphiidae	*Erigone sp.*	
Haplotaxida	Lumbricidae	*Eisenia fetida*	Savigny, 1826		Thomisidae	*Xysticus kochi*	Thorell, 1872
Hemiptera	Aphididae	*Aphis pomi*	de Geer, 1773	Coleoptera	Carabidae	*Calathus fuscipes*	Goeze, 1777
		Aphis spiraecola	Patch, 1914r			*Pseudoophonus rufipes*	de Geer, 1774
		Dysaphis plantaginea	Passerini, 1860			*Pterostichus niger*	Schalller, 1783
		Eriosoma lanigerum	Haussmann, 1802		Cicindellidae	*Cilindera germanica*	Linnaeus, 1758
					Coccinellidae	*Harmonia axyridis*	Pallas, 1773
Isopoda	Philosciidae	*Philoscia muscorum*	Scopoli, 1763		Staphylinidae	*Ocypus olens*	O.F.Müller, 1764
	Porcellionidae	*Porcellio scaber*	Latreille, 1804				
				Dermaptera	Forficullidae	*Forficula auricularia*	Linnaeus, 1758
Lepidoptera	Crambidae	*Ostrinia nubilalis*	Hübner, 1796				
	Pieridae	*Pieris brassicae*	Linnaeus, 1758	Hemiptera	Miridae	*Pilophorus perplexus*	Douglas & S, 1875
	Pyralidae	*Euzophera bigella*	Zeller, 1848			*Deraeocoris punctum*	Rambur, 1839
		Ectomyelois ceratoniae	Zeller, 1848				
	Tortricidae	*Argyrotaenia ljungiana*	Thunberg, 1797	Opiliones		*Opiliones spp.*	
		Cydia pomonella	Linnaeus, 1758				
		Grapholita molesta	Busck, 1916				
		Pandemis heparana	Denis & S, 1775				
Pulmonata	Helicidae	*Cantarus aspersus*	O.F.Müller, 1774				
	Testacellidae	*Testacellus sp.*					

Figure 1: Regression lines from the feeding trial using the carabid *Calathus fuscipes* fed on tortricid moths, showing the relationship between the percentage of beetles testing positive using PCR and time since feeding. The cross indicates the median detection period.



1 Figure 2: Composition of spring and autumn predator assemblages, as measured by pitfall

2 trapping, in nine apple orchards (O-1 to O-9).



3

Figure 3: Number of trapped predators per orchard (box plots a & b) and their predation rates (bar charts c & d) for the different sampling dates. a) and c) carabid beetles and b) and d) spiders. Black bars denote predation on codling moth with adjusted percentage of predation; white bars denote predation on oriental fruit moth." Given the fact that the digestion rates of carabid beetles and spiders are known to be very different, no direct comparison can be made between graphs c) and d).

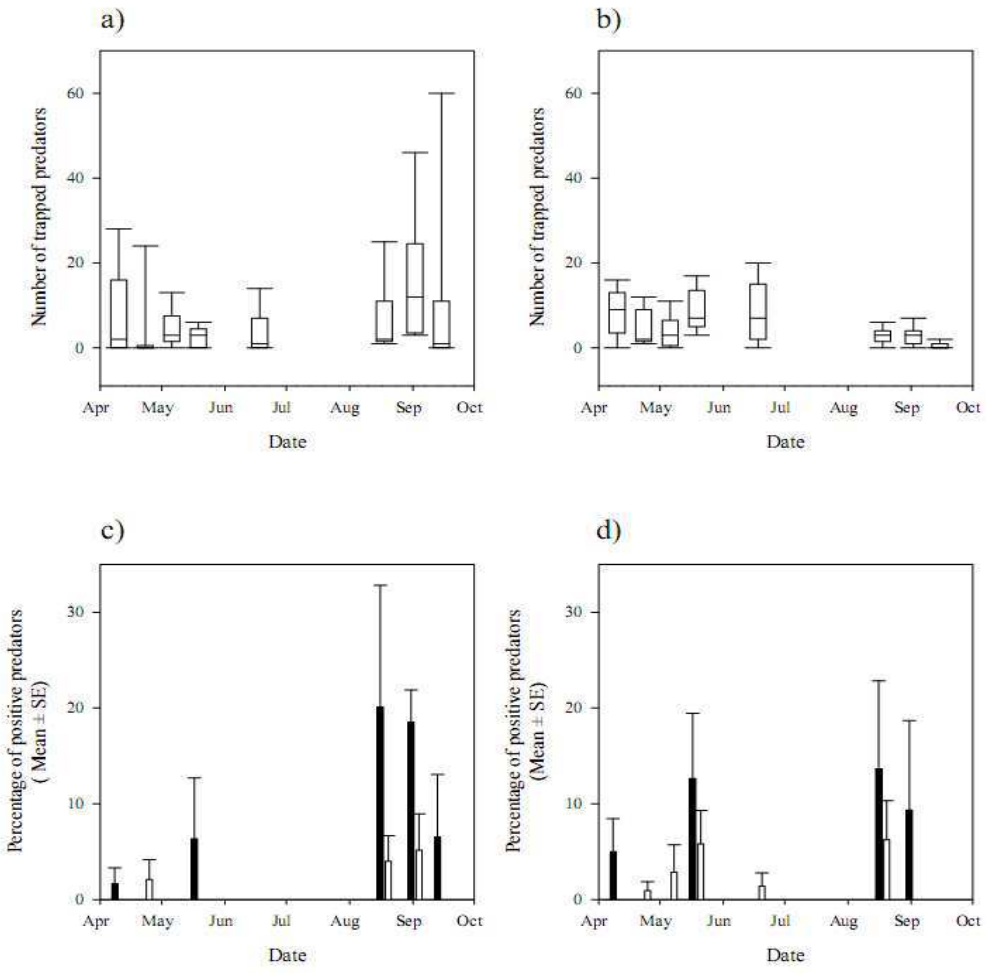


Table 2: Percentages of the overall codling moth and oriental fruit moth predation in spring and autumn by carabid beetles and spiders. The percentage of overall predation was calculated by dividing the number of positive predators by the total number of positives: for example, the number of positive carabid beetles in spring was 2 divided by a total of 8 positive predators which gives a percentage of overall predation of 25%. CM= codling moth, OFM= oriental fruit moth.

		Spring				**Autumn**			
		Number of predators	Number of positive Predators (CM;OFM)	% of overall CM predation	% of overall OFM predation	Number of predators	Number of positive Predators (CM; OFM)	% of overall CM predation	% of overall OFM predation
Carabidae		**185**	**(2 ; 1)**	**25**	**8.3**	**282**	**(21 ; 12)**	**87.5**	**85.7**
	Pseudoophonus rufipes (de Geer, 1774)	11	(1 ; 0)	12.5	0	199	(16 ; 7)	66.7	50
	Pseudoophonus griseus (Panzer, 1796)	13	(0 ; 0)	0	0	46	(5 ; 5)	20.8	35.7
	Harpalus dimidiatus (P. Rossi, 1790)	18	(1 ; 0)	12.5	0	-	-	-	-
	Harpalus affinis (Schrank, 1781)	16	(0 ; 1)	0	8.3	-	-	-	-
	Other carabid beetles	127	(0 ; 0)	0	0	37	(0 ; 0)	0	0
Spider		**315**	**(6; 11)**	**75**	**91.7**	**56**	**(3 ; 2)**	**12.5**	**14.3**
	Lycosidae	204	(4 ; 6)	50	50	39	(3 ; 2)	12.5	14.3
	Linyphiidae	32	(0; 2)	0	16.7	10	(0 ; 0)	0	0
	Thomisidae	24	(1; 1)	12.5	8.3	-	-	-	-
	Other spiders	20	(1; 1)	12.5	8.3	3	(0 ; 0)	0	0
Total		**500**	**(8 ; 12)**	**100**	**100**	**338**	**(24 ; 14)**	**100**	**100**

Other carabid beetles were *Amara aenea* (de Geer, 1774), *Amara familiaris* (Duftschmid, 1812), *Calathus fuscipes* (Goeze, 1777), *Harpalus distinguendus* (Duftschmid 1812), *Harpalus smaragdinus* (Duftschmid 1812), *Ophonus azureus* (Fabricius, 1775). Other spiders were *Drassodes spp* and *Zodarion spp.*

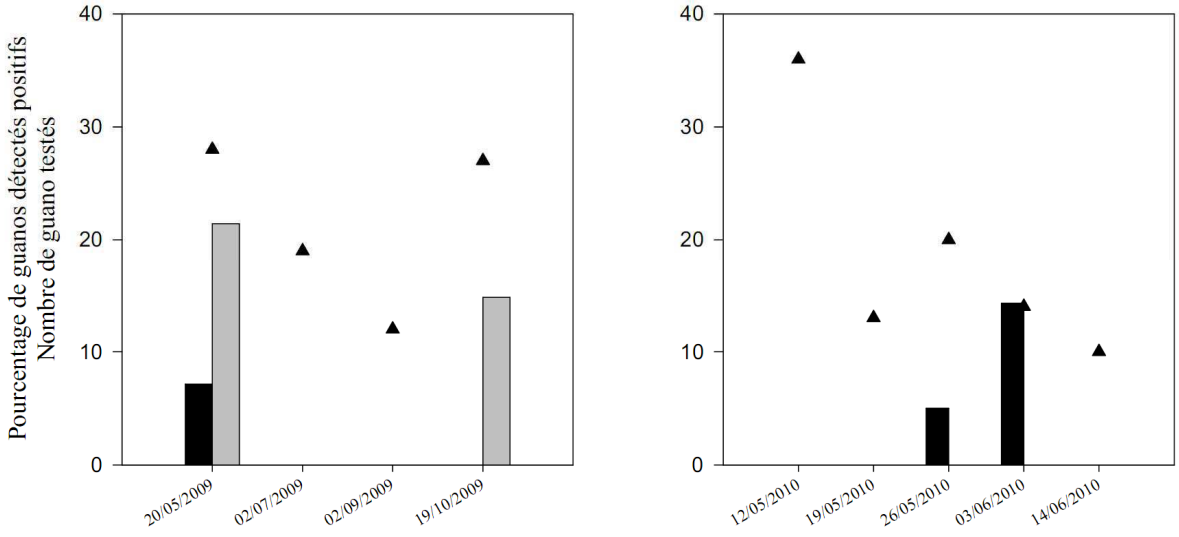
2) Les chauves-souris

~ *Matériels et méthodes*

Les gîtes ont été équipés de glissières de récupération de guanos en dessous de leur entrée. Nous avons effectué 4 passages en 2009 couvrant l'ensemble de la saison de reproduction du carpocapse de la pomme et de la tordeuse orientale (20 mai, 2 juillet, 2 septembre, 10 octobre), et en 2010 nous avons fait 5 relevés hebdomadaires de début mai à début juin pour observer la consommation de tordeuses adultes de première génération par les chauves-souris. Lors de chaque échantillonnage d'un gîte, jusqu'à 10 guanos récents dont la fraîcheur était jugée par leur humidité et couleur, étaient prélevés à la pince un à un pour être placés dans un tube eppendorf rempli d'alcool absolu. La pince était passée sous la flamme d'un briquet entre chaque prélèvement de guano pour éviter des contaminations. Les guanos étaient ensuite conservés à -20°C. J'ai extrait l'ADN des guanos grâce au stool mini kit de Qiagen en suivant le protocole décrit dans Puechmaille et al. (2007). J'ai utilisé les mêmes conditions de PCR diagnostique spécifique du carpocapse de la pomme et de la tordeuse orientale présentée dans l'article 1 (p.58). Par ailleurs, S. Puechmaille (University College Dublin) a contribué à cette analyse en identifiant à quelles espèces de chauves-souris appartenaient les guanos testés positifs par des marqueurs génétiques spécifiques qu'il a développé (protocole non publié).

~ *Résultats*

Certains gîtes étant inoccupés, le nombre de guanos collectés a été assez limité pour certaines dates (Figure III.3). Au total 171 guanos ont été analysés. Des guanos se sont révélés positifs dès le mois de mai 2009 et 2010, prouvant la consommation d'adultes de tordeuses émergeant de larves diapausantes de l'hiver précédent. Pendant l'été 2009, pour les prélèvements du 02 juillet et du 02 septembre, aucun guano n'a été révélé positif. Cependant étant donné le faible nombre de guanos prélevés à ces dates et l'absence de données concernant les vols de tordeuse à ces mêmes dates, nous ne pouvons conclure sur cette période. Les guanos positifs appartenaient à deux espèces de pipistrelles communes dans cette région, la pipistrelle de Kuhl, *Pipistrellus Kuhlii* (K.), et la pipistrelle soprane, *Pipistrellus pygmaeus* (L.).



<u>Figure III.3</u> : Histogramme du pourcentage de guanos détectés positifs pour la consommation de carpocapse de la pomme (en noir) et de la tordeuse orientale (en gris), et le nombre de guanos testés (triangles) pour quatre dates de mai à octobre 2009 et pour cinq dates en 2010.

~ *Conclusions spécifiques*

Les résultats sur chauves-souris ont besoin d'être affinés par une nouvelle campagne d'échantillonnage sur un plus grand nombre de gîtes pour récupérer plus de guanos et en suivant la phénologie de vol des tordeuses. Cependant, nous avons pu mettre en évidence que les chauves-souris consomment des adultes de tordeuses dès leur émergence à la sortie de l'hiver, présageant de leur potentiel comme régulateur de ces ravageurs. Nous avons ainsi observé que les espèces qui investissent les gîtes et consomment des tordeuses sont des espèces communes. Ces résultats prometteurs nous indiquent que les chauves-souris sont susceptibles d'être des agents de régulation intéressants du carpocapse de la pomme et de la tordeuse orientale.

<u>3) Les mésanges</u>

~ *Matériels et méthodes*

La récupération de fientes a constitué une limite importante d'investigation de ce groupe de prédateurs. Seule la récupération de fientes d'oiseaux adultes hivernants dans les nichoirs installés dans les vergers (planche amovible) a été possible. Les oiseaux adultes investissent ces refuges pour l'hiver assez tardivement à l'automne (début novembre). Nous avons donc commencé à collecter des fientes à partir du 10 novembre 2009 puis hebdomadairement jusqu'à fin janvier 2009 (10 prélévements). Lors de chaque échantillonnage d'un nichoir, les

fientes étaient prélevées à la pince une à une pour être placées dans un tube eppendorf rempli d'alcool absolu. La pince était passée sous la flamme d'un briquet entre chaque prélèvement pour éviter des contaminations. Les fientes étaient ensuite conservées à -20°C. J'ai extrait l'ADN des fientes grâce au stool mini kit de Qiagen en suivant le protocole du fournisseur. J'ai utilisé les mêmes conditions de PCR diagnostique spécifique du carpocapse de la pomme et de la tordeuse orientale présentée dans l'article 1.

~ *Résultats*

55 fientes prélevées en novembre 2009 ont été analysées se révélant toutes négatives à la fois pour la consommation en carpocapse de la pomme et en tordeuse orientale. Cela suggère que les mésanges consommeraient plutôt les larves diapausantes en début d'automne lorsqu'elles sont abondantes (de août à octobre) .

~ *Conclusions spécifiques*

La difficulté à collecter des fientes a empêché une étude plus approfondie de ce groupe concernant leur période d'action sur le carpocapse de la pomme et la tordeuse orientale. En effet, l'action de ces insectivores sur les larves de tordeuses en début d'automne et sur les adultes au printemps n'a pas encore été testée.

B. Prédation sur le puceron cendré

1) Les araignées de la frondaison

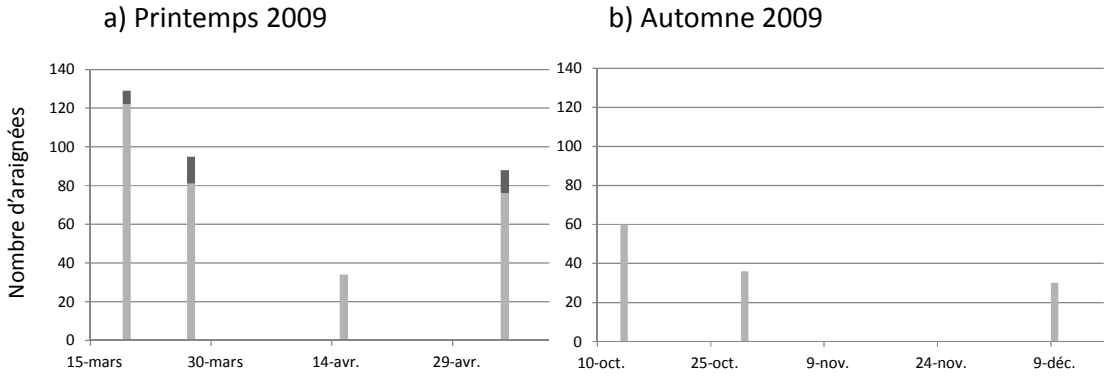
~ *Matériels et méthodes*

Des araignées de la frondaison ont été prélevées de mars à mai 2009 (4 dates) par bande-piège (protocole de l'article 4) dans 9 vergers biologiques de la zone d'étude (planche amovible) puis d'octobre à décembre 2009 (3 dates) suivant le même protocole. De plus, un suivi plus fin des dynamiques d'émergence des fondatrices de pucerons des pommiers à partir des œufs d'hiver jusqu'à la formation des premières colonies et de la consommation de pucerons par les araignées a été effectué de mars à fin avril 2010. Ces résultats sont présentés dans l'article 2 (p.97). Au total 472 araignées et 139 araignées ont été testées en PCR diagnostique spécifique au puceron cendré en 2009 et 2010 (Protocole dans l'article 2).

~ *Résultats*

Les premières araignées positives ont été révélées dès mi-mars lorsque le puceron cendré est au stade de fondatrice puis jusqu'en mai lorsque les colonies sont installées (figure III.4 et article 2). De plus, l'analyse des jeux de données des articles 2 et 4 a montré que seule la taille des araignées influençait leur consommation en pucerons indépendamment des autres traits fonctionnels testés (stratégie de chasse, maturité, microhabitat et activité journalière).

En revanche, aucun lien trophique n'a été observé au cours de l'automne entre araignées de la frondaison et puceron cendré au stade adulte ailé (figure III.4). Pourtant, Wyss et al. (1995) avait observé que les migrants ailés était consommés au printemps par les araignées tisseuses de toile. Cela peut s'expliquer par la méthode d'échantillonnage par bande-piège qui nous a permis de collecter essentiellement des araignées chasseuses ou des araignées tisseuses de toile en dehors de leur toile. Or ces araignées n'avaient pas été observées dans l'étude de Wyss et al. (1995). Il semble donc que les araignées qui ne forment pas de toile ou en dehors d'une toile, ne capturent pas les migrants ailés. Il est vraisemblable en effet que les pucerons à ce stade fuit leurs prédateurs par le vol mais se font capturer par les toiles.



<u>Figure III.4</u> : Phénologie de la prédation du puceron cendré par les araignées de la frondaison au printemps et automne 2009. Les araignées qui ont été révélées positives à la consommation de puceron cendré sont représentées en gris foncé et celles révélées négatives en gris clair.

~ *Conclusions spécifiques*

Les araignées de la frondaison forment un groupe de prédateur potentiellement important dans régulation du puceron cendré en verger de pommier car elles en consomment au stade « fondatrice » empêchant la mise en place de colonie et, au stade de migrants ailés (d'après Wyss et al. 1995) empêchant la ponte d'œufs d'hiver. Il serait intéressant néanmoins d'adapter le protocole d'échantillonnage pour étudier plus en détail la consommation des araignées à toile à l'automne grâce à la PCR diagnostique.

Article 2

Submitted in Basic and Applied Ecology

Early-season predation on aphids by winter-active spiders in apple orchards revealed by diagnostic PCR.

Authors: Catherine Boreau de Roincé[a,b,c], Claire Lavigne[b], Jean-François Mandrin[a], Christine Rollard[d] and William O.C. Symondson[c]

a : Centre technique interprofessionnel des fruits et légumes, centre de Balandran, BP 32, 30127 Bellegarde, France.

b : INRA, UR 1115, Plantes et Systèmes de culture Horticoles, F-84000, Avignon, France.

c : Cardiff School of Biosciences, Cardiff University, Biomedical Sciences Building, Museum Avenue, Cardiff CF10 3AX, UK,

United Kingdom; e-mail: symondson@cardiff.ac.uk

d : Muséum national d'Histoire naturelle, Dept Systématique & Evolution, USM OSEB, 61 rue Buffon, CP 53, 75005 Paris, France.

Running title : spider predation on aphids

Number of words: 4485

Corresponding author :

Catherine Boreau de Roincé.

Tél : +33 (0)4 66 01 10 54

Fax : +33 (0)4 66 01 62 28

Mail : boreau@ctifl.fr

Abstract:

Aphids are important pests in apple orchards, debilitating the crop and spreading disease. We investigated whether early-season predation by canopy spiders may be affecting biological control of aphids in three organic orchards. For this purpose, we monitored the aphid population dynamics and compared this to spider abundances and rates of predation on aphids detected by diagnostic PCR. For the latter we applied existing general aphid primers plus newly designed primers specific to the rosy apple aphid (*Dysaphis plantaginea*). We found that spiders ate colony foundresses and that aphid numbers were negatively related to spider abundance. Spiders were the main active predators within the orchards when the first colony foundresses were present, indicating their importance in the early control of aphid populations.

Keywords: *Aphis pomi*; Conservation biological control; Diagnostic PCR; *Dysaphis plantaginea*; Generalist predator; Gut content analysis.

Introduction

In European apple orchards the rosy apple aphid *Dysaphis plantaginea* (Passerini), the green apple aphid *Aphis pomi* (de Geer) and the woolly apple aphid *Eriosoma lanigerum* (Hausmann) are considered to be the three main aphid pests of economic importance (Marc & Canard, 1997). In particular, *D. plantaginea* is the most detrimental causing yield reduction from 30% (Deberardinis, Baronio & Baumgartner, 1994; Blommers, Helsen & Vaal, 2004) to 80% (Qubbaj, Reineke & Zebitz, 2005). *D. plantaginea* and *A. pomi* include in their life cycle the apple tree Malus domestica Borkh. (Rosales: Rosaceae) as a primary host (D. plantaginea) or as a permanent host (A. pomi). Their eggs which are laid in autumn close to apple shoots start to hatch in late March. The migration of *D. plantaginea* winged adults to their secondary host, the plantain herb *Plantago* spp., (Lamiales: Plantaginaceae) begins in May and lasts until the end of June (Bonnemaison, 1959; Carroll & Hoyt, 1984). Due to the exponential growth rate of these aphids and their high damage risk, insecticide control is usually initiated at very low population levels. For example, insecticide treatment is recommended when one *D. plantaginea* foundress is observed on a sample of 100 shoots (Minarro, Hemptinne & Dapena, 2005).

The need to control these aphid populations by non-chemical methods has stimulated research into the potential of natural enemies (Carroll et al., 1984; Mueller, Blommers & Mols, 1988; Brown, 2004; Minarro et al., 2005; Fréchette, Cormier, Chouinard, Vanoosthuyse & Lucas, 2008; Dib, Simon, Sauphanor & Capowiez, 2010). Two phases of control involving different groups of predators can be distinguished. Early in the season, before the colonies build-up, biological control of aphid requires resident and actively foraging predators that are efficient at finding aphids even at very low density. These predators can have a low predation rate because of the large impact that removal of small numbers of individuals can have on subsequent prey densities (Murdoch, Chesson & Chesson, 1985; Chang & Kareiva, 1999). At that time, target natural enemies are usually generalist predators because they are able to remain present in absence of a target pest, sustained of alternative prey (Symondson, Sunderland & Greenstone, 2002). But as soon as the colonies are established, during the exponential growth phase, biological control of aphid requires natural enemies which have a high predation rate and/or growth rate, and are actively searching for colonies (Murdoch et al., 1985).

Among generalist predators of aphid, spiders possess characteristics that make them well-adapted for the early control of aphids. They are present on the canopy (Pekar & Kocourek,

2004; Simon, Bouvier, Debras & Sauphanor, 2009) and some species actively hunt in winter (Marc et al., 1997; Miliczky, Horton & Calkins, 2008; Korenko & Pekar, 2010a). In many instances spiders kill more preys that they consume (Riechert & Lockley, 1984; Greenstone, 1999). Wyss et al. (1995) looking at aphid remains in spider webs found that web-building spiders contribute to the biological control of the alate migrants in autumn. However, other studies looking at communities of aphid predators (Brown, 2004; Minarro et al., 2005; Dib et al., 2010) concluded that spiders should not be considered as biocontrol agent of aphids because of their low abundance and predation rates compared to other groups such as earwigs, ladybirds, syrphid and cecidomyiid flies, lacewigs and bugs. As these studies were looking at the predation of well established aphid colonies, their conclusion neglected the potential impact of spiders during the early phase of colony establishment.

Here, we hypothesised that spiders are important predators that contribute to the early-season control of aphid pests in apple orchards. This hypothesis supports three main statements: 1. winter-active spiders eat aphid foundresses, 2. later appearance of colonies is negatively correlated with spider abundance early in the season, 3. other natural enemies arrive when colonies are established. To address this question, the population dynamics of aphids and canopy-dwelling spiders were followed from mid-march until end of April in three organic orchards. The predation on aphid by spiders was studied by gut content analyses with diagnostic PCRs using general aphid primers and newly designed *D. plantaginea* specific primer. Gut content analysis of predation by spiders on aphids has been widely used in cereal crops (see references in Harwood & Obrycki, 2005; Kuusk, Cassel-Lundhagen, Kvarnheden & Ekbom, 2008). This has been shown to be a reliable method to study fluid feeders predation in the field without disrupting the system (Greenstone, 1999; King, Read, Traugott & Symondson, 2008).

Material and methods

General aphid primers (Chen, Giles, Payton & Greenstone, 2000), plus new primers specific for *D. plantaginea*, were tested for their ability to amplify DNA from aphid species found in the orchards, in order to study predation on aphids in general, and *D. plantaginea* in particular, by canopy spiders. Three organic orchards were then monitored weekly to measure aphid population dynamic and to collect spiders for subsequent gut content analysis.

Aphid and D. plantaginea *diagnostic PCRs*

Design of the *D.plantaginea* specific primers

658 bp fragments of the cytochrome oxydase one gene (COI) from field-caught D. plantaginea (Accession no. JN546627, JN546628 and JN546629) were amplified using the general arthropod primers LCO1490 and HCO2198 (Folmer, Black, Hoeh, Lutz & Vrijenhoek, 1994). The sequences were aligned, using Bioedit, with other sequences of apple aphids, *A. pomi* (Accession no. EU701479.1, EU701478.1 and EU701477.1), *Aphis spiraecola* (Pagenstecher) (Accession no. EU701504.1, EU701503.1 and EU701502.1), E. lanigerum (Accession no. EU701660.1 and EF534360.1), *Myzus ornatus* (Laing) (Accession no. EU701794.1 and DQ499044.1), *Myzus varians* (Davidson) (Accession no. EU701805.1 and FJ982389.1) and *Rhopalosiphum insertum* (Walker) (Accession no. EU701889.1 and EU701888.1). Species-specific primers for *D. plantaginea* were then designed (Dp-F 5'-GTTATCAAATAATATTGCACAC-3' and Dp-R 5'-CAAATAAAATTAATTGCTCCTAG-3') targeting sites with no intra-specific but high inter-specific variation and amplifying a 105 bp fragment. Annealing temperature and primers concentrations were then optimised. The PCR reactions were carried out in a 10µL volume reaction with Qiagen multiplex kit as follow: 1 µL of template DNA, 5 µL Multiplex solution (HotStar Taq), 1 mM bovine serum albumin (Promega), 0.4 µM of each primer. After an initial denaturing step of 15 min at 95°C, a cycle of 94°C for 30s, 57.5 °C for 30s and 72°C for 45 s, were repeated 34 times, and then a last extension period at 72°C for 5 min was performed. PCR products were separated by electrophoresis in a 2% agarose gel with TBE buffer and visualised by ethidium bromide staining. To assess the specificity of the *D. plantaginea* primers, cross-amplification tests were conducted on DNA from 34 non-target invertebrate species (Table 1).

Evaluation of the general aphid primers

The general aphid primers designed by Chen et al. (2000) for cereal aphids were tested for the amplification of the DNA from apple aphids (*D. plantaginea*, *A. pomi*, *A. spiraecola* and *E. lanigerum*) and stonefruit aphids (*Myzus cerasi* (Fabricius), *Myzus persicae* (Sulzer) and *M. varians*). PCR were carried out in a 10 µL volume reaction using 1 µL DNA template and the PCR conditions detailed in Chen et al. (2000).

Spider collection and aphid monitoring

The three organic apple orchards were situated within a 5 km² area in south-eastern France. In early March 2010, shoots on which at least one aphid egg was observed were marked with coloured plastic strips. *D. plantaginea* eggs were indistinguishable from those of other species. For statistical independence, each marked shoot was on a different tree. Respectively, 17, 14 and 30 shoots were marked in orchards 1, 2 and 3. To collect spiders within all canopy habitats, two cardboard traps (10 cm width bands) that mimic tree bark were installed on each sampled tree, one wrapped around the branch next to the marked shoot and the other around the main trunk (1 m above the ground). This trapping method is considered the best technique to sample spiders that use tree bark as a shelter (Mizell & Schiffhauer, 1987), as well as the web-building spiders when the foliage is absent (Marc et al., 1997). The shoot was considered the sampling unit for aphid numbers and the two cardboards traps the sampling unit for the spider community. The marked shoots were observed weekly for foundresses and the presence of colonies on six occasions in early spring (22 and 31 March; 7, 14, 22 and 27 April). Because *A. pomi*, is very similar to *R. insertum* and *A. spiraecola*, these aphid species were not identified at species level. On 6 May, trees corresponding to the marked shoots were completely examined and the number of colonies and aphid per colonies (*D. plantaginea* and others) were assessed. Spiders were collected at the same time as the aphid monitoring except on the last date (27 April) for all orchards and on the 22 March in orchard 2. Spider collection was adapted in orchard 3 whose trees were young. In order to avoid local population depletion, spiders were retrieved in trees marked even (15 trees) one week and in trees marked uneven (15 trees) the following week. Spiders were collected individually into Eppendorf tubes then stored in a cool box (4°C) for a maximum of 3 h and frozen at - 20°C in the laboratory. They were identified before DNA extraction. Identification was to genus level only for species for which juveniles cannot be determined to species. The DNA was extracted with the Qiagen DNeasy® blood & Tissue extraction kit, resuspended in 200 µl of manufacturer's elution buffer and stored at −20 ° C. Finally, extraction success was verified by amplification of the spider DNA with the universal arthropod primers LCO1490 and HCO2198 (Folmer et al., 1994) and any possibility of cross-over contamination within batches of samples was excluded by the use of negative controls (water) (King et al., 2008) .

Data analysis

The small size of *D. plantaginea* data (colonies and positive spiders) did not permit separate statistical analyses specific for this species.

Factors influencing aphid predation by spiders

The effects of orchard, spider identity (species or genus level), canopy habitat (branch or trunk), aphid population (number of aphid per shoot) and date were tested against the probability of detecting aphid DNA in the spider guts, using a general linear model with binomial family errors and logit link function (R Development Core Team, 2010).

Effect of spiders on the emergence of aphid colonies

The binary variable "presence or absence of aphid colonies in the shoot on the 22 April" was set up from the aphid records. The spider abundances on all dates (22 March to 22 April) in the corresponding tree were pooled. The number of aphid-positive spiders was calculated as the sum of all positive spiders for aphid predation on the same dates. The effects of orchard, spider abundance and predation on the presence/absence of aphid colonies were tested using a generalised linear model with binomial family errors and logit link function.

Results

D. plantaginea *and aphid specific primers*

The *D. plantaginea* primers were found to be specific for its target (Table 1) and the general aphid primers only failed to amplify the DNA from *E. lanigerum* which was not observed in the orchards.

Aphid dynamics

The mean number of eggs per shoot was respectively 1.3 ± 0.1 (mean ± SE), 1.0 ± 0.0 and 1.3 ± 0.2 in orchards 1, 2 and 3. The first foundresses were recorded on 22 March and the first *D. plantaginea* colony was observed on the 22 April, two weeks after the first appearance of other aphid colonies (7 April). *D. plantaginea* colonies represented 23.5% of the total number of colonies on the 27 April (10 colonies) and 71% of the total number of colonies on the 6 May (27 colonies). At the end of the shoot monitoring (27 April), 23.6% of the marked shoots

were infested by an aphid colony in orchard 1, 13.3% in orchard 3 and none in orchard 2. On 27 April, the aphid population was at the beginning of its exponential growth phase (Fig.1).

Spider communities and other predators

In total, 139 spiders were collected in the three orchards (72, 20 and 57 in orchards 1, 2 and 3 respectively) (Table 2). The mean numbers of spiders collected per tree and sampling occasion were respectively 0.85 ± 0.09, 0.71 ± 0.22 and 0.34 ± 0.09 (mean ± SE) in orchards 1, 2 and 3. The spider communities differed between orchards. Orchard 1 and orchard 3 displayed specie-rich communities; orchard 3 was dominated by *Philodromus* spp. orchard 2 particularly lacked web-building and sit-and-wait spiders (Table 2).

Predation by spiders on aphids

Spiders were found positive for *D. plantaginea* and other aphids from 22 March, which was two weeks before the first observation of colonies (Fig.1). In consequence, from 22 March to 7 April, it is likely that spiders attacked foundresses. The probability of detecting aphid DNA in the spider guts increased with the number of aphids per shoot ($F = 7.52$, $df = 1$, $p = 0.007$) and depended on the date ($F = 4.00$, $df = 4$, $p = 0.004$) but was not explained by spider identity ($F = 1.37$, $df = 20$, $p = 0.15$), orchard ($F = 2.40$, $df = 2$, $p = 0.09$) and canopy habitat, i.e branch or trunk, ($F = 0.16$, $df = 1$, $p = 0.69$). No predators known as natural enemies of aphids were observed in the colonies before the 6 May.

Effect of spiders on the presence of colonies

The presence of aphid colonies on 22 April was negatively related to spider abundance ($F = 6.035$, $df = 1$, $p = 0.017$), number of aphid-positive spiders ($F= 10.023$, $df = 1$, $p = 0.003$) and orchard ($F = 3.167$, $df = 2$, $p = 0.049$) due to orchard 2 where no colony emerged from the winter eggs observed at the beginning of this experiment (Fig.1). The relationship was negative (parameter estimation = -1.134) for spider abundance only, showing that shoots from trees with more spiders were less likely to harbour an aphid colony. And the presence of aphid colonies was positively related (parameter estimation = 2.321) to the number of aphid-positive spiders, suggesting density dependent predation on aphids.

Discussion

The impact of the early-season predation by spiders on aphid population was studied by analysing early-season aphid population dynamics, spider abundances and predation rates on aphids. The gut content analyses revealed predation events on *D. plantaginea* and other aphid foundresses. The spider identity, and their location within the canopy, had no effect on predation rates while aphid abundance had a positive effect. Moreover, the presence of an aphid colony on a shoot was negatively correlated with early-season spider abundance in the corresponding tree.

Previous studies hypothesized that spiders could play an important role in the control of pests during winter (Marc et al., 1997; Marc, Canard & Ysnel, 1999; Korenko et al., 2010a) because some spiders are able to remain active in winter and hunt for prey at low temperatures (Korenko, Pekar & Honek, 2010b). Indeed, our results clearly showed that spiders preyed upon colony foundresses. They also showed that spiders were mobile within the canopy as the spiders collected on the trunk were equally positive for predation on aphid as spiders collected on the shoots where the eggs/foundresses were present. Moreover no predators reported as aphid natural enemies were active during March and early April. These observations are consistent with experimental records of activities levels among natural enemies. The temperature thresholds of development of the *D. plantaginea* and *A. pomi* are respectively 4.5 °C and 5.9°C (Graf, Baumgärtner & Delucchi, 1985) which means that predators must be active around this temperature threshold to prey upon foundresses. Korenko et al. (2010b) showed that *Philodromus* spp. and *Anyphaenea accuentata* (Walckenaer), which were present in the study orchard, had lower temperature thresholds of predatory activity than the developmental thresholds of *D. plantaginea* and *A. pomi* (1.2°C and 3.5°C respectively). In consequence, these winter active spiders are above their temperature threshold for development when the first *D. plantaginea* and *A. pomi* eggs hatch. By contrast, temperature thresholds for other predators on apple tree are higher than those for the aphids, with 6 °C for the earwig *Forficula auricularia* (Helsen, Vaal & Blommers, 1998) and the hoverfly *Episyrphus balteatus*, 9.0 °C for the ladybird *Adalia bipunctata* and 10.5 °C for the cecidomyiid fly *Aphidoletes aphidimyza* (reviewed in Minarro et al., 2005). These predators were indeed reported to prey upon aphids later in the season when the first colonies are already established (Dib et al., 2010). Thus temporal niche partitioning (Finke & Snyder, 2010) for aphids as a prey resource results from this difference in phenology among predators, reducing predator interference and limiting temporal refuges for pests (Symondson

et al., 2002). Nevertheless, spiders are known to be intraguild predators (Hodge, 1999; Wise, 2006) and their impact on other natural enemies should be studied before assuming niche complementarity between predators.

There are indicators suggesting that spiders may have been efficient at controlling aphid numbers in the present study. First, the time lag between the presence of the first foundresses and their predation by predators is a critical factor for the appearance of colonies and their subsequent damage (Wyss, Villiger, Hemptinne & Muller-Scharer, 1999; Brown, 2011). In particular, Brown (2011) concluded that the control of D. plantaginea colonies build-up is more efficient when predation occurs within the first week of their colony establishment. Here spiders tested positive for predation on aphids as soon as the first eggs hatched, they are thus likely to have considerably impacted on aphid population dynamics, for example delaying the aphid exponential growth phase (Birkhofer, Gavish-Regev, Endlweber, Lubin, von Berg et al., 2008). Second, control of colony development is improved by high initial predator abundance (Wyss et al., 1999). Here the presence of a colony was indeed negatively correlated to the initial spider abundance on a tree. Finally, although prey preferences (Agusti, Shayler, Harwood, Vaughan, Sunderland et al., 2003) and functional specialisation (Marc et al., 1997) are common in spiders, this may not be the case in winter when prey are scarce (Marc et al., 1999). Spider identity was not significant in explaining predation on aphid, indicating that no specific taxa would need to be particularly encouraged for early-season control of aphids.

To conclude our results support the hypothesis that spiders are important for the early-season control of aphids. Furthermore, the impact of spiders on aphid populations delays the exponential growth phase and therefore increases the effectiveness of other predators (and parasitoids) that are active later in the season. The high potential of spiders as intraguild predators, and positive and negative effects of spiders within a predator assemblage (Hodge, 1999), needs further study if their role in aphid suppression within conservation biological control programs is to be fully understood.

Acknowledgements:

This work was funded by CTIFL. C.BDR's PHD was granted by a CIFRE from ANRT. We are thankful to Laetitia Durlin and Jean-Michel Ricard for their help with field work, to the farmers, to Jean-François Toubon and Jean-Charles Bouvier for coordination. References:

Agusti, N., Shayler, S.P., Harwood, J.D., Vaughan, I.P., Sunderland, K.D., & Symondson, W.O.C. (2003). Collembola as alternative prey sustaining spiders in arable ecosystems: prey detection within predators using molecular markers. Molecular Ecology, 12, 3467-3475.

Birkhofer, K., Gavish-Regev, E., Endlweber, K., Lubin, Y.D., von Berg, K., Wise, D.H., & Scheu, S. (2008). Cursorial spiders retard initial aphid population growth at low densities in winter wheat. Bulletin of Entomological Research, 98, 249-255.

Blommers, L.H.M., Helsen, H.H.M., & Vaal, F. (2004). Life history data of the rosy apple aphid Dysaphis plantaginea (Pass.) (Homopt., Aphididae) on plantain and as migrant to apple. Journal of Pest Science, 77, 155-163.

Bonnemaison, L. (1959). Le puceron cendré du pommier (Dysaphis plantaginea Pass.) Morphologie et biologie – Méthodes de lutte. Annales INRA, Série C Epiphyties, III., 257–322. .

Brown, M.W. (2004). Role of aphid predator guild in controlling spirea aphid populations on apple in West Virginia, USA. Biological Control, 29, 189-198.

Brown, M.W. (2011). Importance of early arrival of adult Harmonia axyridis for control of Aphis spiraecola on apple. Biocontrol, 56, 65-69.

Carroll, D.P., & Hoyt, S.C. (1984). Natural enemies and their effect on apple aphid, Aphis pomi Degeer (Homoptera, Aphididae), colonies on young apple trees in central Washington. Environmental Entomology, 13, 469-481.

Chang, G.C., & Kareiva, P. (1999). The case for indigenous generalists in biological control. In: B. Hawkins, & H. Cornell (Eds.), Theoretical Approaches to biological control (pp. 103-115). Cambridge, UK.: Cambridge University Press.

Chen, Y., Giles, K.L., Payton, M.E., & Greenstone, M.H. (2000). Identifying key cereal aphid predators by molecular gut analysis. Molecular Ecology, 9, 1887-1898.

Deberardinis, E., Baronio, P., & Baumgartner, J. (1994). The effect of aphid (Dysaphis plantaginea Pass, Hom, Aphididae) feeding on apple fruit growth. Ecological Modelling, 72, 115-127.

Dib, H., Simon, S., Sauphanor, B., & Capowiez, Y. (2010). The role of natural enemies on the population dynamics of the rosy apple aphid, Dysaphis plantaginea Passerini

(Hemiptera: Aphididae) in organic apple orchards in south-eastern France. Biological Control, 55, 97-109.

Finke, D.L., & Snyder, W.E. (2010). Conserving the benefits of predator biodiversity. Biological Conservation, 143, 2260-2269.

Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., & Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Molecular Marine Biology and Biotechnology, 3, 294-299.

Fréchette, B., Cormier, D., Chouinard, G., Vanoosthuyse, F., & Lucas, E. (2008). Apple aphid, Aphis spp. (Hemiptera : Aphididae), and predator populations in an apple orchard at the non-bearing stage: The impact of ground cover and cultivar. European Journal of Entomology, 105, 521-529.

Graf, B., Baumgärtner, J., & Delucchi, V. (1985). Life table statistics of three apple aphids, Dysaphis plantaginea, Rhopalosiphum insertum, and Aphis pomi (Homoptera, Aphididae), at constant temperatures. Zeitschrift für Angewandte Entomologie, 99, 285-294.

Greenstone, M.H. (1999). Spider predation: How and why we study it. Journal of Arachnology, 27, 333-342.

Harwood, J.D., & Obrycki, J.J. (2005). Quantifying aphid predation rates of generalist predators in the field. European Journal of Entomology, 102, 335-350.

Helsen, H., Vaal, F., & Blommers, L. (1998). Phenology of the common earwig Forficula auricularia L. (Dermaptera: Forficulidae) in an apple orchard. International Journal of Pest Management, 44, 75-79.

Hodge, M.A. (1999). The implications of intraguild predation for the role of spiders in biological control. Journal of Arachnology, 27, 351-362.

King, R.A., Read, D.S., Traugott, M., & Symondson, W.O.C. (2008). Molecular analysis of predation: a review of best practice for DNA-based approaches. Molecular Ecology, 17, 947-963.

Korenko, S., & Pekar, S. (2010a). Is there intraguild predation between winter-active spiders (Araneae) on apple tree bark? Biological Control, 54, 206-212.

Korenko, S., Pekar, S., & Honek, A. (2010b). Predation activity of two winter-active spiders (Araneae: Anyphaenidae, Philodromidae). Journal of Thermal Biology, 35, 112-116.

Kuusk, A.K., Cassel-Lundhagen, A., Kvarnheden, A., & Ekbom, B. (2008). Tracking aphid predation by lycosid spiders in spring-sown cereals using PCR-based gut-content analysis. Basic and Applied Ecology, 9, 718-725.

Marc, P., & Canard, A. (1997). Maintaining spider biodiversity in agroecosystems as a tool in pest control. Agriculture Ecosystems & Environment, 62, 229-235.

Marc, P., Canard, A., & Ysnel, F. (1999). Spiders (Araneae) useful for pest limitation and bioindication. Agriculture Ecosystems & Environment, 74, 229-273.

Miliczky, E.R., Horton, D.R., & Calkins, C.O. (2008). Observations on phenology and overwintering of spiders associated with apple and pear orchards in south-central Washington. Journal of Arachnology, 36, 565-573.

Minarro, M., Hemptinne, J.L., & Dapena, E. (2005). Colonization of apple orchards by predators of Dysaphis plantaginea: sequential arrival, response to prey abundance and consequences for biological control. Biocontrol, 50, 403-414.

Mizell, R.F., & Schiffhauer, D.E. (1987). Trunk traps and overwintering predators in pecan orchards- Survey of species and emergence times. Florida Entomologist, 70, 238-244.

Mueller, T.F., Blommers, L.H.M., & Mols, P.J.M. (1988). Earwig (Forficula auricularia) predation on the woolly apple aphid, Eriosoma lanigerum. Entomologia Experimentalis Et Applicata, 47, 145-152.

Murdoch, W.W., Chesson, J., & Chesson, P.L. (1985). Biological Control in Theory and Practice. The American Naturalist, 125, 344-366.

Pekar, S., & Kocourek, F. (2004). Spiders (Araneae) in the biological and integrated pest management of apple in the Czech Republic. Journal of Applied Entomology, 128, 561-566.

Qubbaj, T., Reineke, A., & Zebitz, C.P.W. (2005). Molecular interactions between rosy apple aphids, Dysaphis plantaginea, and resistant and susceptible cultivars of its primary host Malus domestica. Entomologia Experimentalis Et Applicata, 115, 145-152.

R Development Core Team. (2010). R: a Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria. R Foundation for Statistical Computing: 3-900051-07-0. http://www.r-project.org.

Riechert, S.E., & Lockley, T. (1984). Spiders as biological control agents. Annual Review of Entomology, 29, 299-320.

Simon, S., Bouvier, J.C., Debras, J.F., & Sauphanor, B. (2009). Biodiversity and pest management in orchard systems. A review. Agronomy for Sustainable Development, 1-14.

Symondson, W.O.C., Sunderland, K.D., & Greenstone, M.H. (2002). Can generalist predators be effective biocontrol agents? Annual Review of Entomology, 47, 561-594.

Wise, D.H. (2006). Cannibalism, food limitation, intraspecific competition and the regulation of spider populations. Annual Review of Entomology, 51, 441-465.

Wyss, E., Niggli, U., & Nentwig, W. (1995). The impacts of spiders on aphid populations in a strip-managed apple orchard. Journal of Applied Entomology-Zeitschrift Fur Angewandte Entomologie, 119, 473-478.

Wyss, E., Villiger, M., Hemptinne, J.L., & Muller-Scharer, H. (1999). Effects of augmentative releases of eggs and larvae of the ladybird beetle, Adalia bipunctata, on the abundance of the rosy apple aphid, Dysaphis plantaginea, in organic apple orchards. Entomologia Experimentalis Et Applicata, 90, 167-173.

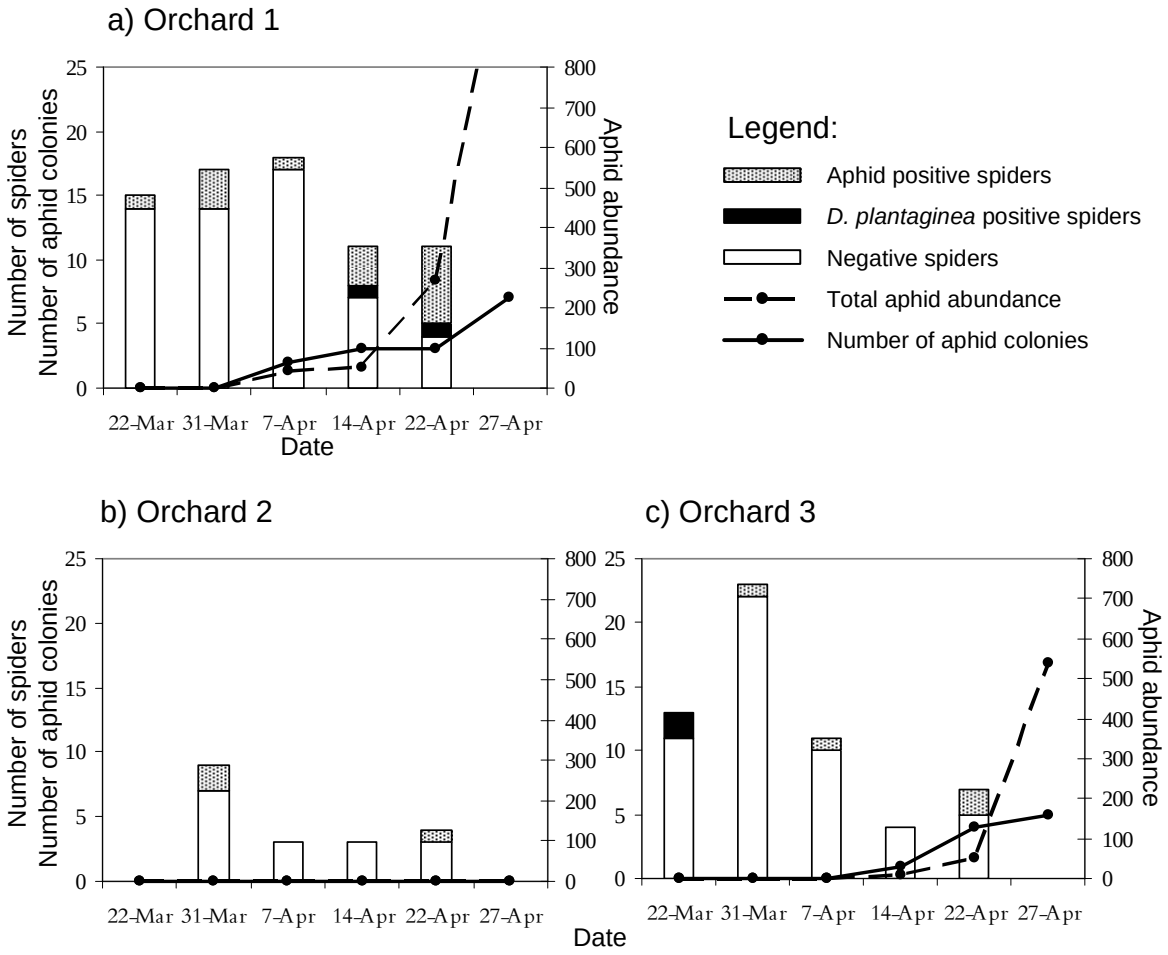
Table 1: Species (prey and predators) tested with *D. plantaginea* primers to establish specificity.

Prey				Predator			
Order	Family	Species		Order	Family	Species	
Diptera	Syrphidae	Syrphidae spp.		Araneae	Clubionidae	*Clubiona sp.*	
	Tephritidae	*Bactrocera oleae*	(Gmelin)		Gnaphosidae	*Aphantaulax trifasciata*	(Simon)
		Ceratitis capitata	(Wiedemann)		Linyphiidae	*Meioneta sp.*	
					Lycosidae	*Pardosa hortensis*	(Simon)
Haplotaxida	Lumbricidae	*Eisenia fetida*	(Savigny)			*Trochosa ruricola*	(de Geer)
					Thomisidae	*Xysticus bifasciatus*	(Koch)
Hemiptera	Aphididae	*Aphis pomi*	(de Geer)				
		Aphis spiraecola	(Patch)	Coleoptera	Carabidae	*Calathus fuscipes*	(Goeze)
		Dysaphis plantaginea	(Passerini)			*Pseudoophonus rufipes*	(de Geer)
		Eriosoma lanigerum	(Haussmann)			*Pterostichus niger*	(Schalller)
		Myzus cerasi	(Fabricius)		Cicindellidae	*Cilindera germanica*	(Linnaeus)
		Myzus persicae	(Sulzer)		Coccinellidae	*Harmonia axyridis*	(Pallas)
		Myzus varians	(Davidson)		Staphylinidae	*Ocypus olens*	(Müller)
Isopoda	Philosciidae	*Philoscia muscorum*	(Scopoli)	Dermaptera	Forficullidae	*Forficula auricularia*	(Linnaeus)
	Porcellionidae	*Porcellio scaber*	(Latreille)				
				Hemiptera	Miridae	*Pilophorus perplexus*	(Douglas & S.)
Lepidoptera	Crambidae	*Ostrinia nubilalis*	(Hübner)			*Deraeocoris punctum*	(Rambur)
	Pieridae	*Pieris brassicae*	(Linnaeus)				
	Pyralidae	*Euzophera bigella*	(Zeller)	Opiliones		Opiliones spp.	
	Tortricidae	*Cydia pomonella*	(Linnaeus)				
		Grapholita molesta	(Busck)				
Pulmonata	Helicidae	*Cantarus aspersus*	(Müller)				
	Testacellidae	*Testacellus sp.*					

Table 2: Composition of the spider assemblage and their predation on aphids detected using general aphid and *D.plantaginea* specific primers in three orchards.

		Orchard 1			**Orchard 2**			**Orchard 3**		
		Spiders collected	*D. plantaginea* positive spiders	Aphid positive spiders	Spiders collected	*D. plantaginea* positive spiders	Aphid positive spiders	Spiders collected	*D. plantaginea* positive spiders	Aphid positive spiders
Foliage-active spiders										
Anyphaenidae	*Anyphaena accentutata* (Walckenaer)	16	0	3	1	0	0	-	-	-
Clubionidae	*Clubiona spp.*	16	0	6	4	0	1	4	0	0
Gnaphosidae	*Zelotes spp.*	2	0	0	-	-	-	1	0	0
	Aphantaulax trifasciata (Simon)	0	0		3	0	0	3	1	0
Miturgidae	*Cheiracanthium mildei* (Cambridge)	3	0	1	-	-	-	-	-	-
Philodromidae	*Philodromus spp.*	14	1	1	5	0	0	35	1	1
Salticidae	*Ballus chalybeius* (Walckenaer)	-	-	-	1	0	0	1	0	0
	Heliophanus auratus (Koch)	6	1	1	5	0	1	3	0	0
	Pseudoeuophrys lanigera (Simon)	7	0	2	-	-	-	2	0	1
Sit-and-wait spiders										
Thomisidae	*Runcinia grammica* (Koch)	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	Synema globosum (Fabricius)	-	-	-	-	-	-	3	0	1
	Thomisus onustus (Walckenaer)	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	Xysticus bifasciatus (Koch)	1	0	0	-	-	-	-	-	-
Web-builder spiders										
Amarobiidae	*Amaurobius spp.*	2	0	0	-	-	-	2	0	1
Linyphiidae	*Meioneta spp.*	1	0	0	-	-	-	1	0	0
Theridiidae	*Anelosimus spp.*	4	0	0	-	-	-	-	-	-
	Theridion spp.	-	-	-	1	0	1	-	-	-
	Total	72	2	14	20	0	3	57	2	4

Figure 1: Abundance of spiders (bars), abundance of aphids and aphid colonies (lines) in the three apple orchards. Spiders detected positive by the general aphid primers are represented by the dotted bars; by the *D.plantaginea* specific primers are represented by the black bars. The spiders which were detected positive by both general aphid primers and *D.plantaginea* specific primers are only counted in the category *D. Plantaginea* positive spiders. The total aphid abundance did not display the initial number of aphid eggs.



2) Les acariens (hors étude)

Je présente ici des résultats très préliminaires mais intéressants sur le groupe des acariens prédateurs de la famille Anystidae (Acari : Anystidae). Comme ce groupe n'était pas ciblé par cette thèse, ces résultats ne seront pas discutés dans la suite de ce travail.

~ *Matériels et méthodes*

Lors des échantillonnages pour les araignées de la frondaison au printemps 2010 (article 2 p.97), j'ai collecté en même temps des acariens qui se trouvaient dans les bandes-pièges et que je trouvais très actifs. Le protocole d'extraction d'ADN et de PCR diagnostique spécifique au puceron cendré est identique à celui utilisé pour les araignées de la frondaison. Au total 73 acariens ont été testés en PCR diagnostique pour le puceron cendré.

~ *Résultats*

Nous avons observé des acariens positifs pour avoir consommé du puceron cendré dès fin mars 2010 attestant d'une prédation sur les fondatrices (figure III.5).

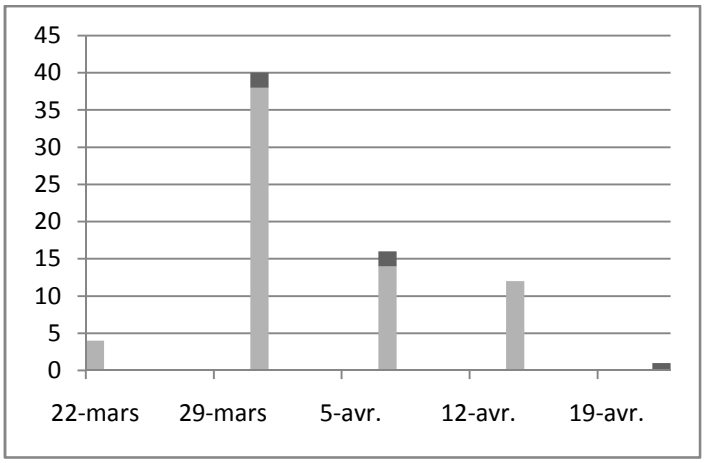


Figure III.5 : Phénologie de la prédation du puceron cendré par les acariens Anystidae au printemps 2010. Les acariens qui ont été révélés positifs à la consommation de puceron cendré sont représentés en gris foncé et ceux révélées négatifs en gris clair.

~ *Conclusions spécifiques*

Les acariens prédateurs méritent de recevoir une plus grande attention pour leur rôle dans la régulation du puceron cendré. En effet, à l'inverse des araignées qui ne consomment que des proies en mouvement, les acariens consomment des proies inertes également, donc potentiellement des œufs de pucerons pendant l'hiver. Par ailleurs, il est à noter qu'en

laboratoire ces derniers consomment des œufs de carpocapse de la pomme (résultats non présentés ici) justifiant aussi de s'intéresser à leur rôle dans la régulation de tordeuses.

C. Quelles complémentarités fonctionnelles entre prédateurs ?

Une part de l'efficacité d'un assemblage de prédateurs généralistes réside dans les complémentarités fonctionnelles, dans le temps et l'espace, émergeant de leurs actions individuelles et ainsi empêchant le ravageur d'avoir des refuges vis-à-vis de la prédation (Symondson *et al.*, 2002).

1) Prédateurs du carpocapse de la pomme et de la tordeuse orientale

Seule la pomme constitue un refuge pour le carpocapse de la pomme qui est consommé dans tous les habitats qu'il colonise quel que soit son stade de développement (figure III.6 et figure III.7). Cette conclusion est probablement vraie pour la tordeuse orientale étant donné sa similarité de cycle de vie. La liste des prédateurs généralistes pouvant intervenir dans la régulation de ces tordeuses peut être encore étoffée par exemple au sol avec les staphylins, et dans la frondaison avec les coccinelles et acariens pour la consommation des œufs et les araignées pour la consommation de larves néonates.



Figure III.6 : Partitionnement de niche spatiale entre les différents prédateurs généralistes connus du carpocapse de la pomme. En vert figurent les prédateurs généralistes qui n'ont pas été étudiés au cours de cette thèse.

Comme expliqué en introduction de ce chapitre, je n'ai pas couvert toute la période d'action potentielle des arthropodes du sol qui est susceptible de se prolonger pendant la période estivale (figure III.7).

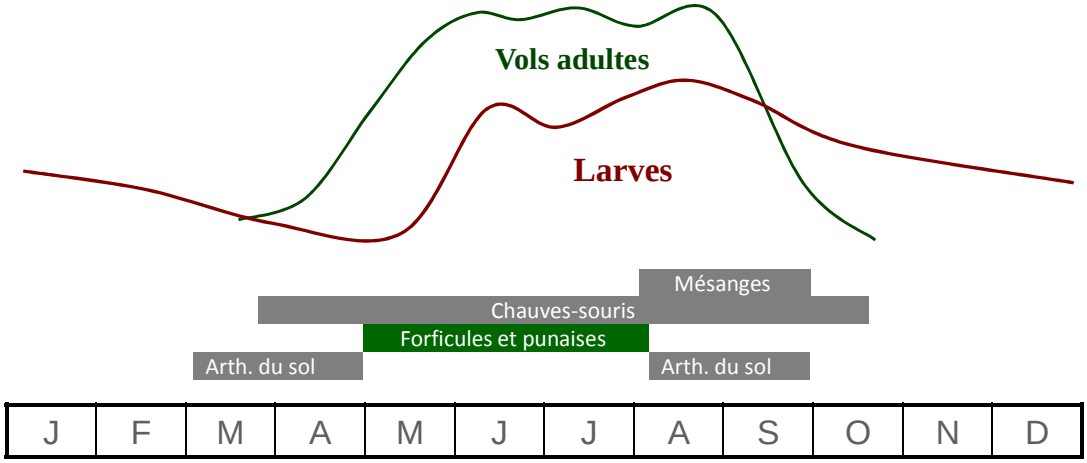


Figure III.7 : Période de consommation observée du carpocapse de la pomme par les prédateurs généralistes ciblés par cette thèse (en gris) et par d'autres études (en vert).

La période de développement larvaire dans la pomme et la période hivernale dans le cocon constituent les seules périodes durant lesquelles les tordeuses ne sont pas consommées par des prédateurs généralistes. Dans le premier cas, il s'agit de la larve qui se développe en se nourrissant de la pomme et dans le second cas il s'agit de larves en diapause qui passent l'hiver dans leur cocon soit sous l'écorce du pommier soit au sol dans un interstice (Barnes, 1991). Dans les deux cas, les tordeuses ne se reproduisent pas. Il n'y a donc pas de risque de pullulation de ces tordeuses liée à l'existence de ces périodes de refuge.

2) Prédateurs du puceron cendré

Il est impossible de conclure sur la consommation de puceron cendré lorsqu'il est présent sur son second hôte, le plantain, car à ma connaissance, aucune étude n'a été encore entreprise sur ce point. Les araignées de la frondaison et les acariens consomment du puceron cendré pendant toute la période durant laquelle ils se trouvent sur la frondaison (figure III.8).

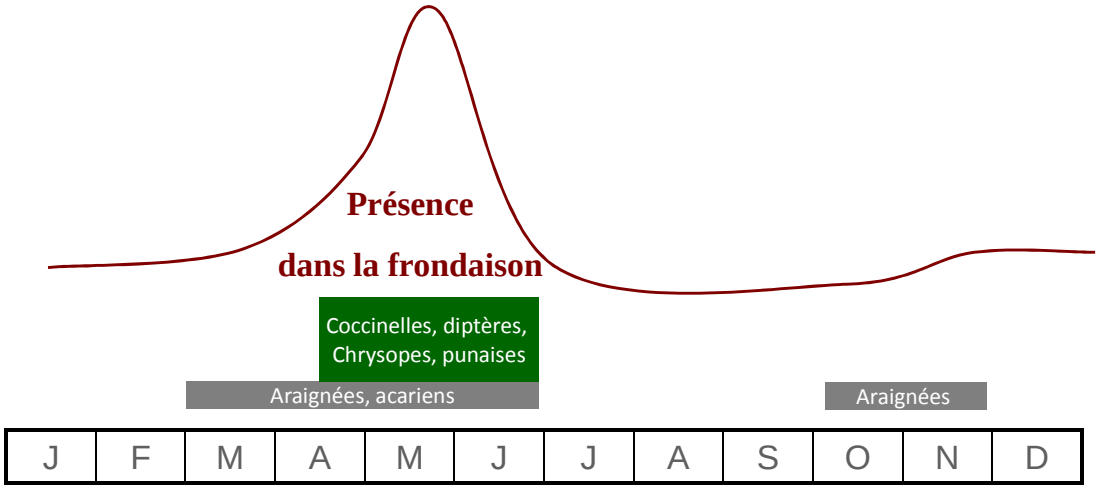


Figure III.8 : Période de consommation observée du puceron cendré pendant sa période de présence dans la frondaison par les prédateurs généralistes ciblés par cette thèse (en gris) et par d'autres études (en vert).

La prédation par les araignées de la frondaison (et acariens) intervient donc dans des périodes de reproduction du puceron cendré. En effet, la consommation de fondatrices ralentit plus fortement la croissance de sa population que la consommation d'aptères parthénogénétiques (Birkhofer *et al.*, 2008) et la consommation de migrants ailés diminue l'inoculum des œufs d'hiver (Wyss *et al.*, 1995).

Les liens trophiques observés dans cette étude témoignent d'une bonne complémentarité fonctionnelle entre ces prédateurs. La consommation de ravageurs est observée même en début de cycle du ravageur lorsqu'il est en faible abondance, par exemple lors de l'émergence des papillons de tordeuses issus des larves diapausantes ou à l'éclosion des œufs d'hiver de pucerons. Cela suggère que ces prédateurs étant déjà présents dans le verger « trouvent » les ravageurs dès leur apparition. Ces prédateurs résidants par leur stratégie *lying & wait* peuvent être comparés à une veille immunitaire du système de culture. Certes, comme l'avaient soulignées certaines études (Hagley and Allen, 1988 ; Brown, 2004 ; Dib *et al.*, 2010), la consommation de ravageurs par ces prédateurs généralistes reste le plus souvent limitée de 1 à quelques individus par jour (Nyffeler and Sunderland, 2003 ; Garcin *et al.*, 2008), ce qui ne permet pas d'envisager une régulation de ces ravageurs en période de pullulation. Mais, leur prédation peut potentiellement retarder la pullulation du ravageur en conservant plus longtemps sa population sous le seuil démographique de croissance exponentielle. Ainsi, ce délai laisserait le temps aux prédateurs spécialistes d'atteindre un niveau de population suffisant pour assurer un contrôle efficace du ravageur.

Cette vieille immunitaire supportée par une complémentarité de niches de plusieurs groupes de prédateurs résidants induit l'étude de l'effet de leur diversité et de leur densité sur l'efficacité de leur contrôle. Les avancées dans ce domaine sont rapportées dans le chapitre IV.

Chapitre IV : Quelle mortalité du ravageur selon la diversité et la densité en prédateurs ?

Les prédateurs généralistes sont connus pour leur capacité de perturbation de l'effet top-down sur le ravageur via leur prédation intraguilde de prédateurs intermédiaires (Snyder and Ives, 2001, 2003 ; Prasad and Snyder, 2006 ; Letourneau *et al.*, 2009). Cependant, il a aussi été montré que des assemblages de prédateurs comprenant des prédateurs généralistes conduisaient à un meilleur contrôle du ravageur que des assemblages n'en comprenant pas (Cardinale *et al.*, 2003 ; Snyder *et al.*, 2006). A ma connaissance, l'effet de la diversité en prédateurs sur le contrôle des ravageurs de vergers de pommiers n'a pas été étudié. Toutefois, Dib et al. (2011) ont pu observer en laboratoire que le prédateur généraliste, *Forficula auricularia* (L.), ne consommait pas le prédateur spécialiste, *Episyrphus balteatus* (de G.). Cela suggère un effet positif de leur association sur le contrôle du puceron cendré. Dans le cadre de ce travail, j'ai limité cette question aux interactions prédateurs-prédateurs au sein du groupe des arthropodes du sol. En effet, des événements de prédation intraguilde ont été rapportées au sein des arthropodes du sol, entre carabes et staphylins (Bonacci *et al.*, 2006), entre carabes et araignées (Snyder and Wise, 2001) enfin entre araignées (Wise, 2006).

Par ailleurs, caractériser l'effet de la densité de prédateurs sur la mortalité du ravageur est une étape importante de l'évaluation de l'efficacité d'un prédateur comme agent de contrôle. D'une manière générale, quantifier l'effet de la prédation d'un ravageur par un ou plusieurs prédateurs sur la dynamique de population du ravageur est une chose compliquée. En effet, la mortalité du ravageur observée dans un verger est difficilement attribuable à un prédateur en particulier. Par exemple, l'utilisation de la PCR diagnostique apporte des informations sur l'occurrence d'événements de prédation d'une proie ciblée dans la population de prédateurs mais ne permet pas de quantifier le nombre d'individus consommés (King *et al.*, 2008). En plus de cette réponse binaire, la mesure de la quantité d'ADN cible dans le contenu stomacal ou faeces du prédateur est possible par l'utilisation de la PCR en temps réel mais cette mesure ne donne pas non plus d'indication sur le nombre de proies consommées. En revanche, les deux méthodes utilisées dans ce chapitre peuvent apporter des résultats quantitatifs de la prédation de ravageurs par les prédateurs ciblés. J'ai pu tout de même étudier un effet de la densité en carabes sur la mortalité de larves de carpocapse de la pomme en mésocosme et

l’effet de la densité-activité des araignées de la frondaison sur l’apparition de colonies de pucerons en verger. Premièrement, l’expérience en mésocosme permet d’étudier d’une part les interactions prédateurs-prédateurs en manipulant la diversité des assemblages de prédateurs, et d’autre part, la forme de la courbe de la mortalité du ravageur en fonction d’un prédateur en particulier. Comme discuté dans l’article 3 présenté dans ce chapitre, j’ai réalisé ce dispositif dans le but de respecter au maximum les comportements des prédateurs et des proies pour obtenir des résultats potentiellement les plus proches de ce qui se passe en vergers commerciaux. Deuxièmement, les suivis des dynamiques de prédateurs et de proies à échelle fine peuvent aussi nous indiquer les relations de densité-dépendance de la régulation d’un ravageur par les prédateurs. J’ai mis en place, dans ce but, un suivi de la dynamique d’émergence du puceron et des populations d’araignées qui, couplé à l’analyse des contenus stomacaux par PCR diagnostique, permet d’obtenir des informations complémentaires sur la prédation et sur ses conséquences sur le contrôle du puceron.

A. Mortalité observée du carpocapse de la pomme en fonction de l'abondance de deux espèces de carabes, *Calathus fuscipes* et *Pseudoophonus rufipes*.

1) Objectifs de cette expérience

L'objectif de cette expérience était de mettre en place et tester un protocole expérimental en mésocosme permettant d'étudier l'effet de la densité et de la composition des assemblages de prédateurs arthropodes du sol sur la mortalité de larves de carpocapse de la pomme ayant un stade mobile au sol. Au travers de ce test, nous avons voulu observer l'effet de l'abondance de deux espèces de carabes *Calathus fuscipes* et *Pseudoophonus rufipes* sur la mortalité de larves de carpocapse de la pomme ainsi que détecter d'éventuelles interactions prédateurs-prédateurs entre ces deux espèces.

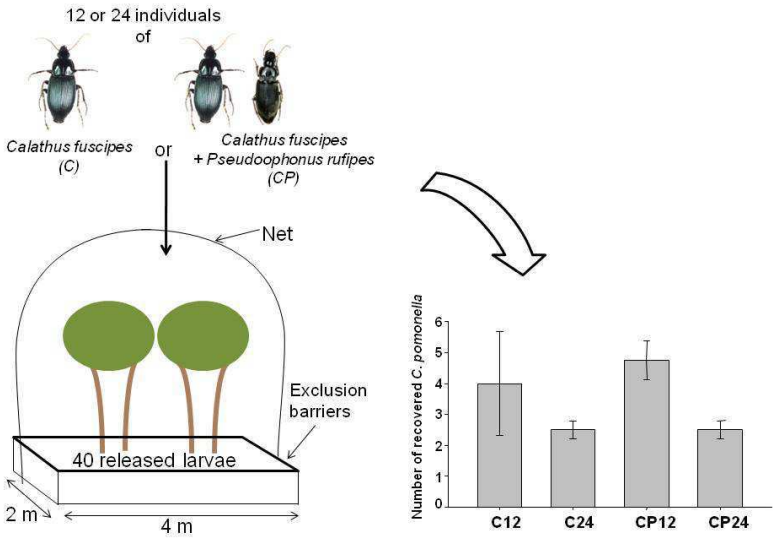


Figure IV.1 : Graphique de résumé des matériels et méthodes et des résultats de l'expérience effectuée en mésocosme étudiant l'effet de la densité et la présence de Calathuse fuscipes seul ou en assemblage avec Pseudoophonus rufipes (voir l'article 3).

2)Matériels et méthodes

La figure IV.1 est une représentation graphique de cette expérience en mésocosme. Elle comprenait 4 répétitions de 4 modalités de densité et de composition d'assemblages carabiques :

1) La modalité C12. L'assemblage carabique était monospécifique de 12 *C.fuscipes*.

2) La modalité C24 : L'assemblage carabique était monospécifique de 24 *C.fuscipes.*

3) La modalité CP12 : L'assemblage carabique était bispécifique de 6 *C.fuscipes* et 6 *P.rufipes.*

4) la modalité CP24 : L'assemblage carabique était bispécifique de 12 *C.fuscipes* et 12 *P.rufipes.*

Une fois ces modalités mises en place, un lot de 40 larves de carpocapse de la pomme de stade L5 mobiles et prêtes à entamer la nymphose était relâché dans chaque mésocosme. J'ai observé quotidiennement l'émergence des adultes pour les comptabiliser.

3) Résultats et discussion

L'abondance de carabes (12 ou 24) a eu un effet significativement négatif sur le nombre d'adultes émergeant comptabilisés. En revanche, le type d'assemblage monospécifique ou bispécifique n'a pas eu d'effet (figure IV.1). Dans cette expérience, *P.rufipes*, carabe omnivore, a eu un impact similaire sur la mortalité des larves à celui de *C.fuscipes*, carabe carnivore. Cette observation corrobore les conclusions de Cornic (1978) montrant que *P.rufipes* est fonctionnellement carnivore en automne. Cela s'explique par un fort besoin d'apport en azote lors de la reproduction. Par ailleurs, l'action de 12 (respectivement 24) *C.fuscipes* étant équivalente à celle d'un assemblage de 6 (resp.12) *C.fuscipes* et 6 (resp.12) *P.rufipes*, les interactions prédateurs-prédateurs apparaissent négligeables entre ces deux carabes comme cela a été observé dans d'autres assemblages de carabes (Lovei and Sunderland, 1996).

Pour conclure, cette expérience préliminaire a une portée très limitée par le nombre de modalités et de répétitions pour répondre à la problématique de ce chapitre. Cependant, nous avons pu observer que la mortalité des larves est dépendante de la densité de carabes dans les mésocosmes.

Article 3

Submitted in Biocontrol

Effect of carabid abundance and diversity on Cydia pomonella larvae control in apple orchards: a field enclosure study.

Catherine Boreau de Roincé[a], Jean-Michel Ricarda, Alain Garcin[a], Jean-Charles Bouvier[b] and Claire Lavigne[b].

a : Centre technique interprofessionnel des fruits et légumes, centre de Balandran, BP 32, 30127 Bellegarde, France.

b : INRA, UR 1115, Plantes et Systèmes de cultures Horticoles, F-84000, Avignon, France.

Corresponding author :

Catherine Boreau de Roincé.

Centre technique interprofessionnel des fruits et légumes,

Centre de Balandran,

BP 32, 30127 Bellegarde,

France.

Tél : +33 (0)4 66 01 10 54

Fax : +33 (0)4 66 01 62 28

Mail : boreau@ctifl.fr

Abstract:

Understanding how predator diversity and abundance impact upon pest suppression is an important goal of conservation biological control studies. However, negative, neutral and positive effects of increasing predator diversity have all been reported in experimental studies. The outcome of such studies mainly relies upon on the direction and strength of the predator-predator interactions occurring within the model assemblages. We therefore experimentally investigated the effect of intra and inter specific interactions between two carabid species, *Calathus fuscipes* (Goeze) and *Pseudoophonus rufipes* (De Geer), in reducing an overwintering larval population of *Cydia pomonella* (Linné), a major pest in pomefruit orchards. We found that increasing carabid abundance reduced the pest population and that interactions between the two species did not affect their potential as biocontrol agents. These results are therefore an indication that predator-predator interactions within the carabid group may be of little importance when predicting their impact upon pests.

Keywords: Biological control; Carabidae; Codling moth; Generalist predator; Predator-predator interference; Tortricidae

1.Introduction

In the past few decades, research on ecosystem functioning has outlined the importance of biodiversity in the provision of ecosystem services (Altieri, 1999; Loreau et al., 2001). A well studied example is that of pest control by natural enemies (Letourneau et al., 2009). In agricultural systems, there appears to be a significant trend between the diversity of natural enemies within an environment and the suppression of herbivore activity. However the existence of some variability in these outcomes pleads for a better understanding of how the diversity and abundance of predators are correlated with biological control (Straub and Snyder, 2006a). This is particularly true for studies of conservation biological control that aim to modify the environment to protect or enhance those natural enemies that can reduce the effects of pests (Altieri, 1999; Zehnder et al., 2007; Tscharntke et al., 2005).

Among the enemies of pests, generalist predators may be particularly efficient because their abundance can be sustained even in the absence of the target prey (Symondson et al., 2002). One drawback of generalist predators, however, is the dense network of interactions that they may establish within their ecosystem (Symondson et al., 2002; Letourneau et al., 2009). The outcome of increasing their diversity is thus not straightforward and mainly depends on the direction and the strength of their interactions with other predators and their shared preys (Losey and Denno, 1998; Casula et al., 2006; Worsfold et al., 2009; Finke and Snyder, 2010). Predator-predator interactions can be classified into four categories (Losey and Denno, 1998): (1) non interactive predators, (2) predators that attack and kill each other through intraguild predation, (3) predators that influence either the foraging behaviour or foraging range of the other predator, and (4) predators that influence prey behaviour and thus affect prey susceptibility to other predators.

Increasing predator diversity will increase pest suppression only when predator species are non interactive (additive effects) or interact synergistically (facilitation effect). Contrastingly, predator species that kill or interfere with another predator's foraging behaviour could lead to antagonistic effects on the prey suppression. So far, experimental studies of predator assemblages have been carried out using widely different guilds (e.g. predators and parasitoids (Erbilgin et al. 2005) or different taxa (e.g. coccinelids and carabids (Losey and Denno 1998)). These studies have produced contrasting results such as a negative impact of intraguild predation (e.g. Snyder and Ives, 2001; Erbilgin et al., 2004; Finke and Denno, 2004; Moreno et al., 2010) a positive impact of predator facilitation (e.g. Losey and Denno, 1998; Aquilino et al., 2005), or a neutral impact of predator diversity (e.g. Straub and Snyder, 2006a) upon pest suppression. Among these, three studies included a manipulation of carabid abundance but none addressed specifically the effect of increasing carabid species diversity (Snyder and Ives, 2001; Losey and Denno, 1998; Straub and Snyder, 2006a). Increasing the abundance of a single predator species has been found to increase intraspecific interactions and may also affect pest suppression. Indeed, behaviours such as cannibalism (Wise, 2006) and predator-predator avoidance (Snyder and Wise, 1999; Guy et al., 2008) may dampen predators' efficiency.

Our goal in the present study was to disentangle the respective importance of abundance (intra-specific interaction) and diversity (inter-specific interaction) within the carabid assemblage in reducing the abundance of autumnal *Cydia pomonella* (Linné, 1758) (Lepidoptera: Tortricidae). For this purpose, two carabid beetles, *Calathus fuscipes* (Goeze,

1777) and *Pseudoophonus rufipes* (De Geer, 1774) (Coleoptera: Carabidae) were studied. C. pomonella is a major insect pest in temperate apple-growing areas worldwide (Barnes, 1991) and has developed resistance to pesticides (Sauphanor, 1998; Reyes et al., 2009). As an alternative to pesticides, natural enemies are receiving increasing interest (Simon et al., 2009). Indeed, orchards are semi perennial agroecosystems which potentially support arthropod-rich communities (Debras et al., 2008; Simon et al., 2009), especially carabid beetles (Lövei and Sunderland, 1996; Minarro et al., 2009). The carabid beetles are categorized as generalist predators, from strictly carnivorous to omnivorous (For reviews see Lövei and Sunderland, 1996; Kromp, 1999), and they are therefore likely to display predator-predator interactions. In general, studies on these carabid beetle communities in arable lands reveal assemblages dominated by several ubiquitous carabid species (Kromp, 1999). As a consequence of this, only a few carabid species are likely to noticeably impact upon pest populations (Moreno et al., 2010).

To our knowledge, no study has as yet investigated the respective effects of abundance and diversity within carabid assemblages upon herbivore suppression. We used experimental field enclosures to address this question, which allowed the manipulation of target populations of carabid beetles, in a system as close as possible to a real agroecosystem (an apple orchard) (Letourneau et al., 2009).

2. Material and methods:

2.1. The study organisms

2.1.1. Carabid predators

C. fuscipes and *P. rufipes* were selected for their ecological similarities and their overlapping geographical distributions (Traugott, 1998; du Chatenet 2005). They are widespread in European open lands such as light woods and crop fields, and noticeably co-occur in apple orchards of the study area (Garcin et al., 2008). These two nocturnal species are similar in size (10-15 mm for *C. fuscipes*, 10-16.7 mm for *P. rufipes*) and have comparable phenologies, being mostly annual with adults that emerge from overwintering larvae in spring and breed in the autumn, although some adults may also survive the winter (Lövei and Sunderland, 1996). Carabids are potential biocontrol agents as they may feed on several insect pests, such as Hemiptera, Diptera, and Lepidoptera, (for a review see Kromp, 1999) and in particular on *C. pomonella* (L.) larvae, our target prey (Hagley and Allen, 1988; Riddick and Mills, 1994;

Epstein, 2001; Garcin et al., 2008). Furthermore, the *Calathus* genus is often considered more predaceous than the *Pseudoophonus* genus (Kromp, 1999), although both are opportunistic polyphagous.

2.1.2. Tortricid prey

C. pomonella completes two or three generations per year in southern France. In early spring, adults produced from overwintering larvae emerge and reproduce. Free neonate larvae penetrate fruit, causing damage. At the end of their development, that comprises five stages, the larvae leave the fruit and either pupate to produce adults or enter into diapause. They live from 8 days up to 21 days (Jones and Wiman, 2008). The critical period for carabid predation is in early autumn when fifth instar larvae leave the fruit and search for an overwintering site either on a tree or in the ground (Riddick and Mills, 1994). For the present study, fifth instar larvae ready to pupate were obtained from a local laboratory strain. We expected that their behaviour would be similar to overwintering larvae as they were mobile and prone to search for sites to pupate (B. Sauphanor, pers. com.).

2.2. Field enclosure settlement

An apple orchard (variety: Ariane) in south eastern France (Bellegarde, Centre technique interprofessionel des fruits et légumes) was planted in winter 2009 with two year old trees at a density of 500 trees/ha (distance between rows: 6 m, distance between trees on the row: 2 m, 16 trees per row). The orchard was not sprayed against any pest or fungi. The apple fruits were harvested in early spring to keep the orchard free of *C. pomonella*. Sixteen enclosures of 8 m² (2 m x 4 m) each, including two trees within a row, were defined by burying 40 cm high stainless steel plates at a depth of 20 cm into the soil. Four pitfall traps (resealable plastic jar of 11.5 cm diameter and 12 cm depth) were installed per enclosure for manipulating or monitoring the arthropod populations. They were distributed on both sides of the long enclosure edges, so that two traps were located inside the enclosure, and the two other traps were located outside.

Along each row, the tree canopy and the irrigation system were supported by three metallic cables at 1.20 m, 1.70 m and 2.40 m above ground, tightened between four stakes. In August 2010, C. pomonella exclosure nets (mesh size of 3mm* 5 mm, Alt'carpo Filpack product) were arranged in the manner of a ridge tent upon the 2.40 m high metallic cable over each enclosure and fixed to the steel plates. All extremities were string-sewed except one entrance

which was closed by removable plastic hooks. Before the beginning of the experiment, the grassy cover inside and outside the enclosures was mown.

2.3. Experimental set-up

2.3.1 Experimental design

A substitutive design was preferred to an additive design following Straub and Snyder (2006b). Four treatments, [12 *C. fuscipes* (C12), 24 *C. fuscipes* (C24), 6 *C. fuscipes*+ 6 *P. rufipes* (CP12) and 12 *C. fuscipes*+12 *P. rufipes* (CP24)] were applied to understand the respective effects of predator abundance (12 or 24 carabid beetles per enclosures corresponding to the density of 1.5 carabid/m² or 3 carabid/m²), and predator identity (one or two species). With densities of 1.5 and 3 individuals per meter square, the treatment densities were consistent with the > 5mm carabid beetles densities observed in perennial crops (Lövei and Sunderland, 1996). Four replicates (enclosures) of each treatment were placed in a balanced layout within and between rows.

2.3.2. Arthropod population manipulation

Dry pitfall traps (see above) were opened during three weeks before the release of the *C. pomonella* larvae (mid august 2010). Carabid beetles were retrieved daily. *P. rufipes* and *C. fuscipes* specimens captured both inside and outside the enclosures were kept in the laboratory while other carabids were released outside the enclosures. Finally, other specimens (Mostly Formicidae, Aranae and Staphylinidae) found in a pitfall trap were believed to have attempted to cross the exclusion barrier and were released at the other side of the barrier. Batches of 50 *C. fuscipes* or *P. rufipes* were settled in 30cm*30cm boxes filled with damp vermiculite and stones for shelter at 25°c and 16:8h (L:D) photoperiod. They were fed ad libitum on flour worm nymphs (Coleoptera:Tenebrionidae) and apple. The carabids were starved three days before their release.

2.3.3. Cardboard trapping

Ten cm height cardboard bands were stuck on exclusion barriers in order to prevent *C. pomonella* larvae from escaping the enclosures by climbing. Bands were stuck at a height of 15 cm so as not to alter the exclusion barrier efficiency. This trapping method is classically used in field studies to monitor *C. pomonella* populations (Franck et al., 2007).

2.3.4. Carabid and *C. pomonella* release

C. fuscipes and *P. rufipes* were first released in the enclosures. After a 6 hours settlement period, 40 *C.* pomonella larvae were released on the ground of each enclosure (i.e. a total of 640 larvae).

2.3.5. Trapping of *C. pomonella*

Three days after their release, *C. pomonella* larvae that had reached the cardboard along the exclusion barrier were removed and counted as they would not be accessible to carabids anymore. Three different methods were used for adult *C. pomonella* trapping in each enclosure: sticky traps, bowl traps and direct observation. The two yellow sticky traps (40*25 cm) were hung two weeks after the *C. pomonella* larvae release, on the 1.20 m and 1.70 m high metallic cables. The yellow bowl traps (26 cm diameter) were filled with a mixture of ethanol, water and detergent and were placed on the ground. Enclosures were further monitored by direct observation daily. *C. pomonella* adults were located on the nets first, then following the shaking of tree canopies and nets were located on the nets for a second time. When a *C. pomonella* was seen, it was trapped and killed by the observer.

2.4. Data analysis

The effects of the abundance and the number of species of predators on the number of *C. pomonella* trapped as larvae or adults were analysed using a generalized linear model with a Poisson family distribution and a log link function (R software, R development Core team, 2010).

3. Results

During the three weeks that we removed carabids from enclosures, both alternative preys to *C. pomonella* and alternative predators were present in the pitfall traps (figure 1). Alternative preys were mainly Collembola, Isopoda, Mollusca and Diptera, and alternative predators to carabids were Staphylinidae (*Ocypus olens*), Lycosidae (*Trochosa* sp) and Formicidae. Other abundant taxa were also observed within the enclosures such as Orthoptera, Homoptera, Hymenoptera, Heteroptera and Opiliones. No carabid beetles were trapped inside the enclosures during the third week of carabid retrieval so enclosures were considered carabid free at the initial stage of the experiment.

In total 8.6% of the released *C. pomonella* were caught again, either as larvae (3.6%) or adults (5%). Adult emergence lasted for 9 days starting 28 days after larvae were released. Direct

observation was the most efficient trapping method whereas the yellow bowl and sticky traps performed poorly. Indeed, around 6 % of the adult moths were collected by these methods.

The mean proportion of recovery reached 10 % (± 8.4%) in the C12 treatment, 11.8 % (± 3.1%) in the CP12 treatment and 6.3 % (± 1.4%) in both the C24 and CP24 treatments (figure 2). It decreased when carabid beetles were more numerous (Z= -1.996, P=0.046) and did not depend on the number of species within the carabid assemblage (Z= 0.404, P=0.686).

4. Discussion:

We found that increasing carabid beetle abundance in experimental apple orchard communities reduced the survival of fifth instar *C. pomonella* larvae, confirming the role of the two tested species as potential biocontrol agents of *C. pomonella*. This reduction did not depend on the carabid species assemblage indicating that inter-specific interactions between *C. fuscipes* and *P. rufipes* do not affect their predation efficiency.

C. fuscipes and *P. rufipes* are abundant species in the apple orchards of the study region, in particular in autumn, when *C. pomonella* larvae move down from the apple fruits and search for overwintering sites in the soil and under tree barks (Garcin et al., 2008). In our experiment, we mimicked this situation by releasing fifth instar larvae ready to pupate in insect-proof experimental orchards. Extrapolating the results from enclosure experiments to the field is questionable (Finke and Denno, 2004) because enclosures may induce behavioural biases (Steffan and Snyder, 2010) and abiotic changes (von Berg et al., 2008) that affect predator-prey interactions. However, some containment cannot be avoided when studying model trophic networks with mobile preys such as *C. pomonella* larvae. Alternatives comprise tethering prey (Riddick et Mills, 1994; Tschanz et al., 2007) or confining them to microcosms (Erbilgin et al., 2004; Moreno et al., 2010). These alternatives also bias predator-prey interactions as they prevent prey from escaping predators, an important feature of the interaction. Here, the mobile fifth instar larvae were able to escape onto the trees and cardboard traps surrounding the enclosure barriers in order to escape ground-dwelling predators and therefore, conserve their natural predator escape behaviour. The absence of alternative prey in model trophic network experiments is also a source of bias. Indeed, in the presence of alternative prey, generalist predators may switch for it and therefore, may not control the pest population anymore (Koss et al., 2004; Koss and Snyder, 2005). Here, it is unlikely that we have overestimated *C. fuscipes* and *P. rufipes* consumption of *C. pomonella*

larvae as the background community in the enclosures comprised arthropod alternative prey. Finally, we also chose not to remove other predatory species from the enclosures, in particular the rove beetle, *O. olens*, a species that also preys on both *C. fuscipes* and *P. rufipes* (Bonacci et al., 2006). Given the large amount of other food resources, its impact on the direct or indirect interactions between the two carabid species is unlikely to have been important, in particular during the short time period that larvae were available to ground predators.

Our results concerning the lack of effect of carabid diversity upon predation, regardless of carabid abundance, is indicative of an absence of interaction between the two species, although they are both nocturnal and share preys. This result is consistent with the hypothesis that, in general, competition does not cause the observed patterns in carabid assemblages (Lövei and Sunderland, 1996; Snyder and Wise, 1999). It is also consistent with our observations that the species do not prey on each other in laboratory conditions (not shown).

Our finding that increasing the abundance of *C. fuscipes* and *P. rufipes* in the experimental apple orchards reduced the survival of larvae confirms the potential of these two species as biocontrol agents in apple orchards. Similar findings have also been reported for other carabid species, such as *Pterostichus* spp, *Harpalus* spp and *Anisodactylus* spp (Hagley and Allen, 1988; Riddick and Mills, 1994; Epstein, 2001). This suggests that most of the predatory carabid species occurring in orchards are potentially involved in *C. pomonella* control. The finding that doubling carabid numbers almost halved the number of surviving prey is also indicative of a low impact of intra-specific interactions on predation, although this result should be considered with caution given the low recovery rates and the fact that we considered only two total carabid densities. A constant predation rate has already been reported in field conditions (Novak, 2010). However, there are also theoretical and laboratory evidence that predation rates are density dependent (Abrams, 2001). Indeed, because carabids tend to avoid each other (Snyder and Wise, 1999; Guy et al., 2008), their foraging mobility may be affected, and therefore, their encounter rate with the target prey may be increased (higher mobility) or diminished (lower mobility) under high population densities.

We found in our study that species diversity within the studied carabid assemblage had a negligible effect on their potential in controlling pest population. It would be interesting to assess whether this result could be extended to other predatory carabid species. Indeed, if inter-specific interactions are of such negligible or limited effect, then they could be neglected in order to switch from species-focused to group-focused approaches. For example, an integrative approach such as this would be helpful for elucidating pest suppression dynamics

by natural enemies at larger scales as proposed by Letourneau (2009). However, when conservation biological control aims to determine the "right" diversity of natural predators for controlling pest (Landis et al., 2000; Straub and Snyder, 2006a), species identity and diversity must be taken into account. Indeed, functionally equivalent species are unlikely to be truly redundant in all of their functional traits (Finke and Snyder, 2010), and increasing the number of species within the predator assemblage provides the "insurance" that this assemblage includes species that performs in a broader range of environmental conditions (Yachi and Loreau, 1999).

Acknowledgments

This work was funded by CTIFL (Centre technique interprofessionnel des fruits et légumes). C.BDR's PHD was granted by a CIFRE (Convention industrielle de Formation par la Recherche) from the ministère de l'éducation supérieure et de la recherche. We are thankful to Sandrine Maugin and Myriam Siegwart for providing the C. Pomonella larvae, all CTIFL staff, especially André Gauduel and Denis Defosse, for their work on the field enclosures' settlement, Jean-François Mandrin for his help with the carabid manipulation, Robert Donnelly for his scientific and langage comments on the draft.

References

Abrams, P. A., 2001. Describing and quantifying interspecific interactions: a commentary on recent approaches. Oikos 94, 209-218.

Altieri, M. A., 1999. The ecological role of biodiversity in agroecosystems. Agriculture Ecosystems & Environment 74, 19-31.

Aquilino, K. M., Cardinale, B. J., Ives, A. R., 2005. Reciprocal effects of host plant and natural enemy diversity on herbivore suppression: an empirical study of a model tritrophic system. Oikos 108, 275-282.

Barnes, MM., 1991. Codling moth occurence, host race formation and damage, in: World Crop Pests: Tortricid Pest, Their Biology, Natural Enemies and Control. (eds Van der Guest LPS, Evenhuis HH), Elsevier, Science Publishers, Amsterdam, pp. 313–328.

Bonacci, T., Massolo, A., Brandmayr, P., Brandmayr, T. Z., 2006. Predatory behaviour on ground beetles (Coleoptera : Carabidae) by *Ocypus olens* (Muller) (Coleoptera : Staphylinidae) under laboratory conditions. Entomological News 117, 545-551.

Casula, P., Wilby, A., Thomas, M. B., 2006. Understanding biodiversity effects on prey in multi-enemy systems. Ecology Letters 9, 995-1004.

du Chatenet, G., 2005. Coléoptères d'Europe : carabes, carabiques et dytiques : Volume 1, Adephaga, ed.Nap, Verrières-le-Buisson, France.

Debras, J. F., Senoussi, R., Rieux, R., Buisson, E., Dutoit T., 2008. Spatial distribution of an arthropod community in a pear orchard (southern France) - Identification of a hedge effect. Agriculture Ecosystems & Environment 127, 166-176.

Epstein, D. L., Zack, R. S., Brunner, J. F., Gut, L., Brown, J. J., 2001. Ground beetle activity in apple orchards under reduced pesticide management regimes. Biological Control 21, 97-104.

Erbilgin, N., Dahlsten, D. L., Chen, P. Y., 2004. Intraguild interactions between generalist predators and an introduced parasitoid of *Glycaspis brimblecombei* (Homoptera : Psylloidea). Biological Control 31, 329-337.

Finke, D. L., Denno, R. F., 2004. Predator diversity dampens trophic cascades. Nature 429, 407-410.

Finke, D. L., Snyder, W. E., 2010. Conserving the benefits of predator biodiversity. Biological Conservation 143, 2260-2269.

Garcin, A., Darthout, L., Lochard, G., 2008. Les carabes en verger de pommier : des auxiliaires à préserver. Ctifl-infos 244, 31-35.

Guy, A. G., Bohan, D. A., Powers, S. J., Reynolds, A. M., 2008. Avoidance of conspecific odour by carabid beetles: a mechanism for the emergence of scale-free searching patterns. Animal Behaviour 76:585-591.

Hagley, E. A. C., Allen, W. R., 1988. Ground beetles (Coleoptera: Carabidae) as predators of the codling moth, *Cydia pomonella* (L) (Lepidoptera: tortricidae). Canadian Entomologist 120, 917-925.

Jones, V. P., Wiman, N. G., 2008. Longevity of the adult codling moth, *Cydia pomonella*, and the obliquebanded leafroller, *Choristoneura rosaceana*, in Washington apple orchards. Journal of Insect Science 8, 10.

Koss, A. M., Chang, G. C., Snyder W. E., 2004. Predation of green peach aphids by generalist predators in the presence of alternative, Colorado potato beetle egg prey. Biological Control 31, 237-244.

Koss, A. M., Snyder, W. E., 2005. Alternative prey disrupt biocontrol by a guild of generalist predators. Biological Control 32, 243-251.

Kromp, B., 1999. Carabid beetles in sustainable agriculture: a review on pest control efficacy, cultivation impacts and enhancement. Agriculture Ecosystems & Environment 74, 187-228.

Lang, A., Filser, J., Henschel, J. R., 1999. Predation by ground beetles and wolf spiders on herbivorous insects in a maize crop. Agriculture, Ecosystems & Environment 72, 189-199.

Letourneau, D. K., Jedlicka, J. A., Bothwell, S. G., Moreno, C. R., 2009. Effects of natural enemy biodiversity on the suppression of arthropod herbivores in terrestrial ecosystems. Annual Review of Ecology Evolution and Systematics 40, 573-592.

Loreau, M., Naeem, S., Inchausti, P., Bengtsson, J., Grime, J. P., Hector, A., Hooper, D. U., Huston, M. A. , Raffaelli, D., Schmid, B. , Tilman, D., Wardle, D. A., 2001. Ecology - Biodiversity and ecosystem functioning: Current knowledge and future challenges. Science 294, 804-808.

Losey, J. E., Denno, R. F., 1998. Positive predator-predator interactions: Enhanced predation rates and synergistic suppression of aphid populations. Ecology 79, 2143-2152.

Lovei, G. L., Sunderland, K. D., 1996. Ecology and behavior of ground beetles (Coleoptera: Carabidae). Annual Review of Entomology 41, 231-256.

Minarro, M., Espadaler, X., Melero, V. X., Suarez-Alvarez, V., 2009. Organic versus conventional management in an apple orchard: effects of fertilization and tree-row management on ground-dwelling predaceous arthropods. Agricultural and Forest Entomology 11, 133-142.

Moreno, C. R., S. A. Lewin, and P. Barbosa. 2010. Influence of relative abundance and taxonomic identity on the effectiveness of generalist predators as biological control agents. Biological Control 52:96-103.

R Development Core Team. 2010. R: a Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing: 3-900051-07-0. http://www.r-project.org.

Reyes, M., Franck, P., Olivares, J., Margaritopoulos, J., Knight, A., Sauphanor, B., 2009. Worldwide variability of insecticide resistance mechanisms in the codling moth, *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae). Bulletin of Entomological Research 99, 359-369.

Riddick, E. W., Mills, N. J., 1994. Potential of adult carabids (Coleoptera: Carabidae) as predators on 5th instar codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) in apple orchards in California. Environmental Entomology 23, 1338-1345.

Sauphanor, B., Bouvier, J. C., Brosse, V., 1998. Spectrum of insecticide resistance in *Cydia pomonella* (Lepidoptera : Tortricidae) in southeastern France. Journal of Economic Entomology 91, 1225-1231.

Simon, S., Bouvier, J. C., Debras, J. F., Sauphanor, B., 2009. Biodiversity and pest management in orchard systems. A review. Agronomy for Sustainable Development 1-14.

Snyder, W. E., Ives, A. R., 2001. Generalist predators disrupt biological control by a specialist parasitoid. Ecology 82, 705-716.

Snyder, W. E., Wise, D. H., 1999. Predator interference and the establishment of generalist predator populations for biocontrol. Biological Control 15, 283-292.

Steffan, S. A., Snyder, W. E., 2010. Cascading diversity effects transmitted exclusively by behavioral interactions. Ecology 91, 2242-2252.

Straub, C. S., Snyder, W. E., 2006a. Species identity dominates the relationship between predator biodiversity and herbivore suppression. Ecology 87, 277-282.

Straub, C. S., Snyder, W. E., 2006b. Experimental approaches to understanding the relationship between predator biodiversity and biological control, in: Brodeur, J., Boivin, G. (eds), Trophic and Guild Interactions in Biological Control. Springer, Dordrecht, Pages 221-239.

Symondson, W. O. C., Sunderland, K. D., Greenstone, M. H., 2002. Can generalist predators be effective biocontrol agents? Annual Review of Entomology 47, 561-594.

Traugott, M., 1998. Larval and adult species composition, phenology and life cycles of carabid beetles (Coleoptera : Carabidae) in an organic potato field. European Journal of Soil Biology 34, 189-19

Tscharntke, T., Klein, A. M., Kruess, A., Steffan-Dewenter, I., Thies, C., 2005. Landscape perspectives on agricultural intensification and biodiversity - ecosystem service management. Ecology Letters 8, 857-874.

von Berg, K., Traugott, M., Symondson, W. O. C., Scheu, S., 2008. Impact of abiotic factors on predator-prey interactions: DNA-based gut content analysis in a microcosm experiment. Bulletin of Entomological Research 98, 257-261.

Wise, D. H., 2006. Cannibalism,food limitation, intraspecific competition and the regulation of spider populations. Annual Review of Entomology 51, 441-465.

Worsfold, N. T., Warren, P. H., Petchey., O. L., 2009. Context-dependent effects of predator removal from experimental microcosm communities. Oikos 118, 1319-1326.

Yachi, S., Loreau, M., 1999. Biodiversity and ecosystem productivity in a fluctuating environment: the insurance hypothesis. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 96, 1463–1468.

Zehnder, G., Gurr, G. M., Kuhne, S., Wade, M. R., Wratten, S. D., Wyss, E., 2007. Arthropod pest management in organic crops. Annual Review of Entomology 52, 57-80.

Figure 1: Potential interactions between predators and preys within the enclosures. In dash line, the two carabid predators and the *C. pomonella* prey under study. In full line, alternative preys and predators, and the interactions which are discussed in the present study.

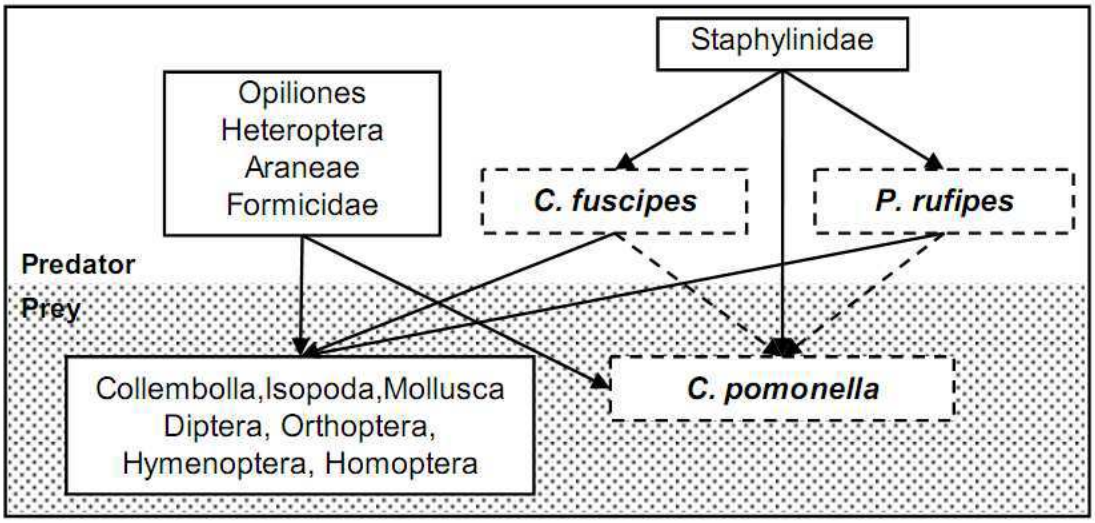
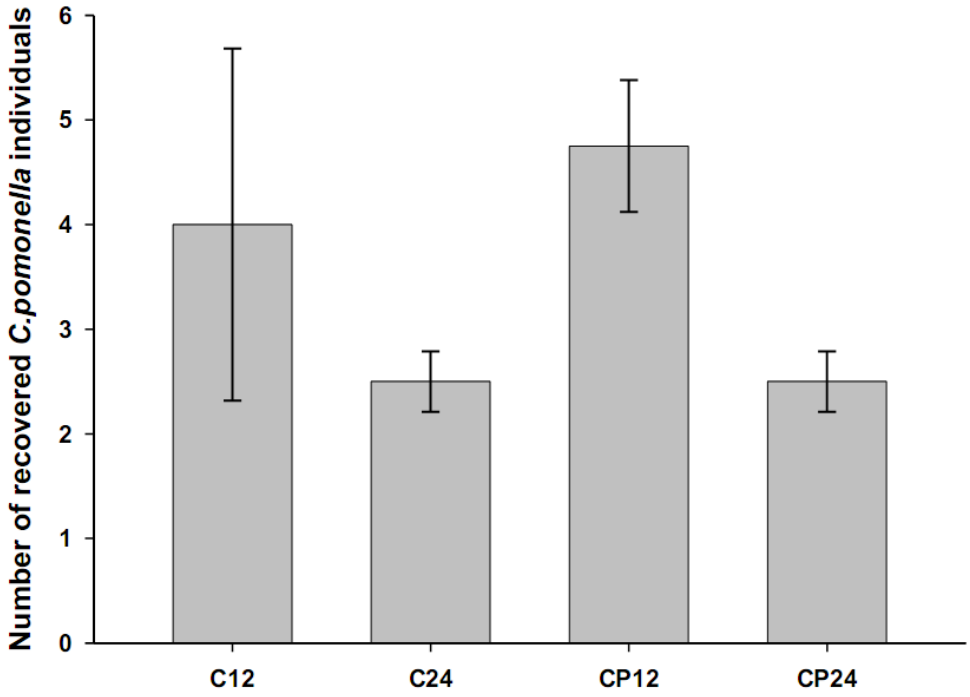


Figure 2: Mean number of *C. pomonella* (individuals / enclosure ± SE) recovered per treatment (4 enclosures per treatment). Treatment C12: *C. fuscipes* (12 individuals). Treatment C24: *C. fuscipes* (24 ind.). Treatment CP12: *C. fuscipes* (6 ind.) and *P. rufipes* (6 ind.). Treatment CP24: *C. fuscipes* (12 ind.) and *P. rufipes* (12 ind.).



B. Mortalité des pucerons du pommier en fonction de l'abondance des araignées de la frondaison.

Je reprends ici une partie des résultats exposés dans l'article 2 du chapitre II. L'année 2010 a été caractérisée par une faible abondance de puceron cendré relativement aux autres pucerons verts des pommiers. Nous avons donc ajouté le suivi de ces pucerons en plus de celui du puceron cendré.

1) Résumé du matériels et méthodes

Au total 61 arbres situés dans 3 vergers de la zone d'étude (planche amovible) ont été suivis hebdomadairement pour observer les dynamiques d'émergence des fondatrices de pucerons des pommiers à partir des œufs d'hiver jusqu'à la formation des premières colonies. En parallèle, des araignées de la frondaison ont été échantillonnées par bandes-pièges. Ce type de piégeage qui constitue un refuge pour les araignées pendant l'hiver donne donc une mesure relative de leur abondance dans l'arbre.

2) Résultats

L'analyse statistique de ces données montre que la probabilité qu'un arbre présente une colonie de puceron est négativement corrélée à l'abondance des araignées collectées entre le début de l'expérience et le 22 avril. En d'autres termes, plus les araignées sont abondantes sur un arbre en début de saison, moins l'arbre est agressé par les pucerons. Ce résultat suggère un effet densité-dépendant de la régulation de pucerons par les araignées de la frondaison. Il serait donc intéressant de pouvoir le tester expérimentalement par exemple grâce à des mésocosmes adaptés à la manipulation des arthropodes de la frondaison. Ce type d'expérience permettrait aussi de décrire la forme de la relation entre la densité des araignées en début de printemps et le nombre de colonies de pucerons observées.

En conclusion, il me semble judicieux pour comprendre les effets de densité et de diversité des prédateurs sur la mortalité des ravageurs de concilier deux approches complémentaires, l'expérimentation en mésocosmes et les suivis des dynamiques proies-prédateurs. D'une part, l'expérimentation en mésocosmes permet de décrire la forme de la relation de mortalité des ravageurs en fonction de la densité ou de la diversité des prédateurs. Ces résultats peuvent être ensuite utilisés dans l'implémentation de modèles proie-prédateur. Les expériences en mésocosmes ont d'ailleurs l'avantage d'être plus réalistes que les expériences en laboratoire. D'autre part, les suivis des dynamiques proies-prédateurs permettent de déceler l'importance relative de la densité et de la diversité des prédateurs dans les patterns de distribution de ravageurs observés. Notamment, les données générées par ces suivis peuvent servir à déterminer quels sont les facteurs de la dynamique proie-prédateur qui expliquent le mieux ces patterns (Pinol *et al.*, 2009). Toutefois, ce type de suivi devrait être entrepris sur plusieurs années consécutives pour pouvoir conclure sur l'implication du prédateur dans la régulation du ravageur.

Chapitre V : Quelles caractéristiques environnementales favorisent l'abondance et la fonctionnalité des prédateurs ?

Le troisième volet de cette thèse porte sur l'étude des caractéristiques environnementales du verger et du paysage qui sont favorables aux prédateurs dont on a évalué le potentiel en tant qu'agent de contrôle du carpocapse de la pomme, de la tordeuse orientale et du puceron cendré. Comme cela a été dit dans le chapitre I, cette étude devrait être envisagée à plusieurs échelles de l'échelle locale du verger à l'échelle régionale du bassin de production. Cependant, comme l'échelle maximale de gestion de l'arboriculteur est celle de son exploitation, cette étude porte sur la gestion de l'habitat dans le verger et sur la gestion des structures agro-environnementales à proximité (haies, bois, autres cultures, etc). Ce chapitre présente des résultats obtenus par des suivis de la communauté des arthropodes du sol et de la communauté des araignées de la frondaison dans des vergers de la zone de production. J'ai effectué l'échantillonnage et les identifications des arthropodes du sol en 2009 et 2010. Le suivi de la communauté des araignées de la frondaison a été réalisé en 2009 par l'échantillonnage d'individus pour l'analyse de leurs contenus stomacaux par la PCR spécifique du puceron cendré. Il s'agit à ma connaissance de la première étude qui utilise des résultats d'analyse de contenus stomacaux par PCR diagnostique pour évaluer l'impact des caractéristiques environnementales sur la fonctionnalité d'une communauté de prédateurs.

A. Etude des caractéristiques locales du verger favorisant les carabes et araignées du sol

Nous avons vu dans le chapitre I que certaines espèces de carabes et d'araignées du sol sont des prédateurs du carpocapse de la pomme et de la tordeuse orientale. La prédation de larves diapausantes à l'automne était observée notamment chez des espèces de carabes à reproduction automnale dont *Pseudoophonus rufipes* et *Pseudoophonus griseus*. Concernant les araignées, la prédation de ces tordeuses au printemps et à l'automne était attribuable à plusieurs familles dont les Lycosidae, les Gnaphosidae, les Thomisidae et les Linyphiidae. Une fois ces prédateurs identifiés, je me suis ensuite demandée quelles gestions des éléments semi-naturels intra parcelle ou autour de la parcelle pourrait impacter favorablement les populations de ces auxiliaires ?

Il existe en grandes cultures des indications de l'influence de la gestion du couvert herbacé dans et autour de la parcelle sur les populations d'arthropodes du sol (Kromp, 1999 ; Samu *et al.*, 1999 ; Doring and Kromp, 2003 ; Schmidt *et al.*, 2005 ; Schweiger *et al.*, 2005 ; Kleijn *et al.*, 2006 ; Chaplin-Kramer *et al.*, 2011 ; Prieto-Benitez and Mendez, 2011). Cependant, des résultats différents peuvent être attendus en vergers de par la pérennité du système et sa structure multi-strate (strate herbacée+ strate arborée) qui permet une diversité de niches et ressources potentiellement favorable aux auxiliaires. Mais la question a été peu explorée en vergers pour les araignées et carabes (Wyss, 1996 ; Minarro and Dapena, 2003 ; Mathews *et al.*, 2004).

J'ai abordé cette question en comparant les abondances de 4 espèces de carabes et de 4 familles d'araignées prédatrices de carpocapse de la pomme dans 8 vergers biologiques différant par leur environnement, leur degré d'ouverture du milieu et leur gestion du couvert herbacé. Pour répondre à cette question, le choix de ne travailler qu'en agriculture biologique se justifie pleinement par la très forte réduction des populations sur cette culture en protection conventionnelle (Simon *et al.*, 2009) qui risque de masquer les effets des aménagements semi-naturels.

1) Matériels and méthodes

~ *Les vergers étudiés*

Des suivis de biodiversité ont été réalisés en 2009 et 2010 dans 8 des 9 vergers dans lesquels j'ai étudié la prédation des tordeuses et pucerons (voir planche amovible). Grâce à des

enquêtes auprès des deux arboriculteurs propriétaires de ces vergers, nous avons remarqué que leurs stratégies de protection contre les ravageurs étaient similaires. Contre le carpocapse de la pomme qui est le ravageur principal dans ce bassin de production, ils utilisent le virus de la granulose et la confusion sexuelle des mâles. Les autres traitements incluaient des huiles contre les pucerons en hiver et du soufre et du cuivre contre les maladies cryptogamiques. Tous les vergers présentent un couvert herbacé entre les rangs qui est entretenu mécaniquement. Or ces exploitants se distinguent principalement par leur gestion de ce couvert. Le propriétaire A (planche amovible) coupe l'herbe deux fois par an, en hiver après la taille des arbres et avant la récolte. L'herbe et les branches taillées sont seulement broyées en hiver. Le propriétaire B coupe l'herbe au moins quatre fois par an pour garder une hauteur de végétation autour de 20 cm.

~ *L'échantillonnage par piège Barber :*

Les pièges Barber sont des pièges passifs couramment utilisés pour recenser une large partie de la faune se déplaçant au sol (Baars, 1979). Ces pièges apportent une mesure de la densité-activité des organismes piégés. Cette mesure de densité-activité sera appelée abondance dans la suite du chapitre. Ce sont des pots de 11cm de diamètre, enterrés dans le sol contenant une solution à 10% d'alcool afin de conserver les individus capturés. Six pièges ont été disposés le long d'un rang dans chaque verger au niveau du quatrième inter-rang en partant du Nord. Le premier pot de chaque ligne de piégeage a été placé systématiquement à 10m du bord de la parcelle, et chaque pot est séparé de 10 m du suivant. Chaque période de piégeage durait 7 jours. Deux périodes de piégeage ont eu lieu en 2009 (du 25/06 au 01/07, et du 23/09 au 30/09) et trois en 2010 (du 20/04 au 30/04, du 07/06 au 14/06 et du 24/09 au 01/10). Les arthropodes capturés ont été conservés dans l'alcool, puis identifiés en laboratoire à l'aide d'une loupe binoculaire, selon un degré de précision différent en fonction des taxons. Les arachnides ont été déterminées jusqu'à la famille, les staphylins jusqu'à la sous-famille, et les carabes jusqu'à l'espèce.

~ *Variables environnementales :*

Parmi les variables décrites dans le chapitre II, 5 variables décrivant les caractéristiques locales des vergers ont été utilisées pour l'analyse (tableau V.1). Ces variables ont été choisies en fonction de leur influence potentielle sur l'écologie des espèces échantillonnées : milieu ouvert ou fermé (ombrage et variables décrivant les haies) et ressources alimentaires (richesse

spécifique du couvert et proportion de sol nu). Les haies pourraient également avoir un rôle de refuge ou de réservoir pour certaines espèces mobiles (Landis *et al.*, 2000).

Variables	Description
rich.couvert	Richesse en familles végétales
haut.moy.haie	Hauteur moyenne des haies : moyenne des hauteurs de haies pondérées par leurs longueurs respectives >[∑Hauteur haie / longeur haie] / Nombre de haies
ombrage	Proportion relative de la surface ombragée dans le verger : > (Distance entre deux rangs d'arbres - 2 x Demi-largeur de feuillage) / Distance entre deux rangs d'arbres
prop.sol.nu	Proportion en sol nu du verger : surface du verger occupée par le sol nu, estimée en % et basée sur les relevés de couvert végétal réalisés en février 2011(la partie butée du verger est considérée comme étant « recouverte » à 100% de sol nu)
haie/périmètre	Ratio entre la longueur de haie autour du verger et le périmètre de la parcelle

Tableau V.1 : Description des variables environnementales décrivant les caractéristiques locales des vergers.

~ *Analyse statistique :*

Afin d'éliminer les espèces rares ou difficiles à piéger pour lesquelles les abondances sont probablement mal estimées, seules les familles et les espèces respectivement d'araignées et de carabes, représentées par au moins 3 individus par an dans au moins 2 des 8 vergers ont étés conservées pour les analyses.

Nous avons analysé la variation des abondances observées à l'aide de modèles linéaires généralisés à effets mixtes (logiciel R, package glmulti et lme4, function Glmer). Cette analyse avait pour but de déterminer l'impact des variables environnementales, de la date d'échantillonnage et du propriétaire sur la variance des abondances des espèces de carabes et des familles d'araignées ciblées. Plutôt que de choisir une approche 'stepwise' de sélection des variables dans le modèle, nous avons utilisé le package glmulti pour comparer toutes les combinaisons possibles de variables explicatives. Au vu du faible nombre de vergers, le nombre maximum de variables incluses dans un modèle a été fixé à 4 et les interactions entre variables n'ont pas été étudiées.

Les analyses ont été faites en choisissant une distribution de Poisson pour les abondances des arthropodes car il s'agit de données de comptage et une fonction de lien log. Un effet aléatoire 'parcelle' a été inclus dans tous les modèles pour tenir compte du fait que plusieurs pots étaient échantillonnés au sein de chaque verger. L'estimation des poids relatifs des différentes

variables explicatives a été effectuée à partir des 100 meilleurs modèles issus de l'analyse. Le poids de chaque variable explicative est calculé en sommant les poids des modèles dans lesquels elles apparaissent (maximum = 1, minimum = 0). Les poids donnés à chacune des variables explicatives correspondent à la probabilité qu'une de ces variables ait une influence (négative ou positive) sur les mesures d'abondance. La valeur de 0.7 a été déterminée comme valeur seuil à partir de laquelle l'influence d'une variable peut être considérée comme effective bien que nous n'ayons encore pas fait de test formel permettant de déterminer cette valeur seuil. Pour les valeurs inférieures à 0.7, nous considérons que la variable explicative testée est sans effets sur l'abondance. Le sens de l'effet est déterminé à partir de l'estimation des effets des variables dans une approche multi-modèle. Pour l'analyse de l'influence de la variable propriétaire, la tendance déterminée par les modèles (positive ou négative) concernera le propriétaire A, en comparaison au propriétaire B.

2) Résultats

~ *Araignées, composition en familles*

Les familles les plus abondantes sont représentées dans la figure V.I. Le détail des captures est donné en annexe. On observe des patterns d'abondance équivalents en 2009 et 2010 quoique le nombre d'araignées soit plus faible en 2010. Au total, le nombre d'araignées capturées est plus grand au printemps qu'à l'automne. La répartition des familles évolue aussi entre avril, juin et septembre. Alors que les Lycosidae sont très majoritaires au printemps et à l'automne, les Linyphiidae ne sont abondantes qu'à l'automne. Enfin, les Gnaphosidae et Thomisidae sont bien représentées à la fois au printemps et à l'automne.

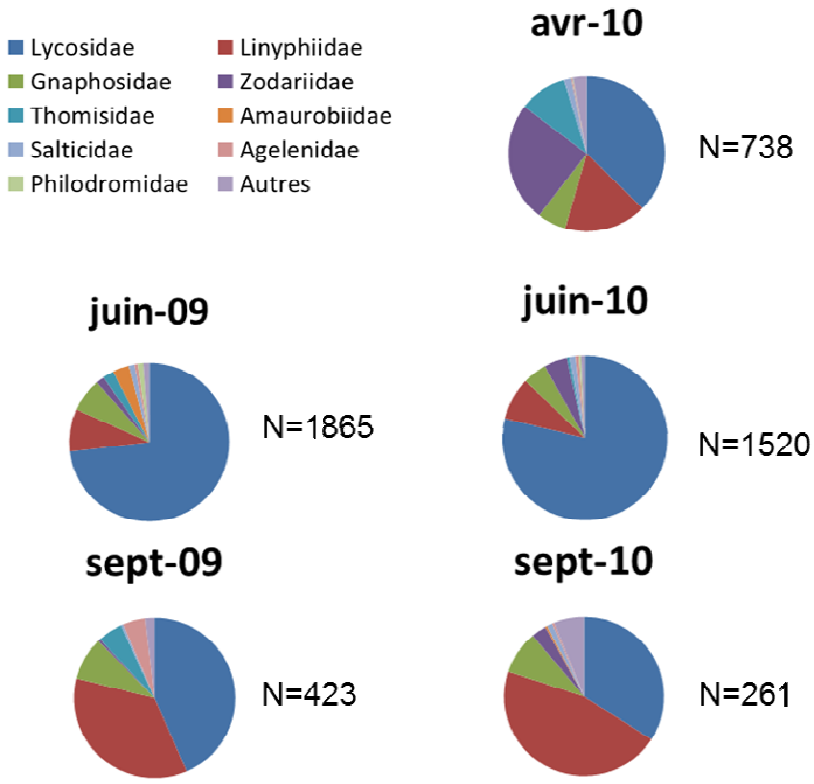


Figure V.1 : Composition des communautés d'araignées capturées dans les vergers

~ *Carabes, composition en espèces*

Les espèces les plus abondantes sont représentées en figure V.2. Le détail des captures est donné en annexe. On observe de même une plus faible abondance de carabes en 2010 qu'en 2009, notamment au printemps 2010 où seulement 94 carabes ont été capturés alors que l'on en dénombrait 395 en 2009. La communauté de carabes est dominée en début de printemps (avril) par des espèces à reproduction printanière dont *Nebria Brevicollis*, *Harpalus affinis* et *Harpalus dimidiatus* qui sont trois espèces carnivores. Par ailleurs, en juin 2009, nous observons des adultes des espèces *P. rufipes* et *P. griseus* mais pas en juin 2010. De plus, la cicindèle, Cy*lindera germanica*, est abondante en juin pour les deux années. Enfin, la communauté de carabes à l'automne en 2009 et 2010 est dominée par 4 espèces de carabes à reproduction automnale : *P. rufipes*, *P. griseus*, *Pterostichus niger* et *Calathus fuscipes*. L'effet des caractéristiques locales des vergers sur leurs abondances a donc été étudié.

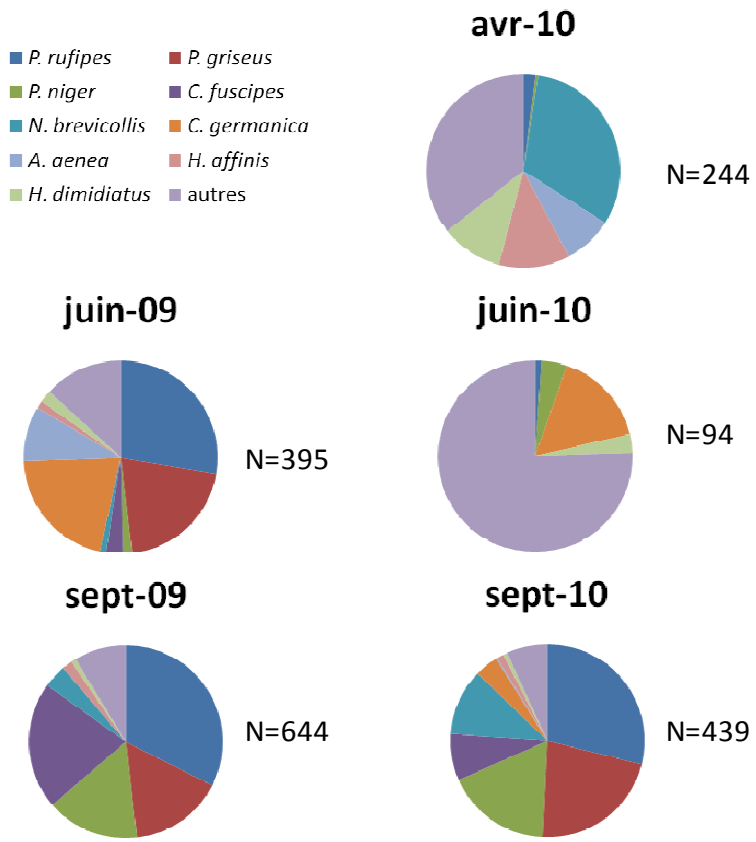


Figure V.2 : Composition des communautés de carabes capturées dans les vergers

~ *Effet des caractéristiques locales des vergers sur l'abondance des principales familles d'araignées*

Les abondances observées sont dépendantes de la date d'échantillonnage sauf pour les Linyphiidae. Les abondances observées de Lycosidae sont expliquées par la gestion du couvert végétal différente entre les deux propriétaires. En effet, cette famille d'araignées est plus abondante dans les vergers du propriétaire A qui est caractérisé par une gestion du couvert plus extensive avec une hauteur de la strate herbacée plus haute. Les abondances de Thomisidae sont plus élevées en présence de haie autour du verger et celles de Linyphiidae sont favorisées par la hauteur moyenne de la haie. En revanche, La richesse du couvert végétal a un impact négatif sur les abondances de Linyphiidae. Enfin, aucune variable environnementale n'explique les abondances observées de Gnaphosidae.

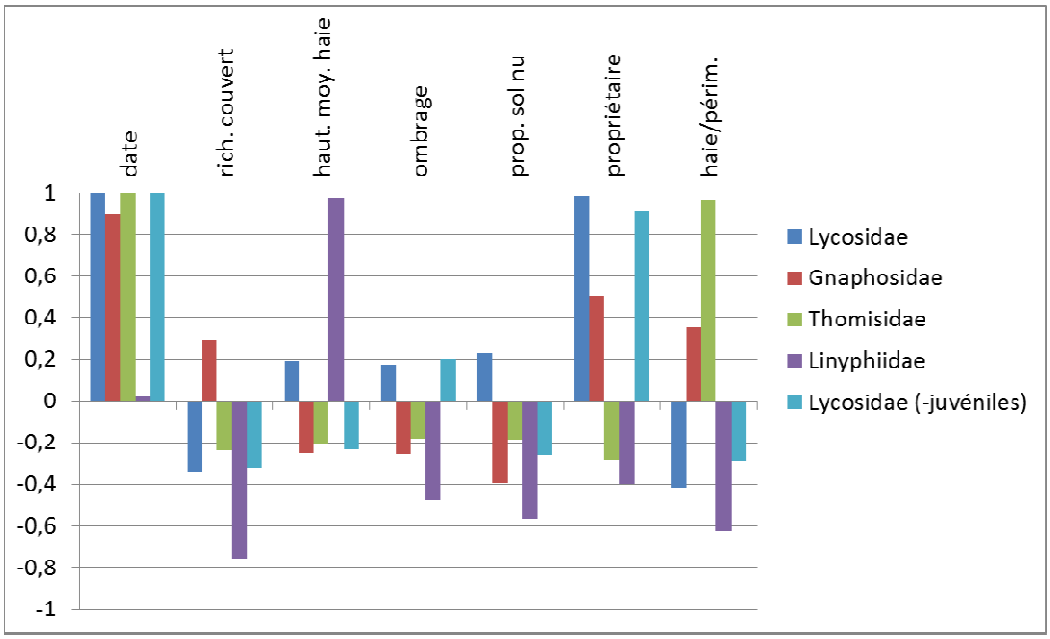


Figure V.3 : Poids orienté des variables locales sur l'abondance des quatre familles d'araignées majoritaires. Nous avons donné un poids négatif aux variables ayant un effet moyen négatif sur l'abondance de la famille.

~ *Effet des caractéristiques locales des vergers sur l'abondance des principales espèces de carabes*

L'effet date ressort pour les quatre espèces de carabes, ce qui correspond bien aux différences de phénologie observées. Les abondances des deux espèces de Pseudoophonus, *P. rufipes* et *P. griseus*, sont expliquées par les mêmes variables environnementales. La hauteur moyenne de la haie et l'ombrage ont un effet négatif sur leur abondance tandis que la proportion de sol nu a un effet positif. A l'inverse aucune variable environnementale n'explique particulièrement les abondances observées de *P.niger* et *C.fuscipes*.

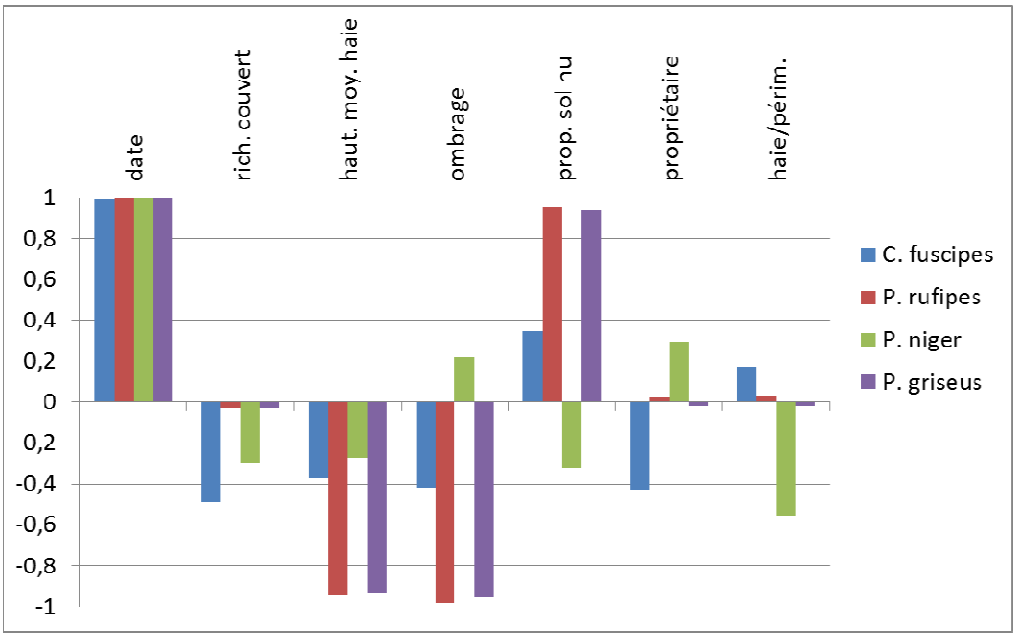


Figure V.4 : Poids orienté des variables locales sur l'abondance des quatre espèces de carabes majoritaires. Nous avons donné un poids négatif aux variables ayant un effet moyen négatif sur l'abondance de la famille.

3) Discussion

Les communautés de carabes et d'araignées observées différaient en abondance et composition entre 2009 et 2010. Ces différences pourraient être expliquées par la rigueur de l'hiver 2009-2010 qui a été spécialement neigeux et froid et l'arrivée tardive du printemps qui a pu causer des fortes mortalités chez les arthropodes du sol et des retards dans les émergences au printemps des espèces de carabes à reproduction automnale. Cette perturbation d'origine climatique a donc fortement affecté les communautés de ces deux groupes prédateurs. Cela souligne une nouvelle fois l'intérêt de faire des suivis pluri-annuels des communautés pour discerner l'impact des caractéristiques paysagères sur les communautés des autres sources de variation comme ici une perturbation climatique ponctuelle.

Dans cette étude, l'effet date traduit clairement la phénologie liée à chacun des groupes étudiés. D'après nos relevés, les araignées présentent un pic d'activité au cours des piégeages réalisés durant le mois de juin, ce qui concorde avec les observations de Nyffeler et Sunderland (2003) en cultures céréalières de maïs et de blé. De même pour les carabes, Garcin et al. (2008) ont réalisé un suivi hebdomadaire durant l'automne 2007 de la communauté de carabes de la parcelle 171 et ont observé le pic d'abondance de *P.rufipes* , *C.fuscipes*, *P.niger* tout début septembre. L'absence d'effet date pour les Linyphiidae pourrait révéler un biais d'observation généré par la technique de piégeage utilisée dans cette étude qui n'est pas adaptée à cette famille. En effet, ces araignées construisent des toiles en forme de

nappe dans la végétation herbacée (Roberts, 1996). Elles ne bougent donc pas pour chasser et ne se déplacent que lorsqu'elles y sont contraintes, soit par la compétition pour les sites favorables, soit pour la reproduction lors de la recherche d'un partenaire, soit pour trouver un refuge en hiver. Les pièges Barber qui reflètent une activité-densité d'individus se déplaçant à même le sol ne permettent donc pas de capturer les araignées sur leur toile. Or à l'automne, ces araignées quittent leur toile pour trouver un refuge hivernal généralement sous des pierres ou détritus. En conséquence, la densité-activité observée est très importante en cette saison. Nous mesurons donc avec cette technique de piégeage pour cette famille plutôt des activités de déplacement d'un habitat à l'autre qu'une abondance réelle de cette espèce. Il est probable que cela explique que la richesse du couvert ait un impact négatif sur la densité-activité observée pour cette famille : plus le couvert végétal est riche, plus sa structure est complexe, donc plus le nombre de micro-habitats favorables au tissage de toile est grand et moins la compétition est importante. En conséquence, les araignées se délogent moins et se déplacent moins d'un site à l'autre. Comme ces araignées ne vivent pas dans la strate arborée, l'effet positif de la hauteur moyenne de la haie s'expliquerait plutôt par une protection physique (Debras *et al.*, 2008) contre les perturbations générées par le vent dominant et froid de cette région, le mistral, que par un rôle de source /refuge.

Comme observé en cultures céréalières ou en prairies, les Lycosidae sont favorisées par une gestion du couvert herbacé extensive (Frank and Nentwig, 1995 ; Entling *et al.*, 2007 ; Muff *et al.*, 2009). Nous pouvons avancer deux raisons à ces observations. Premièrement, moins faucher ou broyer le couvert herbacé permet à cette végétation d'atteindre une hauteur plus grande et de fleurir. La structure du couvert est donc plus complexe et offre une plus grande diversité de micro-habitats. Par exemple, les Lycosidae du genre *Pardosa* investissent plus facilement le haut des herbes que ne le font les Lycosidae du genre *Trochosa*. Ainsi il est probable que la diversité de micro-habitat ait diminué la compétition au sein des Lycosidae qui prend le plus souvent la forme de cannibalisme (Wise, 2006). De plus, ce couvert herbacé moins fauché ou broyé a la possibilité de fleurir et donc d'offrir des ressources attirant des proies supplémentaires pour les araignées. En conséquence, un couvert herbacé haut pourrait favoriser l'abondance des Lycosidae en diminuant la prédation intraguilde tout en augmentant la disponibilité alimentaire. Cette conclusion concorde avec les tests en laboratoire effectués par Schmidt and Rypstra (2010) sur *Pardosa milvina*. Deuxièmement, une gestion intensive du couvert est caractérisée par une fréquence plus élevées des perturbations mécaniques, broyage ou fauchage, qu'en gestion extensive. Or ces perturbations infligent de fortes

mortalités aux populations d'araignées et donc limitent l'abondance des populations d'araignées qui dépendent alors des taux de migration depuis les habitats naturels adjacents ou de leur fécondité pour se restaurer entre deux passages.

Le caractère ubiquiste des espèces de *P.niger* et *C.fuscipes* est marqué par l'absence d'effet des variables environnementales testées sur leurs abondances. En revanche, *P. rufipes* et *P. griseus* marquent leur préférence pour un habitat ouvert comme le souligne l'effet positif sur leur abondance de la proportion de sol nu et pour un habitat ensoleillé, comme le souligne les effets négatifs de la hauteur moyenne de la haie et de l'ombrage. Ceci est à mettre en relation avec la dominance de *P.rufipes* dans de nombreux assemblages carabiques des agroécosystèmes céréaliers. Ces agroécosystèmes se caractérisent par l'ouverture de leurs milieux avec une strate herbacée mono-spécifique (celle de la culture) et une strate arborée absente. De par son écologie, cette espèce est donc particulièrement inféodée aux paysages agricoles.

Seules les Thomisidae étaient favorisées par la quantité de haies autour du verger. Il se peut que la haie ait un rôle dans le cycle de vie de ces araignées, soit de refuge en hiver, soit de site de reproduction. Un suivi de ces araignées à la fois dans la haie et le verger au cours d'une saison permettrait de conclure sur ce point.

Les haies ont un rôle limité dans l'explication des abondances observées en arthropodes du sol, à l'exception des Thomisidae et des Linyphiidae. Ce résultat vient compléter les conclusions des travaux de Debras et al. (2006 ; 2008) qui avaient suivi des communautés d'arthropodes de la frondaison par battage dans des vergers de poiriers du même bassin de production. Ils avaient observé que les haies n'expliquaient que 2.2 % de la variance de la composition des communautés alors que les pratiques agricoles en expliquaient 12.4 %. De plus, ils avaient remarqué un impact positif des haies sur l'abondance, la richesse et la diversité de la communauté des arthropodes de la frondaison du fait de la protection physique contre le vent dominant. Ainsi, l'effet des haies autour des vergers semble être équivalent pour les arthropodes de la frondaison et du sol. Il serait donc intéressant de tester cette hypothèse dans le futur.

B. Influence des caractéristiques du verger et du paysage sur le potentiel de régulation du puceron cendré par les araignées de la frondaison

Je reprends brièvement ici les résultats présentés dans l'article 4 ci-dessous.

1) Objectifs de cette étude

L'objectif de cette étude était de répondre à la question suivante : Est-ce que les caractéristiques environnementales affectent de la même manière la composition et la fonctionnalité, c'est-à-dire le potentiel de régulation du puceron cendré, des communautés des araignées de la frondaison. En effet, nous savions déjà (voir chapitre III) que la plupart des araignées de la frondaison consommaient du puceron cendré. La deuxième étape consistait à trouver les traits fonctionnels qui pouvaient décrire le potentiel de régulation de chacune des espèces. Il serait ensuite possible de comparer la fonctionnalité de communautés de différents vergers selon leur répartition en ces traits fonctionnels. Cette approche permet donc de comparer la fonctionnalité de communautés indépendamment de leur composition en espèces et donc d'étudier comment cette fonctionnalité est affectée par les caractéristiques environnementales.

2) Matériels et méthodes

Des araignées de la frondaison ont été prélevées de mars à mai 2009 (4 dates) par bande-piège (protocole de l'article 4) dans 9 vergers biologiques de la zone d'étude (planche amovible) pour être testées en PCR diagnostique spécifique au puceron cendré. Les espèces d'araignées ont été caractérisées par des traits fonctionnels (la taille, l'activité journalière, la maturité, la stratégie de chasse, et le micro-habitat). Par ailleurs, les caractéristiques environnementales du verger et du paysage dans une zone tampon de 50 m ont été décrites.

3) Résultats

Parmi les différents traits fonctionnels étudiés, la taille est le seul trait fonctionnel qui explique de manière significative le potentiel de régulation du puceron cendré par les araignées de la frondaison. J'ai donc caractérisé le potentiel de régulation du puceron cendré par la communauté des araignées d'un verger par la taille cumulée de toutes les araignées qui la composent. En confrontant les données de composition en espèces d'une part, et de taille cumulée d'autre part avec les variables environnementales, il s'est avéré que la composition en espèces des communautés d'araignées de la frondaison est bien expliquée par l'environnement du verger tandis que la taille cumulée ne l'est pas.

Article 4

A soumettre

Title: Landscape and orchard characteristics influence the composition of spider communities but not their functionality on aphid control.

Authors: Catherine Boreau de Roincé[a,b,c], William O.C. Symondson[c], Christine Rollard[d], Jean-Michel Ricard[a], Jean-François Mandrin[a], Jean-Charles Bouvier[b] and Claire Lavigne[b].

a : Centre technique interprofessionnel des fruits et légumes, centre de Balandran, BP 32, 30127 Bellegarde, France.

b : INRA, UR 1115, Plantes et Systèmes de culture Horticoles, F-84000, Avignon, France.

c : Cardiff School of Biosciences, Cardiff University, Biomedical Sciences Building, Museum Avenue, Cardiff CF10 3AX, UK,

United Kingdom; e-mail: symondson@cardiff.ac.uk

d : Muséum national d'Histoire naturelle, Dept Systématique & Evolution, USM OSEB, 61 rue Buffon, CP 53, 75005 Paris, France.

Corresponding author :

Catherine Boreau de Roincé.

Tél : +33 (0)4 66 01 10 54

Fax : +33 (0)4 66 01 62 28

Mail : boreau@ctifl.fr

Abstract:

Canopy-active spiders are to be important natural enemies in the early spring control of *Dysaphis plantaginea*, a pest of apple orchards. The next step in conservation biological control consists in devising favorable environment for spider communities and this study therefore aimed to understand how environmental drivers affect the taxonomical composition and the functionality, i.e the potential for *D.plantaginea* control, of spider communities. Studying the predation of field-caught spiders in nine organic orchards by diagnostic PCR, size was found to be the only functional trait that significantly favours spider efficiency at suppressing this aphid. As a result, the potential of spider communities for *D.plantaginea* control was defined as its cumulative size. The confrontation of species composition and cumulative size with environmental variables describing the orchard environment revealed that species composition of spider communities was well driven by the orchard environment whereas the cumulative size was not.

Introduction:

Spiders, although firstly neglected as biological control agents (Riechert and Lockley, 1984), emerge to be an interesting group for the conservation biological control of pests in agro-ecosystems. Indeed they have been recognized as important natural enemies in cereal crops (e.g. Birkhofer et al., 2008 ; Kuusk et al., 2008) and orchards (e.g. Monzo et al., 2010). Indeed, these polyphagous predators are abundant, ubiquitous and attack diverse pests (Riechert and Lockley, 1984). In particular, in apple orchards, they are active all the year both on the ground and tree canopy (Wyss et al., 1995 ; Bogya and Marko, 1999 ; Miliczky et al., 2008 ; Korenko et al., 2010) and they prey upon the main apple pests (Wyss et al., 1995 ; Marc and Canard, 1997 ; Boreau de Roincé et al., in press ; Boreau de Roincé et al., unpublished).

The functionality of a community for pest control is highly intricate with its species composition through the occurrence of functional traits (Casula et al., 2006 ; Schmitz, 2007, 2008). Functional traits are defined as the life-history traits that contribute to the provision of a particular ecosystemic service (Petchey and Gaston, 2006). The spider taxonomic group displays a large diversity of functional traits that contribute to their potential as biocontrol agents in apple orchards: their foraging strategy (hunting mode and micro-habitat), their size, their phenology, and their dispersal capacity (Nyffeler and Sunderland, 2003). For illustration,

the ballooning mode of dispersal is known to improve the spider colonization from adjacent habitats after human disruption and thus the local population recovery (Samu et al., 1999 ; Nyffeler and Sunderland, 2003 ; Hibbert and Buddle, 2008). Actually, Marc and Canard (1997) observed degrees of diet specialization among canopy-active spiders depending on their hunting mode and micro-habitat and concluded that spider species diversity should be targeted when devising conservation biological control scheme in apple orchards. To some extent this conclusion omit the functional redundancy that could occur in communities when several species have the same functional traits thus are functionally equivalent (Casula et al., 2006 ; Mouchet et al., 2010). As a result, this limit pleads for using functional traits centered approaches at community level instead of taxonomy centered ones (Straub et al., 2008).

The species-environment relationship in spider communities has been well documented in apple orchards in previous studies (Marc et al., 1999 ; Pekar and Kocourek, 2004 ; Debras et al., 2006 ; Simon et al., 2007 ; Debras et al., 2008 ; Simon et al., 2009 ; Herrmann et al., 2010). They demonstrated that species diversity was relatively high in such perennial agro-ecosystem. This observation was explained by more complex plant structures and less anthropogenic disruption than those occurring in annual crops. Indeed, it has been shown that spider communities are structured by the environment at different spatial scales (Bogya et al., 1999 ; Samu et al., 1999 ; Herrmann et al., 2010), anthropogenic disruptions (Pekar and Kocourek, 2004 ; Marko et al., 2009 ; Prieto-Benitez and Mendez, 2011) and conspecific and intraguild interactions (Wise, 2006 ; Korenko and Pekar, 2010). But the functional traits-environment has not been investigated yet.

Looking at the predation by canopy-active spiders on *Dysaphis plantaginea* de Geer (Homoptera: Aphididae) in nine organic apple orchards, this study aims to determine which functional traits are involved in the spider ability at suppressing *D.plantaginea*, then to test whether the environmental drivers affect similarly the species composition of the spider communities (taxonomy) and their potential for *D.plantaginea* control (functionality). The rosy apple aphid, *D.plantaginea*, as a major pest of apple orchard received a particular interest for its biological control (Wyss et al., 1999 ; Kehrli and Wyss, 2001 ; Minarro et al., 2005 ; Dib et al., 2010). Recently, Boreau de Roincé et al. (unpublished) using diagnostic PCR with specific primers for *D.plantaginea* found that a large panel of spider species eat this aphid early in the season before the arrival of other natural enemies, and that the emergence of aphid colonies was negatively correlated with initial spider abundance at the end of winter. They concluded that including spider in conservation biological control schemes should be relevant

for early season aphid control in apple orchards. Using this diagnostic PCR for detecting predation events on *D.plantaginea,* this study focused on devising favorable environment for spider communities efficient at suppressing this aphid by understanding how environmental drivers structure their taxonomy and functionality. Environment was described at different scales (Duelli, 1997 ; Tscharntke et al., 2007) and including the main parameters that are acknowledged to affect populations (Altieri, 1999), i.e. the diversity of vegetation in and around the agroecosystem, the intensity of management, and the extent of the isolation from natural vegetation.

Material and methods:

In order to study the effect of landscape and orchard structures on spider communities and their functionality at regulating *D.plantaginea*, the environment of nine organic apple orchards was described, functional traits that are likely to explain spider predation were defined, spiders were collected in the orchards during the early spring and their predation on *D.plantaginea* was detected using diagnostic PCR with *D.plantaginea* specific primers.

Landscape and orchard environment

The nine organic apple orchards were situated within a 5 km² area in south-eastern France. These orchards belong to two different farmers (O-1 to O-5 and O-6 to O-9) but did not differ in their pest management (See annex A). The environmental variables defined in Table 1 describe the environment at the landscape scale (intens, hedge, and wood) and within the orchard (*hedgdiv*, *surface*, *shape*, and *canopy*). Environmental variables found to affect canopy-active spiders in previous studies (Marc et al., 1999 ; Samu et al., 1999 ; Pekar and Kocourek, 2004 ; Sackett et al., 2009 ; Simon et al., 2009). Landscape level variables describe the intensity of management (*Intens*) and the isolation from natural vegetation (*hedge* and *wood*). They were calculated using ArcGis on the dataset. The surface, shape, and the half witdh of the tree canopy (*canopy*) were estimated by direct measures of the orchards. The local variable "*hedgdiv*" which describe the plant diversity of hedgerow surrounding the orchard resulted of the Shannon index calculated with the record of plant richness in five vertical transects homogenously distributed within the hedgerow.

Spider functional traits

Spider specie information presented in Table 2 on the functional traits influencing their predation on *D.plantaginea* (size, life stage, foraging strategy, micro-habitat and daily activity) plus that on their macro-habitat preferences was found in Roberts (1996). These functional traits have been described to influence spider predation on pests (Riechert and Lockley, 1984 ; Marc and Canard, 1997 ; Nyffeler and Sunderland, 2003).

Spider collection and their predation on D.plantaginea.

In each orchard, spider communities from ten trees were sampled on four occasions when *D.plantaginea* population begins its exponential growth from March to May 2009 (19 and 27 March, 15 April, 05 May). The trees were along one row and at least 10-meter apart. The row was chosen to be around 20-meter apart from the hedgerows in order to avoid their direct influence. Cardboard traps (10 cm width bands) that mimic tree bark were wrapped around the base of a branch on each sampled tree (1 m above the ground). This trapping method is considered the best technique to sample spiders that use tree bark as a shelter (Mizell and Schiffhauer, 1987), as well as the web-building spiders when the foliage is absent (Marc and Canard, 1997). Spiders were individually collected in Eppendorf tubes and freeze-killed at -20°C in the laboratory for subsequent gut content analysis. Spiders were identified using the key by Roberts (1996) at specie level or at genus level for specimens whose identification to specie is not possible at immature stages. The diagnostic PCR detecting the predation on *D.plantaginea* was done following the protocol detailed in Boreau de Roincé et al. (unpublished). The *D.plantaginea* specific primers amplify a 105 bp fragment when the *D.plantaginea* DNA is present in the spider guts.

Statistical analysis:

These analyses were performed with R version 2.13.2 (R Development Core Team, 2010).

Which functional traits explain spider predation on D.plantaginea?

The probability of detecting *D.plantaginea* DNA in the spider guts is a binary response variable which shapes a binomial distribution. A variance analysis was performed using a general linear mixed model with orchard as random factor, and date, size, life stage, foraging strategy, micro-habitat and daily activity as fixed factors. From the complete model, a backward model selection was done with a significant threshold $\alpha = 0.05$.

How landscape and orchard structure influence the potential for D.plantaginea control by spider communities?

Spearman's correlation tests were used to eliminate redundant environmental variables. As no correlation was significant, no variable was discarded for analyse. A principal component analysis was performed with the package ade4 in order to use the coordinates of the orchard projections on three axes to summarize the environmental variables in three uncorrelated variables. These coordinates were then used in the linear model looking at the effect of the landscape and orchard characteristics on the potential of spider communities for the *D.plantaginea* control. According to the positive effect of size on spider predation (See results), the potential of each spider community for the *D.plantaginea* control was defined as the cumulative size of the spiders collected in each orchard (Specie sizes found in Table 2).

How landscape and orchard structure influence spider communities?

The co-inertia index between the matrixes of the environmental variables and the spider communities was calculated before performing a canonical correspondence analysis on these two matrixes with the package ade4.

Results:

Functional traits explaining spider predation on D.plantaginea

The best model only conserved date and spider size. Therefore, size was considered the only functional trait that favours (positive estimation = 0.307) the potential of spider communities for *D.plantaginea* control. In order to take into account size and abundance which also positively affect the potential for aphid control (Boreau de Roincé et al., unpublished), we define the potential of a spider community for *D.plantaginea* control as the cumulative size of spider present in the community.

Effect of landscape and orchard structure on the potential of spider communities for D.plantaginea control

Figure 1 shows the scatter plot of the principal component analysis of the environmental variables (axis 1 and 2), and the contribution of the environmental variables to the axis. The percentage of variance explained by the axis 1 was of 37.6 %, axis 2 of 19.4% and axis 3 of 17.4%. The cumulative size of spider communities was explained significantly by the coordinates on the axis 2 of the orchard projections ($F = 9.653$, $df = 1$, $p = 0.027$) but not with those on axis 1 (ns) and axis 3 (ns). The two variables that contribute the most to the axis 2 were hedgdiv, negatively, and intens, positively, so they had a significant effect on the cumulative size of spider communities. However, orchard O-3 is suspected to largely

influence this result as it had the maximum of the cumulative size and extreme values of intens and hedgdiv (fig.2). Indeed, when this analysis was done excluding the orchard O-3 none of the axis had a significant effect on the cumulative size of spider communities.

Effect of landscape and orchard structure on the composition of spider communities

The co-inertia index between the environmental variables and the spider communities was of 0.54 which ensure that their canonical correspondence analysis is meaningful (fig. 2). The percentage of variance explained by the axis 1 was of 35.6%, axis 2 of 27.4 %. The axis 2 clearly splits two specie groups characterized by different macro-habitats. Spiders situated above the axis 1 prefer shade habitats with complex canopy structures, such as wood and orchards with large canopy and high perimeter to area ratio, and spiders under the axis 1 prefer sunny habitats with simple canopy structures, such as hedge and orchards with short-shape canopy. As expected, our results coincide with the description of macro-habitat for these spider species (Table 2). Most of the spider species are in the right side of the axis 1 which is explained by the plant diversity in the hedgerows surrounding the orchards but few of them, in the left side display a good tolerance for intensive management at landscape scale.

Discussion:

This study aimed to identify which spider functional traits influence their predation on *D.plantaginea* in spring and to use them to qualify the potential of spider communities for its control. Then the objective was to understand how the landscape and orchard structures influence the specie composition of spider communities (taxonomy) and their potential for *D.plantaginea* control (functionality). The gut analysis of spider collected in nine organic orchards by diagnostic PCR revealed that spider size was the only functional traits that significantly explained the spider predation on *D.plantaginea*. By confronting the environmental variables of the orchards with the composition of spider communities, we found that most spider species are enhanced by the complexity of hedgerows around the orchar. Moreover, we observed that the type of surrounding macro-habitat influence the specie composition of spider communities, especially when the orchard offers the same macro-habitat. However, our results did not clearly show any correspondence between the environment and the potential of spider communities for *D.plantaginea* control defined as the cumulative size of their spiders.

Previous studies have hypothesized that canopy-active spiders in early spring are not functionally partitioned as they fill the same ecological niche sharing shelters and food

resources (Marc et al., 1999 ; Boreau de Roincé et al., unpublished). Our result that microhabitat, life stage, foraging strategy daily-activity did not explain their predation on *D.plantaginea* support this hypothesis. In terms of biological control, this implies that all spider species potentially contribute to *D.plantaginea* control in early spring. Nevertheless, we found that their predation is size-dependant. This positive correlation between spider predation on *D.plantaginea* and their size was expected considering the link between size, metabolic rates and energetic needs (Brose et al., 2008). Consequently, large spiders which need to consume more prey per unit of time have a greater probability to prey on *D.plantaginea* than smaller spiders, and thus are likely to have a greater impact on aphid population. The potential of a spider community for *D.plantaginea* control is thus affected by the individual size of spiders in addition to their abundance already reported in Roincé et al (submitted).

In the light of these results, the cumulative size of the spider community gives a good insight on its potential for *D.plantaginea* control in spring. Even though the nine spider communities under study differed in their individual size and abundance, their cumulative size was not clearly explained by the orchard environment. These environmental variables described the habitat diversity and anthropogenic pressure that spiders are known to be influenced by (Nyffeler and Sunderland, 2003; Marko et al., 2009). However, conspecific and intraguild interactions, such as cannibalism and intraguild predation, may also influence the individual size and abundance of spider communities (Wise, 2006 ; Korenko and Pekar, 2010). Indeed, Korenko et al. (2010) has observed a negative relationship between large overwintering spiders consuming the smaller ones in apple orchards. More broadly, cannibalism and intraguild predation are observed as long as spiders display a 2:1 ratio of size (Wise, 2006). Consequently, individual size and abundance could be linked and limited by these conspecific and intraguild interactions independently from environmental drivers. Especially, in the nine organic orchards under study which are perennial agro-ecosystems under reduced anthropogenic disruption, these interactions may have impacted more the spider size and abundance than environmental drivers thus explaining the absence of relationship between the potential of spider communities for *D.plantaginea* control and the environment. Nevertheless, the question that cannibalism and intraguild predation among spiders may dampen trophic cascades has been stressed in previous studies but not solved yet (Finke and Denno, 2004 ; Wise, 2006) and more investigation on the environmental and behavioral factors influencing

the potential of spider communities for *D.plantaginea* control is needed before any conclusions for an effective biological control to be drawn.

Our results may be specific of early spring predation of aphid. Indeed, Wyss (1995) considered web-builder spiders to be an efficient natural enemy of *D.plantaginea* in autumn because alate aphid migrants were trapped in their webs. Moreover, Marc et al. (1997) concluded that given the functional specialization of spiders within the apple tree, more diverse spiders communities should be targeted for the biological control of the different pests attacking apple orchards. Our results demonstrated that species occurrence patterns closely followed the environmental drivers describing the habitat type and diversity. Particularly, most canopy-active spider species were enhanced by the plant diversity in the hedgerows surrounding the orchard. The positive effect of plant diversity in hedgerows on spiders has already been reported in previous studies (Ysnel and Canard, 2000 ; Sackett et al., 2009) and it appears clearly that any canopy-active spider communities would benefit from the presence of complex hedgerows whatever the context. Moreover we were able to distinguish orchards characterized by a woody vegetation type which contrast to the open vegetation type in that it presents a good amount of wood at landscape scale, trees with large canopy and proximity between hedgerows at orchard scale. The spiders that prevail in the woody habitat were nocturnal wandering spiders (Clubionidae, Miturgidae and Anyphaenidae). In contrary, diurnal wandering spiders (Salticidae) were predominant in the open vegetation types and the species diversity of sit-and-wait spiders (Philodromidae, Thomisidae) tended to be greater in this context. Finally, high amount of orchards with intensive pest management at landscape scale was only favorable for salticid spiders probably due to their high dispersal ability for ballooning. These observations support the concept of niche filtering which assumes that coexisting species are more similar, i.e. share more life-history traits than it would be by chance because they are under the same environmental conditions (Zobel, 1997). Indeed, depending on the dominant vegetation type, the spider communities in the present study displayed different functional traits and thus, may have different predation ability. Practically, a better understanding of the functional traits-environment relationship through the process of niche filtering is also necessary to predict the degree of specialization of spider communities, hence predict their impact on target pests.

To conclude, the approach by functional traits at community level made it possible to compare directly different spider communities whatever their taxonomy. This approach has already been used in conservation biological control (Schmitz, 2007, 2008) and appears

relevant for assessing the potential of communities for pest control (Straub et al., 2008). Here, we observed that the potential of spider communities for *D.plantaginea* control in early spring was independent of the taxonomy, and also of the orchard environment. This implies that it might not be possible to find environmental drivers and farming practices that enhance the potential of spider communities for *D.plantaginea* control. When conservation biological control aims to modify the environment or existing practices to protect and enhance specific natural enemies and other organisms to reduce the effect of pests (Eilenberg et al., 2001), these results stress the importance of studying both specie-environment and functional traits-environment relationships at community level for assessing the potential of natural enemies communities in conservation biological control.

Acknowledgements:

This work was funded by CTIFL. C.BDR's PHD was granted by a CIFRE from ANRT. We are thankful to Jean-François Toubon for coordination.

References:

Altieri, M.A., 1999. The ecological role of biodiversity in agroecosystems. Agric. Ecosyst. Environ. 74, 19-31.

Birkhofer, K., Gavish-Regev, E., Endlweber, K., Lubin, Y.D., von Berg, K., Wise, D.H., Scheu, S., 2008. Cursorial spiders retard initial aphid population growth at low densities in winter wheat. Bulletin of Entomological Research 98, 249-255.

Bogya, S., Marko, V., 1999. Effect of pest management systems on ground-dwelling spider assemblages in an apple orchard in Hungary. Agric. Ecosyst. Environ. 73, 7-18.

Bogya, S., Marko, V., Szinetar, C., 1999. Comparison of pome fruit orchard inhabiting spider assemblages at different geographical scales. Agric. For. Entomol. 1, 261-269.

Boreau de Roincé, C., Lavigne, C., Mandrin, J.F., Rollard, C., Symondson, W.C., unpublished. Early-season predation on aphids by winter-active spiders in apple orchards revealed by diagnostic PCR.

Boreau de Roincé, C., Lavigne, C., Ricard, J.M., Franck, P., Bouvier, J.C., Garcin, A., Symondson, W.C., in press. Predation by generalist predators on the codling moth vs. a closely related emerging pest the oriental fruit moth: a molecular analysis. Agric. For. Entomol.

Brose, U., Ehnes, R.B., Rall, B.C., Vucic-Pestic, O., Berlow, E.L., Scheu, S., 2008. Foraging theory predicts predator-prey energy fluxes. Journal of Animal Ecology 77, 1072-1078.

Casula, P., Wilby, A., Thomas, M.B., 2006. Understanding biodiversity effects on prey in multi-enemy systems. Ecol. Lett. 9, 995-1004.

Debras, J.F., Senoussi, R., Rieux, R., Buisson, E., Dutoit, T., 2008. Spatial distribution of an arthropod community in a pear orchard (southern France) - Identification of a hedge effect. Agric. Ecosyst. Environ. 127, 166-176.

Debras, J.F., Torre, F., Rieux, R., Kreiter, S., Garcin, M.S., Van Helden, M., Buisson, E., Dutoit, T., 2006. Discrimination between agricultural management and the hedge effect in pear orchards (south-eastern France). Annals of Applied Biology 149, 347-355.

Dib, H., Simon, S., Sauphanor, B., Capowiez, Y., 2010. The role of natural enemies on the population dynamics of the rosy apple aphid, *Dysaphis plantaginea* Passerini (Hemiptera: Aphididae) in organic apple orchards in south-eastern France. Biological Control 55, 97-109.

Duelli, P., 1997. Biodiversity evaluation in agricultural landscapes: An approach at two different scales. Agric. Ecosyst. Environ. 62, 81-91.

Eilenberg, J., Hajek, A., Lomer, C., 2001. Suggestions for unifying the terminology in biological control. Biocontrol 46, 387-400.

Finke, D.L., Denno, R.F., 2004. Predator diversity dampens trophic cascades. Nature 429, 407-410.

Herrmann, J.D., Bailey, D., Hofer, G., Herzog, F., Schmidt-Entling, M.H., 2010. Spiders associated with the meadow and tree canopies of orchards respond differently to habitat fragmentation. Landsc. Ecol. 25, 1375-1384.

Hibbert, A.C., Buddle, C.M., 2008. Assessing the dispersal of spiders within agricultural fields and an adjacent mature forest. Journal of Arachnology 36, 195-198.

Kehrli, P., Wyss, E., 2001. Effects of augmentative releases of the coccinellid, Adalia bipunctata, and of insecticide treatments in autumn on the spring population of aphids of the genus Dysaphis in apple orchards. Entomologia Experimentalis Et Applicata 99, 245-252.

Korenko, S., Pekar, S., 2010. Is there intraguild predation between winter-active spiders (Araneae) on apple tree bark? Biological Control 54, 206-212.

Korenko, S., Pekar, S., Honek, A., 2010. Predation activity of two winter-active spiders (Araneae: Anyphaenidae, Philodromidae). J. Therm. Biol. 35, 112-116.

Kuusk, A.K., Cassel-Lundhagen, A., Kvarnheden, A., Ekbom, B., 2008. Tracking aphid predation by lycosid spiders in spring-sown cereals using PCR-based gut-content analysis. Basic and Applied Ecology 9, 718-725.

Marc, P., Canard, A., 1997. Maintaining spider biodiversity in agroecosystems as a tool in pest control. Agric. Ecosyst. Environ. 62, 229-235.

Marc, P., Canard, A., Ysnel, F., 1999. Spiders (Araneae) useful for pest limitation and bioindication. Agric. Ecosyst. Environ. 74, 229-273.

Marko, V., Keresztes, B., Fountain, M.T., Cross, J.V., 2009. Prey availability, pesticides and the abundance of orchard spider communities. Biological Control 48, 115-124.

Miliczky, E.R., Horton, D.R., Calkins, C.O., 2008. Observations on phenology and overwintering of spiders associated with apple and pear orchards in south-central Washington. Journal of Arachnology 36, 565-573.

Minarro, M., Hemptinne, J.L., Dapena, E., 2005. Colonization of apple orchards by predators of *Dysaphis plantaginea*: sequential arrival, response to prey abundance and consequences for biological control. Biocontrol 50, 403-414.

Mizell, R.F., Schiffhauer, D.E., 1987. Trunk traps and overwintering predators in pecan orchards- Survey of species and emergence times. Florida Entomologist 70, 238-244.

Monzo, C., Sabater-Munoz, B., Urbaneja, A., Castanera, P., 2010. Tracking medfly predation by the wolf spider, Pardosa cribata Simon, in citrus orchards using PCR-based gut-content analysis. Bulletin of Entomological Research 100, 145-152.

Mouchet, M.A., Villeger, S., Mason, N.W.H., Mouillot, D., 2010. Functional diversity measures: an overview of their redundancy and their ability to discriminate community assembly rules. Functional Ecology 24, 867-876.

Nyffeler, M., Sunderland, K.D., 2003. Composition, abundance and pest control potential of spider communities in agroecosystems: a comparison of European and US studies. Agric. Ecosyst. Environ. 95, 579-612.

Pekar, S., Kocourek, F., 2004. Spiders (Araneae) in the biological and integrated pest management of apple in the Czech Republic. J. Appl. Entomol. 128, 561-566.

Petchey, O.L., Gaston, K.J., 2006. Functional diversity: back to basics and looking forward. Ecol. Lett. 9, 741-758.

Prieto-Benitez, S., Mendez, M., 2011. Effects of land management on the abundance and richness of spiders (Araneae): A meta-analysis. Biological Conservation 144, 683-691.

R Development Core Team, 2010. R: a Language and Environment for Statistical Computing., Vienna, Austria. R Foundation for Statistical Computing: 3-900051-07-0. http://www.r-project.org.

Riechert, S.E., Lockley, T., 1984. Spiders as biological control agents. Annual Review of Entomology 29, 299-320.

Roberts, M.J., 1996. Spiders of Britain and Nothern Europe. HarperCollins, London, UK.

Roincé, C.B.d., Lavigne, C., Mandrin, J.F., Rollard, C., Symondson, W.C., submitted. Early-season predation on aphids by winter-active spiders in apple orchards revealed by diagnostic PCR. Basic and Applied Ecology.

Sackett, T.E., Buddle, C.M., Vincentb, C., 2009. Dynamics of spider colonization of apple orchards from adjacent deciduous forest. Agric. Ecosyst. Environ. 129, 144-148.

Samu, F., Sunderland, K.D., Szinetar, C., 1999. Scale-dependent dispersal and distribution patterns of spiders in agricultural systems: A review. Journal of Arachnology 27, 325-332.

Schmitz, O.J., 2007. Predator diversity and trophic interactions. Ecology 88, 2415-2426.

Schmitz, O.J., 2008. Effects of predator hunting mode on grassland ecosystem function. Science 319, 952-954.

Simon, S., Bouvier, J.C., Debras, J.F., Sauphanor, B., 2009. Biodiversity and pest management in orchard systems. A review. Agronomy for Sustainable Development, 1-14.

Simon, S., Defrance, H., Sauphanor, B., 2007. Effect of codling moth management on orchard arthropods. Agric. Ecosyst. Environ. 122, 340-348.

Straub, C.S., Finke, D.L., Snyder, W.E., 2008. Are the conservation of natural enemy biodiversity and biological control compatible goals? Biological Control 45, 225-237.

Tscharntke, T., Bommarco, R., Clough, Y., Crist, T.O., Kleijn, D., Rand, T.A., Tylianakis, J.M., van Nouhuys, S., Vidal, S., 2007. Conservation biological control and enemy diversity on a landscape scale. Biological Control 43, 294-309.

Wise, D.H., 2006. Cannibalism, food limitation, intraspecific competition and the regulation of spider populations. Annual Review of Entomology 51, 441-465.

Wyss, E., 1995. The effects of weed strips on aphids and aphidophagous predators in an apple orchard. Entomologia Experimentalis Et Applicata 75, 43-49.

Wyss, E., Niggli, U., Nentwig, W., 1995. The impacts of spiders on aphid populations in a strip-managed apple orchard. J. Appl. Entomol.-Z. Angew. Entomol. 119, 473-478.

Wyss, E., Villiger, M., Hemptinne, J.L., Muller-Scharer, H., 1999. Effects of augmentative releases of eggs and larvae of the ladybird beetle, *Adalia bipunctata*, on the abundance of the rosy apple aphid, *Dysaphis plantaginea*, in organic apple orchards. Entomologia Experimentalis et Applicata 90, 167-173.

Ysnel, F., Canard, A., 2000. Spider biodiversity in connection with the vegetation structure and the foliage orientation of hedges. Journal of Arachnology 28, 107-114.

Zobel, M., 1997. The relative role of species pools in determining plant species richness. An alternative explanation of species coexistence? Trends in Ecology & Evolution 12, 266-269.

Table 1: Description of the environmental variables at landscape and orchard level.

Variable	Description
intens	Percentage of surface covered by orchards in intensive agriculture within a 50-meter buffer around the orchard
hedge	Percentage of surface covered by hedgerows within a 50-meter buffer around the orchard
wood	Percentage of surface covered by wood within a 50-meter buffer around the orchard
hedgdiv	Shannon index of the plant diversity present in the hedgerows surrounding the orchard
surface	Surface of the orchard
shape	Perimeter to square root of area ratio
canopy	Half width of the tree canopy

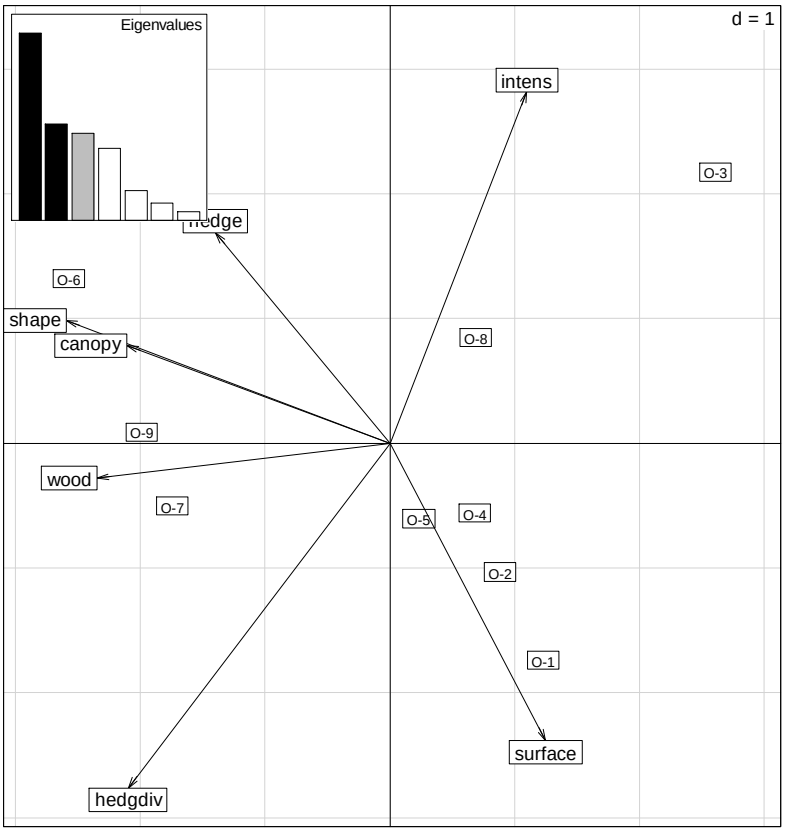
Table 2: Table of the spider functional traits and macro-habitat.

			Size	Stade	Foraging	Daily activity	microhabitat	macrohabitat
Agelenidae	*Agelena labyrinthica*	Clerck	9	immature	irregular web	day & night	foliage	low vegetation & bush
Anyphaenidae	*Anyphaena accuentata*	Walckenaer	6	immature	hunt	night	foliage	bush and tree
Araneidae	*Araniella curcubitina*	Clerck	4	juvenile	orbital web	day & night	ubiquitous	grass, bush and tree
	Nuctenea umbratica	Clerck	11	immature	orbital web	night	trunc	under bark & dead wood
Clubionidae	*Clubiona comta*	Koch	4	mature	hunt	night	foliage	bush and tree
Gnaphosidae	*Aphantaulax trifasciata*	Simon	5	immature	hunt	night	trunc	?
	Zelotes spp.		4	mature	hunt	night	foliage	under detritus and stones in dry habitat
	Scotophaeus spp.		10	immature	hunt	night	trunc	under bark and in holes in walls
Liocranidae	*Phrurolithus festivus*	Koch	3	mature	hunt	night	foliage	under stones and detritus
Miturgidae	*Cheiracanthium mildei*	Cambridge	9	immature	hunt	night	ubiquitous	under bark and stones
Philodromidae	*Philodromus spp.*		5	mature	sit & wait	day	foliage	low vegetation, bush and lower branches of trees
Salticidae	*Ballus Chalybeius*	Walckenaer	4	mature	hunt	day	foliage	broadleaves bush and tree
	Heliophanus auratus	Koch	4	immature	hunt	day	foliage	sparse vegetation, with good exposure to sun

	Pseudoeuophrys lanigera	Simon	4	mature	hunt	day	trunc	dry wall and roof with good exposure to sun
	Sitticus sp.		4	immature	hunt	day	trunc	under bark, stones and in habitations
Tetragnathidae	*Tetragnatha spp.*		8	immature	orbital web	day & night	foliage	low vegetation, bush and tree
Theridiidae	*Anelosimus spp.*		3	mature	irregular web	day & night	foliage	bush and tree
Thomisidae	*Ozyptila spp.*		3.3	immature	sit & wait	day & night	trunc	low vegetation, hedgerows, coniferous woodland
	Xysticus bifasciatus	Koch	8	mature	sit & wait	Day	trunc	grass, under stones with good exposure to sun

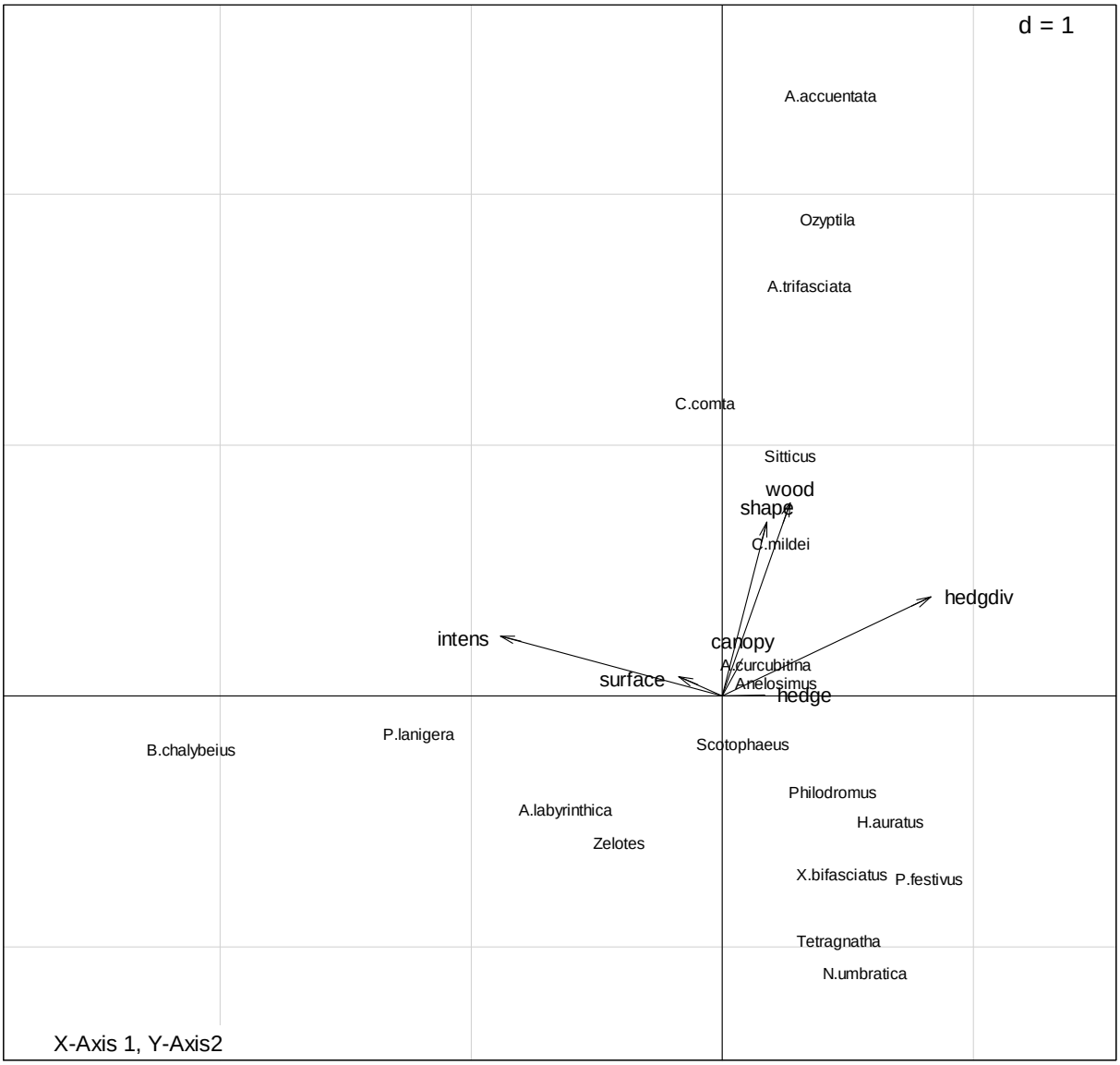
.

Figure 1 : Scatter plot representing the principal component analysis of the nine orchards environment (Axis 1 and 2) and the table of the contribution to the axis of the environmental variables. Contributions over ± 0.4 are in bold.



	Axis 1	Axis 2	Axis 3
intens	0.22	**0.55**	-0.32
hedge	-0.28	0.33	**-0.49**
wood	**-0.46**	-0.05	0.05
hedgdiv	**-0.41**	**-0.54**	-0.2
surface	0.26	**0.47**	-0.51
shape	**-0.51**	0.19	-0.38
canopy	**-0.42**	0.15	**0.46**

Figure 2 : Scatter plot of the canonical correspondance analysis between the spider communities and environment of the nine organic orchards.



Comme cela a souvent été remarqué dans d'autres études (par exemple Schweiger *et al.*, 2005), nos résultats semblent montrer que les effets des habitats semi-naturels diffèrent selon les taxa considérés. Par exemple, les habitats semi-naturels non traités comme la haie et le bois apparaissent comme des éléments structurant les communautés des araignées de la frondaison, certainement à cause de leur role de source d'individus (Debras *et al.*, 2008 ; Sackett *et al.*, 2009). En revanche, la haie ne semble pas favoriser les abondances d'araignées du sol (sauf pour les Thomisidae) et de carabes. Dans une certaine certaine mesure, ces résultats suggèrent que le corridor de certaines espèces (les araignées de la frondaison) est la barrière d'autres espèces (les arthropodes du sol). En effet, il a été montré que la haie offre une continuité de la strate arborée qui permet de faire le lien entre les habitats boisés naturels et les vergers (Herrmann *et al.*, 2010). A l'inverse, la haie fragmente la strate herbacée car elle constitue un milieu fermé plus proche d'un milieu forestier. La haie constitue donc un micro-habitat défavorable aux arthropodes du sol inféodés au couvert herbacé et peut donc représenter une barrière physique à la migration des arthropodes du sol. Les araignées du sol (Hibbert and Buddle, 2008) et les carabes (Lovei and Sunderland, 1996) utilisent principalement la marche comme mode de dispersion. En conséquence ils auront tendance à longer les haies plutôt qu'à les traverser (Frampton *et al.*, 1995 ; Mauremooto *et al.*, 1995). L'impact de la haie sur les communautés d'arthropodes en tant que source d'individus et en tant que corridor biologique doit donc être estimé. En effet selon si elle est corridor ou barrière aux mouvements d'individus dans le paysage, elle peut changer les échelles d'impact des caractéristiques paysagères sur les communautés observées dans le vergers.

Chapitre VI : Conclusions et perspectives

A. Evaluation du potentiel des prédateurs par méthodes moléculaires

1) Un potentiel limité des prédateurs étudiés ?

Le développement de la PCR diagnostique pour l'analyse des contenus stomacaux ou faeces est assez récent et son intérêt pour les chercheurs en lutte biologique par conservation a très vite été reconnu (Symondson, 2002 ; Sheppard and Harwood, 2005). En effet, elle permet de révéler les liens trophiques de manière spécifique quelle que soit l'écologie du prédateur et sans perturber les interactions proie-prédateurs par la mise en place du protocole d'échantillonnage (Symondson, 2002 ; King *et al.*, 2008). C'est le point fort de cette méthode d'étude de la prédation qui apporte une image fidèle des liens trophiques dans le système étudié. Cette technique a donc été essentielle dans le processus d'évaluation des prédateurs ciblés en nous assurant une bonne fiabilité de nos observations.

D'une manière générale, le nombre de prédateurs détectés positifs par les PCR diagnostiques, c'est-à-dire ayant consommé des tordeuses (le carpocapse de la pomme et la tordeuse orientale) et du puceron cendré, est assez faible. En effet, nous avons relevé des pourcentages de prédateurs positifs dépassant rarement les 20%. Cependant doit-on nécessairement en conclure que les prédateurs étudiés ont un potentiel limité de régulation de ces ravageurs ? Je ne discuterai ici que les résultats obtenus pour les prédateurs de type arthropodes dont les résultats sont plus étoffés.

Cas numéro 1 : « OUI, les taux de prédation observés sont faibles car ces prédateurs sont polyphages et ne consomment pas particulièrement le ravageur. »

Le pourcentage de prédateurs positifs représente une mesure semi-quantitative de ravageurs consommés. En effet, lorsqu'un prédateur est testé positif, nous savons qu'il a consommé au moins un ravageur mais il est impossible de savoir s'il en a consommé plus. Cependant, dans le cas des prédateurs arthropodes, il est aisément envisageable que cette mesure soit en réalité quantitative c'est-à-dire que chaque prédateur détecté positif n'ait consommé qu'un seul ravageur. Cette hypothèse est plausible car les carabes et les araignées (sol et frondaison) sont connus pour consommer un faible nombre de proies par jour (Lovei and Sunderland, 1996 ; Nyffeler and Sunderland, 2003) et il est peu probable, étant donné le faible pourcentage de prédateurs positifs, que les quelques individus ayant consommé un ravageur en aient consommé un second. De plus, la

consommation en ravageurs de ces prédateurs semble faiblement marquée par des effets de densité dépendance (effets marginaux dans mes résultats) et la relation apparait comme linéaire, c'est-à-dire de type I (cas de la mortalité doublée du carpocapse de la pomme lorsque l'abondance de carabes est doublée). Cela concorderait avec les observations de Novak (2010) qui a montré que les relations de prédation dans un système multi-prédateurs et multi-proies seraient le plus souvent linéaires dans les gammes d'abondances naturellement rencontrées. En conséquence, les prédateurs que nous avons étudiés ont une consommation limitée et peu connectée à la densité du ravageur. Ainsi, si l'on évalue le potentiel de régulation d'un prédateur au travers de son taux de prédation, nous devons conclure que le potentiel de régulation des prédateurs de cette étude est assez limité. Nos résultats viennent donc abonder dans le sens des études précédentes en vergers de pommiers.

Cas numéro 2 : « NON, les taux de prédation observés ne sont pas faibles car les prédateurs consomment les ravageurs dès leur arrivée sur la parcelle (migration ou émergence) lorsque leurs niveaux de populations sont bas.

Si l'on évalue le potentiel de régulation d'un prédateur par sa capacité à garder plus longtemps la population du ravageur sous un seuil d'abondance, nous pouvons en conclure que ces prédateurs peuvent constituer de bons agents de régulation. Nous avons pu en effet voir dans le chapitre I, que ces prédateurs assurent une sorte de veille immunitaire contre les ravageurs. En effet, ils consomment les ravageurs dès leur arrivée et peuvent ainsi retarder leur explosion démographique en attendant le relais de la réponse spécifique, notamment par les prédateurs spécialistes et les parasitoïdes.

Je reprendrai la conclusion de Snyder et Yves (2003) qui illustre parfaitement mon propos. Il existe deux types d'agents de contrôle. Les premiers ont un effet immédiat sur le ravageur mais leur impact n'évolue pas avec sa densité. Les seconds ont un effet différé sur le ravageur mais leur impact augmente avec sa densité. L'évaluation de l'efficacité de ces deux types d'agents de contrôle ne porte donc pas sur les mêmes critères et mes travaux ont pu montrer que les prédateurs ciblés peuvent être efficaces dans le premier cas de figure. Néanmoins cette conclusion peut être différente dans le cas des prédateurs vertébrés car ils ont de forts besoins énergétiques et donc un grand potentiel de consommation en ravageurs malgré leur polyphagie.

2) Perspectives d'utilisation des PCR diagnostiques

Tout d'abord, d'autres prédateurs peuvent être étudiés par l'analyse de leurs contenus stomacaux par ces PCR diagnostiques. Particulièrement, l'étude de la prédation des œufs de tordeuses par les

forficules et les coccinelles pourrait être envisagée. De plus, ces méthodes moléculaires pourraient être utilisées au cours d'expériences en mésocosmes. En effet, on pourrait suivre la prédation au cours du temps et son impact final sur les populations de ravageurs. Enfin, les amorces de la tordeuse orientale fonctionnent aussi en singleplex. Elles pourraient être utilisées pour étudier la prédation de la tordeuse en verger de fruits à noyaux où elles causent d'importants dégâts.

B. Enseignements sur la lutte biologique par conservation en verger

1) Les conclusions inapplicables des études en système de culture céréalière

La lutte biologique par conservation a principalement été étudiée dans des systèmes de culture céréalière (Letourneau *et al.*, 2009). Or le fonctionnement de ces agro-écosystèmes, hébergeant des réseaux trophiques simples est radicalement différent de celui de notre modèle d'étude, le verger de pommier. En effet, il s'agit d'un milieu pérenne qui présente plusieurs strates de végétation, la strate herbacée pluri-spécifiques et la strate arborée mono-spécifique composée de pommiers. Cette culture se caractérise aussi par un temps de production avant récolte très long car d'au moins 6 mois entre la floraison et la récolte. Les ravageurs de ces cultures doivent donc être régulés au sein d'un réseau complexe d'espèces associées au verger et sur plusieurs saisons. Au cours de ma thèse, j'ai donc pu remarquer que certaines problématiques typiques des agro-écosystèmes céréaliers revêtaient une moindre importance dans un agroécosystème arboricole du fait de la complexité de ses réseaux trophiques. Par exemple, la question du coût/bénéfice à favoriser les proies alternatives pour augmenter l'efficacité de la régulation par les prédateurs généralistes est importante en système céréalier. En effet, les proies alternatives permettent de maintenir les populations de prédateurs polyphages en l'absence de ravageurs (e.g. Agusti *et al.*, 2003). Cependant, alors que le ravageur peut être la principale ressource alimentaire du prédateur, favoriser ces proies alternatives peut perturber considérablement son potentiel de régulation (e.g. Prasad and Snyder, 2006). En revanche, il semble inutile d'étudier le coût à favoriser les proies alternatives en termes de régulation de ravageurs en verger. Du fait de sa structure complexe et pérenne, le verger est forcément riche en proies alternatives et donc il n'est pas envisageable de considérer que le ravageur constitue une part substantielle du régime alimentaire des prédateurs. En effet, comme le suggère la relativement faible consommation de ravageurs, ceux-ci sont « dilués » au sein de l'ensemble des autres proies consommables. Ainsi l'intérêt de favoriser les proies alternatives grâce à des aménagements particuliers sera donc atténué par la complexité du réseau trophique déjà présent

en verger. De même le modèle d'une régulation du ravageur attribuée à un seul prédateur particulièrement efficace et dominant la communauté apparait mieux adapté au modèle céréalier qui ne porte pas une grande diversité de prédateurs. En revanche, le verger présente des communautés riches en prédateurs et donc il semble peu probable qu'un prédateur par effet de sélection (*selection effect*) domine la communauté. Pour conclure, puisqu'il présente des réseaux trophiques complexes, le verger impose une approche globale, multi-proies et multi-prédateurs, plutôt qu'une approche ciblée, une proie et un prédateur, souvent utilisée en milieu céréalier.

2) Indications sur les aménagements fonctionnels en verger

Les aménagements fonctionnels peuvent concerner la strate herbacée, la strate arborée et les structures agro-environnementales entourant les parcelles. Dans le chapitre V, nous avons vu que l'impact des aménagements du verger étaient différents selon les taxa étudiés. Certains taxa semblaient plutôt sensibles à la gestion de l'habitat intra-verger (arthropodes du sol) et d'autres plutôt sensibles à la présence d'habitat semi-naturels à proximité du verger (araignées de la frondaison). J'ai d'ailleurs soulevé en conclusion de ce chapitre, les rôles multiples et parfois contradictoires, de corridors ou de barrières selon les taxons, que la haie pouvait avoir. Il s'agit d'un élément important du verger car à l'instar de la bande enherbée qui constitue l'habitat semi-naturel pour les prédateurs du sol à proximité des champs de céréales, la haie constitue l'habitat semi-naturel pour les prédateurs de la frondaison à proximité du verger.

Les aménagements que l'on a étudiés sont fonctionnels en cela qu'ils permettent d'augmenter la disponibilité en habitats favorables, en ressources alimentaires et d'offrir une protection physique au vent dominant.

Augmentation de la disponibilité en habitats favorables

L'intérêt des nichoirs à oiseaux et des gîtes à chauves-souris est en cours d'évaluation mais ceux qui ont été colonisés par des mésanges (resp. des chauves-souris) l'ont été dès la première année. Cela suggère donc que la zone d'étude est limitée en habitats favorables (cavités) pour ces prédateurs. Il reste néanmoins à comprendre pourquoi certains gîtes n'ont jamais été colonisés par les chauves-souris.

La complexité de la strate herbacée (hauteur et richesse spécifique) semble augmenter la disponibilité des sites favorables pour tisser des toiles en nappe des Lyniphiidae et en microhabitat favorables aux Lycosidae. En revanche, cette gestion extensive du couvert herbacée si elle

correspond à une fermeture du milieu serait défavorable aux carabes. Il semble donc difficile de favoriser à la fois les abondances des araignées du sol et celle des carabes.

Les bandes-piège constituent un refuge en hiver pour les araignées de la frondaison qui habituellement trouvent refuge sous l'écorce des arbres. Or comme les variétés conçues pour les vergers en mur fruitier ont une écorce plus lisse que les variétés traditionnelles (Hagley and Allen, 1988), la disponibilité en refuges hivernaux naturels peut être limitée. Il serait donc intéressant d'étudier l'impact sur les abondances d'araignées de la frondaison de la mise en place de refuges artificiels par exemple sous forme de bandes cartonnées alvéolées.

Augmentation de la disponibilité en ressources alimentaires

La gestion extensive de la strate herbacée laisse la possibilité à la végétation de fleurir ; les fleurs offrent des ressources en pollen et nectar favorables aux prédateurs directement ou indirectement en attirant des proies alternatives qui s'en nourrissent. Comme discuté dans le chapitre V, ce pourrait être une raison expliquant la plus forte abondance de Lycosidae. Par ailleurs, il a été montré que ces ressources en pollen et nectar favorisaient les prédateurs consommateurs de pucerons des pommiers de manière directe pour les syrphes adultes ou indirecte pour certaines araignées de la frondaison consommant des proies ainsi attirées (Wyss, 1995 ; Wyss *et al.*, 1995 ; Wyss, 1996)

Augmentation de la protection physique au vent dominant

Les abondances de Linyphiidae étaient plus fortes lorsque les haies étaient plus hautes, suggérant leur rôle de protection physique contre le vent dominant. Cette effet des haies a aussi été reporté chez les arthropodes de la frondaison (Debras *et al.*, 2008).

3) Implications dans la lutte intégrée contre les ravageurs étudiés

D'une manière générale, la mise en place des aménagements favorables aux prédateurs sont compatibles avec les autres méthodes de lutte intégrée tels que la confusion sexuelle et les passages pour traitements insecticides ciblés.

Il est d'ailleurs intéressant de noter que des évolutions de pratiques culturales en verger de pommiers sont favorables à la lutte biologique par conservation. Premièrement, les systèmes d'arrosage par inondation très consommateurs en eau devraient être remplacés par des systèmes d'arrosage par aspersion. Il est probable que cela profite aux arthropodes du sol qui sont noyés par les inondations, surtout si le couvert herbacé est coupé court. Deuxièmement, les variétés sélectionnées pour la production en mur fruitier présentent des écorces plus lisses qu'auparavant. Comme discuté dans le paragraphe précédent, cela diminue la disponibilité en refuge pour les

arthropodes de la frondaison notamment pour les araignées mais aussi pour les larves diapausantes de carpocapse de la pomme et de tordeuse orientale. En conséquence, ces larves auront tendance à chercher un site de diapause au sol et seront donc plus vulnérables à la prédation par les arthropodes du sol.

Par ailleurs, l'utilisation des filets alt'carpo dans la lutte contre le carpocapse offre des résultats prometteurs de protection contre ce ravageur. Cependant, il serait nécessaire d'évaluer les conséquences de la pose de ces filets sur les communautés de ravageurs et de prédateurs. D'une part ces filets peuvent modifier le microclimat sous la canopée des arbres et donc le développement des ravageurs et des prédateurs. D'autre part, ils peuvent entraver les mouvements des prédateurs dans le verger et avec les structures agro-environnementales environnantes. Sur les arthropodes prédateurs, des études sont actuellement en cours.

C. Quelques pistes de recherche

Cette thèse manque du recul nécessaire pour conclure définitivement sur l'intérêt des prédateurs généralistes dans la lutte biologique par conservation en verger de pommiers ainsi que de la fonctionnalité des aménagements. En effet, les suivis ont été initiés en même temps que la thèse, et donc mes résultats n'ont porté que sur un ou deux ans de données. Or comme j'ai pu le souligner tout au long de ce manuscrit, seuls des travaux se basant sur des suivis des dynamiques des prédateurs et des proies à long terme permettraient de caractériser clairement l'impact des aménagements du verger et du paysage sur la régulation des ravageurs. Ces suivis de dynamiques des populations profiteraient de l'étude de la prédation par PCR diagnostique. De plus, il serait intéressant de pouvoir augmenter le nombre de vergers étudiés dans le même bassin de production et dans d'autres conditions pédo-climatiques.

Références

Agusti, N., De Vicente, M.C., Gabarra, R., 1999. Development of sequence amplified characterized region (SCAR) markers of Helicoverpa armigera: a new polymerase chain reaction-based technique for predator gut analysis. Molecular Ecology 8, 1467-1474.

Agusti, N., Shayler, S.P., Harwood, J.D., Vaughan, I.P., Sunderland, K.D., Symondson, W.O.C., 2003. Collembola as alternative prey sustaining spiders in arable ecosystems: prey detection within predators using molecular markers. Molecular Ecology 12, 3467-3475.

Altieri, M.A., 1999. The ecological role of biodiversity in agroecosystems. Agric. Ecosyst. Environ. 74, 19-31.

Aquilino, K.M., Cardinale, B.J., Ives, A.R., 2005. Reciprocal effects of host plant and natural enemy diversity on herbivore suppression: an empirical study of a model tritrophic system. Oikos 108, 275-282.

Aubertot, J.N., Barbier, J.M., Carpentier, A., Gril, J.J., Guichard, L., Lucas, P., Savary, S., Savini, I., Voltz, M., (éditeurs), 2005. Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et limiter leurs impacts environnementaux. Rapport d'Expertise scientifique collective. INRA et Cemagref France.

Audemard, H., 1987. Lutte biologique et intégrée en vergers de pommiers, poiriers et abricotiers. Biocontrol 32, 59-71.

Baars, M.A., 1979. Catches in pitfall traps in relation to mean densities of carabid beetles. Oecologia 41, 25-46.

Barnes, M.M., 1991. Codling moth occurrence, host race formation, and damage. In: van der Geest, L.P.S., Evenhuis, H.H. (Eds.), Tortricid Pests, Their Biology, Natural Enemies and Control. Elsevier, Amsterdam, pp. 313–327.

Bengtsson, J., Ahnstrom, J., Weibull, A.C., 2005. The effects of organic agriculture on biodiversity and abundance: a meta-analysis. Journal of Applied Ecology 42, 261-269.

Bianchi, F., Booij, C.J.H., Tscharntke, T., 2006. Sustainable pest regulation in agricultural landscapes: a review on landscape composition, biodiversity and natural pest control. Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences 273, 1715-1727.

Birkhofer, K., Gavish-Regev, E., Endlweber, K., Lubin, Y.D., von Berg, K., Wise, D.H., Scheu, S., 2008. Cursorial spiders retard initial aphid population growth at low densities in winter wheat. Bulletin of Entomological Research 98, 249-255.

Bogya, S., Marko, V., 1999. Effect of pest management systems on ground-dwelling spider assemblages in an apple orchard in Hungary. Agric. Ecosyst. Environ. 73, 7-18.

Bogya, S., Marko, V., Szinetar, C., 1999. Comparison of pome fruit orchard inhabiting spider assemblages at different geographical scales. Agric. For. Entomol. 1, 261-269.

Bonacci, T., Massolo, A., Brandmayr, P., Brandmayr, T.Z., 2006. Predatory behaviour on ground beetles (Coleoptera : Carabidae) by Ocypus olens (Muller) (Coleoptera : Staphylinidae) under laboratory conditions. Entomol. News 117, 545-551.

Boutin, S., 2001. Analyse de la gestion des interventions phytosanitaires et de leurs effets non intentionnels en verger de pommiers. Mémoire de DAA Protection des plantes et Environenement, INA-PG, ENSAM, ENSAR.

Brown, M.W., 2004. Role of aphid predator guild in controlling spirea aphid populations on apple in West Virginia, USA. Biological Control 29, 189-198.

Brown, M.W., 2011. Importance of early arrival of adult *Harmonia axyridis* for control of *Aphis spiraecola* on apple. Biocontrol 56, 65-69.

Burles, D.W., Brigham, M., Ring, R.A., Reimchen, T.E., 2008. Diet of two insectivorous bats, Myotis lucifugus and Myotis keenii, in relation to arthropod abundance in a temperate Pacific Northwest rainforest environment. Can. J. Zool.-Rev. Can. Zool. 86, 1367-1375.

Cardinale, B.J., Harvey, C.T., Gross, K., Ives, A.R., 2003. Biodiversity and biocontrol: emergent impacts of a multi-enemy assemblage on pest suppression and crop yield in an agroecosystem. Ecol. Lett. 6, 857-865.

Cardinale, B.J., Srivastava, D.S., Duffy, J.E., Wright, J.P., Downing, A.L., Sankaran, M., Jouseau, C., 2006. Effects of biodiversity on the functioning of trophic groups and ecosystems. Nature 443, 989-992.

Cassel-Lundhagen, A., Öberg, S., Högfeldt, C., Ekbom, B., 2009. Species-specific primers for predation studies of the pollen beetle, *Meligethes aeneus* (Coleoptera, Nitidulidae). Molecular Ecology Resources.

Casula, P., Wilby, A., Thomas, M.B., 2006. Understanding biodiversity effects on prey in multi-enemy systems. Ecol. Lett. 9, 995-1004.

Causse, R., 1976. Etude de la localisation et de la mortalité hivernale des larves de *Laspeyresia pomonella* L. (Lepidoptera, Tortricidae) en vergers modernes de pommiers de la basse vallée du Rhone. Annales de zoologie et écologie animale 8, 83-101.

Chang, G.C., Kareiva, P., 1999. The case for indigenous generalists in biological control. In: Hawkins, B., Cornell, H. (Eds.), Theoretical Approaches to biological control. Cambridge University Press, Cambridge, UK., pp. 103-115.

Chaplin-Kramer, R., O'Rourke, M.E., Blitzer, E.J., Kremen, C., 2011. A meta-analysis of crop pest and natural enemy response to landscape complexity. Ecol. Lett. 14, 922-932.

Clare, E.L., Fraser, E.E., Braid, H.E., Fenton, M.B., Hebert, P.D.N., 2009. Species on the menu of a generalist predator, the eastern red bat (Lasiurus borealis): using a molecular approach to detect arthropod prey. Molecular Ecology 18, 2532-2542.

Clough, Y., Kruess, A., Kleijn, D., Tscharntke, T., 2005. Spider diversity in cereal fields: comparing factors at local, landscape and regional scales. Journal of Biogeography 32, 2007-2014.

Cornic, J.F., 1978. Etude du régime alimentaire de trois espèces de carabiques et de ses variations en verger de pommiers. Annales de la Société Entomologique de France 9, 69-87.

Coupard, H., Ricaud, E., 2006. La tavelure s'attaque au verger provençal. Réussir fruits & légumes 252, 28-30.

Crowder, D.W., Northfield, T.D., Strand, M.R., Snyder, W.E., 2010. Organic agriculture promotes evenness and natural pest control. Nature 466, 109-U123.

Cuthbertson, A.G.S., Fleming, C.C., Murchie, A.K., 2003. Detection of Rhopalosiphum insertum (apple-grass aphid) predation by the predatory mite Anystis baccarum using molecular gut analysis. Agric. For. Entomol. 5, 219-225.

Davey, J.S., 2010. Intraguild predation among generalist predators in winter wheat. Cardiff university, UK.

Deagle, B.E., Kirkwood, R., Jarman, S.N., 2009. Analysis of Australian fur seal diet by pyrosequencing prey DNA in faeces. Molecular Ecology 18, 2022-2038.

Deberardinis, E., Baronio, P., Baumgartner, J., 1994. The effect of aphid (*Dysaphis plantaginea* Pass, Hom, Aphididae) feeding on apple fruit growth. Ecological Modelling 72, 115-127.

Debras, J.F., Senoussi, R., Rieux, R., Buisson, E., Dutoit, T., 2008. Spatial distribution of an arthropod community in a pear orchard (southern France) - Identification of a hedge effect. Agric. Ecosyst. Environ. 127, 166-176.

Debras, J.F., Torre, F., Rieux, R., Kreiter, S., Garcin, M.S., Van Helden, M., Buisson, E., Dutoit, T., 2006. Discrimination between agricultural management and the hedge effect in pear orchards (south-eastern France). Annals of Applied Biology 149, 347-355.

Denholm, I., Devine, G.J., Williamson, M.S., 2002. Evolutionary genetics - Insecticide resistance on the move. Science 297, 2222-2223.

Dib, H., Jamont, M., Sauphanor, B., Capowiez, Y., 2011. Predation potency and intraguild interactions between generalist (Forficula auricularia) and specialist (Episyrphus balteatus) predators of the rosy apple aphid (Dysaphis plantaginea). Biological Control In Press, Accepted Manuscript.

Dib, H., Simon, S., Sauphanor, B., Capowiez, Y., 2010. The role of natural enemies on the population dynamics of the rosy apple aphid, *Dysaphis plantaginea* Passerini (Hemiptera: Aphididae) in organic apple orchards in south-eastern France. Biological Control 55, 97-109.

Doring, T.F., Kromp, B., 2003. Which carabid species benefit from organic agriculture? - a review of comparative studies in winter cereals from Germany and Switzerland. Agric. Ecosyst. Environ. 98, 153-161.

Duelli, P., 1997. Biodiversity evaluation in agricultural landscapes: An approach at two different scales. Agric. Ecosyst. Environ. 62, 81-91.

Eilenberg, J., Hajek, A., Lomer, C., 2001. Suggestions for unifying the terminology in biological control. Biocontrol 46, 387-400.

Eitzinger, B., Traugott, M., 2011. Which prey sustains cold-adapted invertebrate generalist predators in arable land? Examining prey choices by molecular gut-content analysis. Journal of Applied Ecology 48, 591-599.

Entling, W., Schmidt, M., Bacher, S., Brandl, R., Nentwig, W., 2007. Niche properties of Central European spiders: shading, moisture and the evolution of the habitat niche. Glob. Ecol. Biogeogr., 440-448.

Epstein, D.L., Zack, R.S., Brunner, J.F., Gut, L., Brown, J.J., 2001. Ground beetle activity in apple orchards under reduced pesticide management regimes. Biological Control 21, 97-104.

Erbilgin, N., Dahlsten, D.L., Chen, P.Y., 2004. Intraguild interactions between generalist predators and an introduced parasitold of Glycaspis brimblecombei (Homoptera : Psylloidea). Biological Control 31, 329-337.

Eskelson, M.J., Chapman, E.G., Archbold, D.D., Obrycki, J.J., Harwood, J.D., 2011. Molecular identification of predation by carabid beetles on exotic and native slugs in a strawberry agroecosystem. Biological Control 56, 245-253.

Fiedler, A.K., Landis, D.A., Wratten, S.D., 2008. Maximizing ecosystem services from conservation biological control: The role of habitat management. Biological Control 45, 254-271.

Finke, D.L., Denno, R.F., 2004. Predator diversity dampens trophic cascades. Nature 429, 407-410.

Finke, D.L., Snyder, W.E., 2010. Conserving the benefits of predator biodiversity. Biological Conservation 143, 2260-2269.

Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., Vrijenhoek, R., 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Molecular Marine Biology and Biotechnology 3, 294-299.

Foltan, P., Sheppard, S., Konvicka, M., Symondson, W.O.C., 2005. The significance of facultative scavenging in generalist predator nutrition: detecting decayed prey in the guts of predators using PCR. Molecular Ecology 14, 4147-4158.

Frampton, G.K., Cilgi, T., Fry, G.L.A., Wratten, S.D., 1995. Effects of grassy banks on the dispersal of some carabids beetles (Coleoptera, Carabidae) on farmland. Biological Conservation 71, 347-355.

Franck, P., Guerin, B., Loiseau, A., Sauphanor, B., 2005. Isolation and characterization of microsatellite loci in the codling moth *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera, Tortricidae). Molecular Ecology Notes 5, 99-102.

Franck, P., Reyes, M., Olivares, J., Sauphanor, B., 2007. Genetic architecture in codling moth populations: comparison between microsatellite and insecticide resistance markers. Molecular Ecology 16, 3554-3564.

Frank, T., Nentwig, W., 1995. Ground-dwelling spiders araneae in sown weed strips and adjacent fields. Acta Oecol.-Int. J. Ecol., 179-193.

Fréchette, B., Cormier, D., Chouinard, G., Vanoosthuyse, F., Lucas, E., 2008. Apple aphid, *Aphis spp.* (Hemiptera : Aphididae), and predator populations in an apple orchard at the non-bearing stage: The impact of ground cover and cultivar. European Journal of Entomology 105, 521-529.

Funayama, K., 2011. Influence of pest control pressure on occurrence of ground beetles (Coleoptera: Carabidae) in apple orchards. Appl. Entomol. Zoolog. 46, 103-110.

Garcin, A., Darthout, L., Lochard, G., 2008. Les carabes en verger de pommier : des auxiliaires à préserver. Ctifl-infos 244, 31-35.

Garcin, A., Demarle, O., Soldati, F., 2004. Les Carabes, indicateurs de biodiversité et auxiliaires généralistes. Ctifl-infos 199, 42-47.

Gavish-Regev, E., Rotkopf, R., Lubin, Y., Coll, M., 2009. Consumption of aphids by spiders and the effect of additional prey: evidence from microcosm experiments. Biocontrol 54, 341-350.

Geiger, F., Bengtsson, J., Berendse, F., Weisser, W.W., Emmerson, M., Morales, M.B., Ceryngier, P., Liira, J., Tscharntke, T., Winqvist, C., Eggers, S., Bommarco, R., Part, T., Bretagnolle, V., Plantegenest, M., Clement, L.W., Dennis, C., Palmer, C., Onate, J.J., Guerrero, I., Hawro, V., Aavik, T., Thies, C., Flohre, A., Hanke, S., Fischer, C., Goedhart, P.W., Inchausti, P., 2010. Persistent negative effects of pesticides on biodiversity and biological control potential on European farmland. Basic and Applied Ecology 11, 97-105.

Glen, D.M., 1977. Predation of codling moth eggs, *Cydia pomonella*, predators responsible and their alternatie prey. Journal of Applied Ecology 14, 445-456.

Glen, D.M., Milsom, N.F., 1978. Survival of mature codling larvae in relation to predation by birds and beetles. Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt fur Land- und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem, 97-99.

Gliessman, S.R., 2006. Agroecology: The Ecology of Sustainable Food Systems,second edition.

Greenstone, M.H., 1999. Spider predation: How and why we study it. Journal of Arachnology 27, 333-342.

Greenstone, M.H., Szendrei, Z., Payton, M.E., Rowley, D.L., Coudron, T.C., Weber, D.C., 2010. Choosing natural enemies for conservation biological control: use of the prey detectability half-life to rank key predators of Colorado potato beetle. Entomologia Experimentalis Et Applicata 136, 97-107.

Griffiths, G.J.K., Wilby, A., Crawley, M.J., Thomas, M.B., 2008. Density-dependant effects of predator species-richness in diversity-function studies. Ecology 89, 2986-2993.

Gutierrez, A.P., Daane, K.M., Ponti, L., Walton, V.M., Ellis, C.K., 2008. Prospective evaluation of the biological control of vine mealybug: refuge effects and climate. Journal of Applied Ecology 45, 524-536.

Hackermann, J., Rott, A.S., Dorn, S., 2008. Consequences of mixed species infestation on the searching behavior and parasitism success of a larval parasitoid. Biocontrol 53, 725-736.

Hagley, E.A.C., Allen, W.R., 1988. Ground beetles (Coleoptera: Carabidae) as predators of the codling moth, *Cydia pomonella* (L) (Lepidoptera: tortricidae). Can. Entomol. 120, 917-925.

Harwood, J.D., Desneux, N., Yoo, H.J.S., Rowley, D.L., Greenstone, M.H., Obrycki, J.J., O'Neil, R.J., 2007. Tracking the role of alternative prey in soybean aphid predation by *Orius insidiosus*: a molecular approach. Molecular Ecology 16, 4390-4400.

Harwood, J.D., Obrycki, J.J., 2005. Quantifying aphid predation rates of generalist predators in the field. European Journal of Entomology 102, 335-350.

Harwood, J.D., Sunderland, K.D., Symondson, W.O.C., 2004. Prey selection by linyphiid spiders: molecular tracking of the effects of alternative prey on rates of aphid consumption in the field. Molecular Ecology 13, 3549-3560.

Hendrickx, F., Maelfait, J.P., Van Wingerden, W., Schweiger, O., Speelmans, M., Aviron, S., Augenstein, I., Billeter, R., Bailey, D., Bukacek, R., Burel, F., Diekotter, T., Dirksen, J., Herzog, F., Liira, J., Roubalova, M., Vandomme, V., Bugter, R., 2007. How landscape structure, land-use intensity and habitat diversity affect components of total arthropod diversity in agricultural landscapes. Journal of Applied Ecology 44, 340-351.

Herrmann, J.D., Bailey, D., Hofer, G., Herzog, F., Schmidt-Entling, M.H., 2010. Spiders associated with the meadow and tree canopies of orchards respond differently to habitat fragmentation. Landsc. Ecol. 25, 1375-1384.

Hibbert, A.C., Buddle, C.M., 2008. Assessing the dispersal of spiders within agricultural fields and an adjacent mature forest. Journal of Arachnology 36, 195-198.

Hole, D.G., Perkins, A.J., Wilson, J.D., Alexander, I.H., Grice, F., Evans, A.D., 2005. Does organic farming benefit biodiversity? Biological Conservation 122, 113-130.

Hoogendoorn, M., Heimpel, G.E., 2001. PCR-based gut content analysis of insect predators: using ribosomal ITS-1 fragments from prey to estimate predation frequency. Molecular Ecology 10, 2059-2067.

Ingerson-Mahar, J., 2002. Relating diet and morphology in adult carabid beetles. In: Holland, J. (Ed.), The Agroecology of Carabid Beetles Intercept, Andover, UK., pp. 111-136.

Ivaldi-Sender, C., 1974. A simple technique for the permanent rearing of the oriental fruit moth, *Grapholita molesta* (Lepidoptera Tortricidae) on an artificial medium. Techniques simples pour un elevage permanent de la tordeuse orientale, *Grapholita molesta* (Lepidoptera Tortricidae) sur milieu artificiel. Annales de Zoologie, Ecologie Animale 6, 337-343.

Jarman, S.N., Deagle, B.E., Gales, N.J., 2004. Group-specific polymerase chain reaction for DNA-based analysis of species diversity and identity in dietary samples. Molecular Ecology 13, 1313-1322.

Jeannel, R., 1941. Coléoptères Carabiques. . Faune de France. Librairie de la Faculté des Sciences, Paris, France.

Jonsson, M., Wratten, S.D., Landis, D.A., Gurr, G.M., 2008. Recent advances in conservation biological control of arthropods by arthropods. Biological Control 45, 172-175.

Jumean, Z., Jones, E., Gries, G., 2009. Does aggregation behavior of codling moth larvae, *Cydia pomonella*, increase the risk of parasitism by *Mastrus ridibundus*? Biological Control 49, 254-258.

Kehrli, P., Wyss, E., 2001. Effects of augmentative releases of the coccinellid, Adalia bipunctata, and of insecticide treatments in autumn on the spring population of aphids of the genus Dysaphis in apple orchards. Entomologia Experimentalis Et Applicata 99, 245-252.

Kimberling, D.N., 2004. Lessons from history: predicting successes and risks of intentional introductions for arthropod biological control. Biol. Invasions 6, 301-318.

King, R.A., Read, D.S., Traugott, M., Symondson, W.O.C., 2008. Molecular analysis of predation: a review of best practice for DNA-based approaches. Molecular Ecology 17, 947-963.

King, R.A., Vaughan, I.P., Bell, J.R., Bohan, D.A., Symondson, W.O.C., 2010. Prey choice by carabid beetles feeding on an earthworm community analysed using species- and lineage-specific PCR primers. Molecular Ecology 19, 1721-1732.

Kleijn, D., Baquero, R.A., Clough, Y., Diaz, M., De Esteban, J., Fernandez, F., Gabriel, D., Herzog, F., Holzschuh, A., Johl, R., Knop, E., Kruess, A., Marshall, E.J.P., Steffan-Dewenter, I., Tscharntke, T., Verhulst, J., West, T.M., Yela, J.L., 2006. Mixed biodiversity benefits of agri-environment schemes in five European countries. Ecol. Lett. 9, 243-254.

Knight, A.L., Light, D.M., 2005. Seasonal flight patterns of codling moth (Lepidoptera : Tortricidae) monitored with pear ester and codlemone-baited traps in sex pheromone-treated apple orchards. Environmental Entomology 34, 1028-1035.

Koss, A.M., Snyder, W.E., 2005. Alternative prey disrupt biocontrol by a guild of generalist predators. Biological Control 32, 243-251.

Krebs, J.R., Wilson, J.D., Bradbury, R.B., Siriwardena, G.M., 1999. The second silent spring? Nature 400, 611-612.

Kromp, B., 1999. Carabid beetles in sustainable agriculture: a review on pest control efficacy, cultivation impacts and enhancement. Agric. Ecosyst. Environ. 74, 187-228.

Kuusk, A.K., Cassel-Lundhagen, A., Kvarnheden, A., Ekbom, B., 2008. Tracking aphid predation by lycosid spiders in spring-sown cereals using PCR-based gut-content analysis. Basic and Applied Ecology 9, 718-725.

Kuusk, A.K., Ekbom, B., 2010. Lycosid spiders and alternative food: Feeding behavior and implications for biological control. Biological Control 55, 20-26.

Labrie, G., Prince, C., Bergeron, J.M., 2003. Abundance and developmental stability of Pterostichus melanarius (Coleoptera : Carabidae) in organic and integrated pest management orchards of Quebec, Canada. Environmental Entomology 32, 123-132.

Lacey, L.A., Shapiro-Ilan, D.I., 2008. Microbial control of insect pests in temperate orchard systems: Potential for incorporation into IPM. Annual Review of Entomology 53, 121-144.

Landis, D.A., Wratten, S.D., Gurr, G.M., 2000. Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. Annual Review of Entomology 45, 175-201.

Landry, B., Powell, J.A., Sperling, F.A.H., 1999. Systematics of the *Argyrotaenia franciscana* (Lepidoptera : Tortricidae) species group: Evidence from mitochondrial DNA. Annals of the Entomological Society of America 92, 40-46.

Letourneau, D.K., Bothwell, S.G., 2008. Comparison of organic and conventional farms: challenging ecologists to make biodiversity functional. Front. Ecol. Environ. 6, 430-438.

Letourneau, D.K., Jedlicka, J.A., Bothwell, S.G., Moreno, C.R., 2009. Effects of Natural Enemy Biodiversity on the Suppression of Arthropod Herbivores in Terrestrial Ecosystems. Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst. 40, 573-592.

Lloyd, D.C., 1960. Significance of the type of host plant crop in successful biological control of insect pests. Nature 187, 430-431.

Loreau, M., Hector, A., 2001. Partitioning selection and complementarity in biodiversity experiments (vol 412, pg 72, 2001). Nature 413, 548-548.

Loreau, M., Naeem, S., Inchausti, P., Bengtsson, J., Grime, J.P., Hector, A., Hooper, D.U., Huston, M.A., Raffaelli, D., Schmid, B., Tilman, D., Wardle, D.A., 2001. Ecology - Biodiversity and ecosystem functioning: Current knowledge and future challenges. Science 294, 804-808.

Losey, J.E., Denno, R.F., 1998. Positive predator-predator interactions: Enhanced predation rates and synergistic suppression of aphid populations. Ecology 79, 2143-2152.

Lovei, G.L., Sunderland, K.D., 1996. Ecology and behavior of ground beetles (Coleoptera: Carabidae). Annual Review of Entomology 41, 231-256.

Macfadyen, S., Gibson, R., Polaszek, A., Morris, R.J., Craze, P.G., Planque, R., Symondson, W.O.C., Memmott, J., 2009. Do differences in food web structure between organic and conventional farms affect the ecosystem service of pest control? Ecol. Lett. 12, 229-238.

Marko, V., Keresztes, B., Fountain, M.T., Cross, J.V., 2009. Prey availability, pesticides and the abundance of orchard spider communities. Biological Control 48, 115-124.

Mathews, C.R., Bottrell, D.G., Brown, M.W., 2004. Habitat manipulation of the apple orchard floor to increase ground-dwelling predators and predation of Cydia pomonella (L.) (Lepidoptera : Tortricidae). Biological Control 30, 265-273.

Mauremooto, J.R., Wratten, S.D., Worner, S.P., Fry, G.L.A., 1995. Permeability of hedgerows to predatory carabid beetles. Agric. Ecosyst. Environ. 52, 141-148.

Mills, N., 2005. Selecting effective parasitoids for biological control introductions: Codling moth as a case study. Biological Control 34, 274-282.

Minarro, A., Dapena, T., 2003. Effects of groundcover management on ground beetles (Coleoptera : Carabidae) in an apple orchard. Applied Soil Ecology 23, 111-117.

Minarro, M., Espadaler, X., Melero, V.X., Suarez-Alvarez, V., 2009. Organic versus conventional management in an apple orchard: effects of fertilization and tree-row management on ground-dwelling predaceous arthropods. Agric. For. Entomol. 11, 133-142.

Minarro, M., Fernandez-Mata, G., Medina, P., 2010. Role of ants in structuring the aphid community on apple. Ecol. Entomol. 35, 206-215.

Minarro, M., Hemptinne, J.L., Dapena, E., 2005. Colonization of apple orchards by predators of *Dysaphis plantaginea*: sequential arrival, response to prey abundance and consequences for biological control. Biocontrol 50, 403-414.

Mols, C.M.M., van Noordwijk, A.J., Visser, M.E., 2005. Assessing the reduction of caterpillar numbers by Great Tits *Parus major* breeding in apple orchards. Ardea 93, 259-269.

Mols, C.M.M., Visser, M.E., 2002. Great tits can reduce caterpillar damage in apple orchards. Journal of Applied Ecology 39, 888-899.

Mols, C.M.M., Visser, M.E., 2007. Great Tits *(Parus major*) Reduce Caterpillar Damage in Commercial Apple Orchards. PLoS One 2, 3.

Monzo, C., Molla, O., Castanera, P., Urbaneja, A., 2009. Activity-density of Pardosa cribata in Spanish citrus orchards and its predatory capacity on Ceratitis capitata and Myzus persicae. Biocontrol 54, 393-402.

Monzo, C., Sabater-Munoz, B., Urbaneja, A., Castanera, P., 2011. The ground beetle *Pseudophonus rufipes* revealed as predator of Ceratitis capitata in citrus orchards. Biological Control 56, 17-21.

Mueller, T.F., Blommers, L.H.M., Mols, P.J.M., 1988. Earwig (*Forficula auricularia*) predation on the woolly apple aphid, *Eriosoma lanigerum*. Entomologia Experimentalis et Applicata 47, 145-152.

Muff, P., Kropf, C., Nentwig, W., Schmidt-Entling, M., 2009. Co-existence of divergent communities at natural boundaries: spider Arachnida: Araneae diversity across an alpine timberline. Insect Conservation and Diversity, 36-44.

Murdoch, W.W., Chesson, J., Chesson, P.L., 1985. Biological Control in Theory and Practice. The American Naturalist 125, 344-366.

Navaneethan, T., Strauch, O., Besse, S., Bonhomme, A., Ehlers, R.U., 2010. Influence of humidity and a surfactant-polymer-formulation on the control potential of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* against diapausing codling moth larvae (*Cydia pomonella* L.) (Lepidoptera: Tortricidae). Biocontrol 55, 777-788.

Nicholas, A.H., Spooner-Hart, R.N., Vickers, R.A., 2005. Abundance and natural control of the woolly aphid Eriosoma lanigerum in an Australian apple orchard IPM program. Biocontrol 50, 271-291.

Novak, M., 2010. Estimating interaction strengths in nature: experimental support for an observational approach. Ecology 91, 2394-2405.

Nyffeler, M., Sunderland, K.D., 2003. Composition, abundance and pest control potential of spider communities in agroecosystems: a comparison of European and US studies. Agric. Ecosyst. Environ. 95, 579-612.

Ostman, O., Ekbom, B., Bengtsson, J., 2001. Landscape heterogeneity and farming practice influence biological control. Basic and Applied Ecology 2, 365-371.

Pekar, S., Kocourek, F., 2004. Spiders (Araneae) in the biological and integrated pest management of apple in the Czech Republic. J. Appl. Entomol. 128, 561-566.

Perfecto, I., Vandermeer, J.H., Bautista, G.L., Nunez, G.I., Greenberg, R., Bichier, P., Langridge, S., 2004. Greater predation in shaded coffee farms: The role of resident neotropical birds. Ecology 85, 2677-2681.

Petchey, O.L., Gaston, K.J., 2006. Functional diversity: back to basics and looking forward. Ecol. Lett. 9, 741-758.

Pfiffner, L., Luka, H., Schlatter, C., Juen, A., Traugott, M., 2009. Impact of wildflower strips on biological control of cabbage lepidopterans. Agric. Ecosyst. Environ. 129, 310-314.

Picard, 2007. Pratiques de protection contre le carpocapse des pommes: stratégies, temporalités et impacts environnementaux. Mémoire de stage d'ingénieur agronome. INRA- Montpellier SupAgro, Avignon.

Pinol, J., Espadaler, X., Perez, N., Beven, K., 2009. Testing a new model of aphid abundance with sedentary and non-sedentary predators. Ecological Modelling 220, 2469-2480.

Poltronieri, A.S., Silva, E.D.B.d., Araujo, E.S., Schuber, J.M., Pastori, P.L., 2008. Biological characteristics of two strains of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) of the oriental fruit moth eggs of different ages. Caracteristicas biologicas de duas linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos da mariposa-oriental com diferentes idades. Boletin de Sanidad Vegetal, Plagas 34, 349-356.

Prasad, R.P., Snyder, W.E., 2006. Polyphagy complicates conservation biological control that targets generalist predators. Journal of Applied Ecology 43, 343-352.

Prieto-Benitez, S., Mendez, M., 2011. Effects of land management on the abundance and richness of spiders (Araneae): A meta-analysis. Biological Conservation 144, 683-691.

Pruess-Ustuen, A., Vickers, C., Haefliger, P., Bertollini, R., 2011. Knowns and unknowns on burden of disease due to chemicals: a systematic review. Environmental Health 10.

Puechmaille, S.J., Mathy, G., Petit, E.J., 2007. Good DNA from bat droppings. Acta Chiropterologica 9, 269-276.

Qubbaj, T., Reineke, A., Zebitz, C.P.W., 2005. Molecular interactions between rosy apple aphids, *Dysaphis plantaginea*, and resistant and susceptible cultivars of its primary host *Malus domestica*. Entomologia Experimentalis et Applicata 115, 145-152.

R Development Core Team, 2010. R: a Language and Environment for Statistical Computing., Vienna, Austria. R Foundation for Statistical Computing: 3-900051-07-0. http://www.r-project.org.

Reyes, M., Franck, P., Olivares, J., Margaritopoulos, J., Knight, A., Sauphanor, B., 2009. Worldwide variability of insecticide resistance mechanisms in the codling moth, *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae). Bulletin of Entomological Research 99, 359-369.

Ricci, B., 2009. Dynamique spatiale et dégâts de carpocapse dans la basse vallée de la Durance INRA Avignon Ecole doctorale SIBAGHE Montpelleir.

Riddick, E.W., Mills, N.J., 1994. Potential of adult carabids (Coleoptera: Carabidae) as predators on 5th instar codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) in apple orchards in California. Environmental Entomology 23, 1338-1345.

Riechert, S.E., Lockley, T., 1984. Spiders as biological control agents. Annual Review of Entomology 29, 299-320.

Riga, E., Lacey, L.A., Guerra, N., Headrick, H.L., 2006. Control of the oriental fruit moth, *Grapholita molesta*, using entomopathogenic nematodes in laboratory and fruit bin assays. Journal of nematology 38, 168-171.

Roberts, M.J., 1996. Spiders of Britain and Nothern Europe. HarperCollins, London, UK.

Roschewitz, I., Gabriel, D., Tscharntke, T., Thies, C., 2005. The effects of landscape complexity on arable weed species diversity in organic and conventional farming. Journal of Applied Ecology 42, 873-882.

Rothschild, G.H.L., Vickers, R.A., 1991. Biology, ecology and control of the oriental fruit moth. In: Van der Geest, L.P.S., Evenhuis, H.H. (Eds.), Tortricid Pests, Their Biology, Natural Enemies and Control. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, pp. 389-412.

Rozen, S., Skaletsky, H., 2003. Primer 3 on the WWW for general users and for biologist programmers. In: Krawetz, S., Misener, S. (Eds.), Bioinformatics Methods and Protocols: Methods in Molecular Biology. Humana Press, Totowa, NJ., pp. 364–386.

Sackett, T.E., Buddle, C.M., Vincentb, C., 2009. Dynamics of spider colonization of apple orchards from adjacent deciduous forest. Agric. Ecosyst. Environ. 129, 144-148.

Samu, F., Sunderland, K.D., Szinetar, C., 1999. Scale-dependent dispersal and distribution patterns of spiders in agricultural systems: A review. Journal of Arachnology 27, 325-332.

Sauphanor, B., Dirwimmer, C., 2009. Tome IV: Analyse comparatives de différents systèmes en arboriculture fruitière. In: INRA, V.T. (Ed.), Ecophyto R&D. INRA.

Schmidt, J.M., Rypstra, A.L., 2010. Opportunistic predator prefers habitat complexity that exposes prey while reducing cannibalism and intraguild encounters. Oecologia 164, 899-910.

Schmidt, M.H., Roschewitz, I., Thies, C., Tscharntke, T., 2005. Differential effects of landscape and management on diversity and density of ground-dwelling farmland spiders. Journal of Applied Ecology 42, 281-287.

Schmitz, O.J., 2007. Predator diversity and trophic interactions. Ecology 88, 2415-2426.

Schmitz, O.J., 2008. Effects of predator hunting mode on grassland ecosystem function. Science 319, 952-954.

Schweiger, O., Maelfait, J.P., Van Wingerden, W., Hendrickx, F., Billeter, R., Speelmans, M., Augenstein, I., Aukema, B., Aviron, S., Bailey, D., Bukacek, R., Burel, F., Diekotter, T., Dirksen, J., Frenzel, M., Herzog, F., Liira, J., Roubalova, M., Bugter, R., 2005. Quantifying the impact of environmental factors on arthropod communities in agricultural landscapes across organizational levels and spatial scales. Journal of Applied Ecology 42, 1129-1139.

Sheppard, S.K., Bell, J., Sunderland, K.D., Fenlon, J., Skervin, D., Symondson, W.O.C., 2005. Detection of secondary predation by PCR analyses of the gut contents of invertebrate generalist predators. Molecular Ecology 14, 4461-4468.

Sheppard, S.K., Harwood, J.D., 2005. Advances in molecular ecology: tracking trophic links through predator-prey food-webs. Functional Ecology 19, 751-762.

Simon, S., Bouvier, J.C., Debras, J.F., Sauphanor, B., 2009. Biodiversity and pest management in orchard systems. A review. Agronomy for Sustainable Development, 1-14.

Simon, S., Defrance, H., Sauphanor, B., 2007. Effect of codling moth management on orchard arthropods. Agric. Ecosyst. Environ. 122, 340-348.

Snyder, W.E., Ives, A.R., 2001. Generalist predators disrupt biological control by a specialist parasitoid. Ecology 82, 705-716.

Snyder, W.E., Ives, A.R., 2003. Interactions between specialist and generalist natural enemies: Parasitoids, predators, and pea aphid biocontrol. Ecology 84, 91-107.

Snyder, W.E., Snyder, G.B., Finke, D.L., Straub, C.S., 2006. Predator biodiversity strengthens herbivore suppression. Ecol. Lett. 9, 789-796.

Snyder, W.E., Wise, D.H., 2001. Contrasting trophic cascades generated by a community of generalist predators. Ecology 82, 1571-1583.

Solomon, M.E., Glen, D.M., 1979. Prey density and rates of predation by tits (*Parus spp*) on larvae of codling moth (*Cydia pomonella*) under bark. Journal of Applied Ecology 16, 49-59.

Spellman, B., Brown, M.W., Mathews, C.R., 2006. Effect of floral and extrafloral resources on predation of Aphis spiraecola by Harmonia axyridis on apple. Biocontrol 51, 715-724.

Stewart-Jones, A., Pope, T.W., Fitzgerald, J.D., Poppy, G.M., 2008. The effect of ant attendance on the success of rosy apple aphid populations, natural enemy abundance and apple damage in orchards. Agric. For. Entomol. 10, 37-43.

Straub, C.S., Finke, D.L., Snyder, W.E., 2008. Are the conservation of natural enemy biodiversity and biological control compatible goals? Biological Control 45, 225-237.

Straub, C.S., Snyder, W.E., 2006a. Experimental approaches to understanding the relationship between predator biodiversity and biological control. In: Brodeur, J., Boivin, G. (Eds.), Trophic and Guild Interactions in Biological Control. Springer, Dordrecht, pp. 221-239.

Straub, C.S., Snyder, W.E., 2006b. Species identity dominates the relationship between predator biodiversity and herbivore suppression. Ecology 87, 277-282.

Sunderland, K.D., Powell, W., Symondson, W.C., 2005. Populations and communities. In: Jervis, M.A. (Ed.), Insects as Natural Enemies: A Practical Perspective Springer, Berlin, pp. 299-434.

Swift, M.J., Izac, A.M.N., van Noordwijk, M., 2004. Biodiversity and ecosystem services in agricultural landscapes - are we asking the right questions? Agric. Ecosyst. Environ. 104, 113-134.

Symondson, W.O.C., 2002. Molecular identification of prey in predator diets. Molecular Ecology 11, 627-641.

Symondson, W.O.C., Cesarini, S., Dodd, P.W., Harper, G.L., Bruford, M.W., Glen, D.M., Wiltshire, C.W., Harwood, J.D., 2006. Biodiversity vs. biocontrol: positive and negative effects of alternative prey on control of slugs by carabid beetles. Bulletin of Entomological Research 96, 637-645.

Symondson, W.O.C., Glen, D.M., Erickson, M.L., Liddell, J.E., Langdon, C.J., 2000. Do earthworms help to sustain the slug predator *Pterostichus melanarius* (Coleoptera : Carabidae) within crops? Investigations using monoclonal antibodies. Molecular Ecology 9, 1279-1292.

Symondson, W.O.C., Sunderland, K.D., Greenstone, M.H., 2002. Can generalist predators be effective biocontrol agents? Annual Review of Entomology 47, 561-594.

Szendrei, Z., Greenstone, M.H., Payton, M.E., Weber, D.C., 2009. Molecular gut-content analysis of a predator assemblage reveals the effect of habitat manipulation on biological control in the field. Basic and Applied Ecology 11, 153-161.

Thiemann, G.W., 2008. Using fatty acid signatures to study bear foraging: Technical considerations and future applications. Ursus 19, 59-72.

Tscharntke, T., Klein, A.M., Kruess, A., Steffan-Dewenter, I., Thies, C., 2005. Landscape perspectives on agricultural intensification and biodiversity - ecosystem service management. Ecol. Lett. 8, 857-874.

Van Driesche, R.G., Carruthers, R.I., Center, T., Hoddle, M.S., Hough-Goldstein, J., Morin, L., Smith, L., Wagner, D.L., Blossey, B., Brancatini, V., Casagrande, R., Causton, C.E., Coetzee, J.A., Cuda, J., Ding, J., Fowler, S.V., Frank, J.H., Fuester, R., Goolsby, J., Grodowitz, M., Heard, T.A., Hill, M.P., Hoffmann, J.H., Huber, J., Julien, M., Kairo, M.T.K., Kenis, M., Mason, P., Medal, J., Messing, R., Miller, R., Moore, A., Neuenschwander, P., Newman, R., Norambuena, H., Palmer, W.A., Pemberton, R., Panduro, A.P., Pratt, P.D., Rayamajhi, M., Salom, S., Sands, D., Schooler, S., Schwarzlander, M., Sheppard, A., Shaw, R., Tipping, P.W., van Klinken, R.D., 2010. Classical biological control for the protection of natural ecosystems. Biological Control 54, S2-S33.

Wezel, A., Bellon, S., Dore, T., Francis, C., Vallod, D., David, C., 2009. Agroecology as a science, a movement and a practice. A review. Agronomy for Sustainable Development 29, 503-515.

Wise, D.H., 2006. Cannibalism, food limitation, intraspecific competition and the regulation of spider populations. Annual Review of Entomology 51, 441-465.

Worsfold, N.T., Warren, P.H., Petchey, O.L., 2009. Context-dependent effects of predator removal from experimental microcosm communities. Oikos 118, 1319-1326.

Wyss, E., 1995. The effects of weed strips on aphids and aphidophagous predators in an apple orchard. Entomologia Experimentalis Et Applicata 75, 43-49.

Wyss, E., 1996. The effects of artificial weed strips on diversity and abundance of the arthropod fauna in a Swiss experimental apple orchard. Agric. Ecosyst. Environ. 60, 47-59.

Wyss, E., Niggli, U., Nentwig, W., 1995. The impacts of spiders on aphid populations in a strip-managed apple orchard. J. Appl. Entomol.-Z. Angew. Entomol. 119, 473-478.

Yachi, S., Loreau, M., 1999. Biodiversity and ecosystem productivity in a fluctuating environment: The insurance hypothesis. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 96, 1463-1468.

Zeale, M.R.K., Butlin, R.K., Barker, G.L.A., Lees, D.C., Jones, G., 2011. Taxon-specific PCR for DNA barcoding arthropod prey in bat faeces. Molecular Ecology Resources 11, 236-244.

Zehnder, G., Gurr, G.M., Kuhne, S., Wade, M.R., Wratten, S.D., Wyss, E., 2007. Arthropod pest management in organic crops. Annual Review of Entomology 52, 57-80.

Zobel, M., 1997. The relative role of species pools in determining plant species richness. An alternative explanation of species coexistence? Trends in Ecology & Evolution 12, 266-269.

Annexe

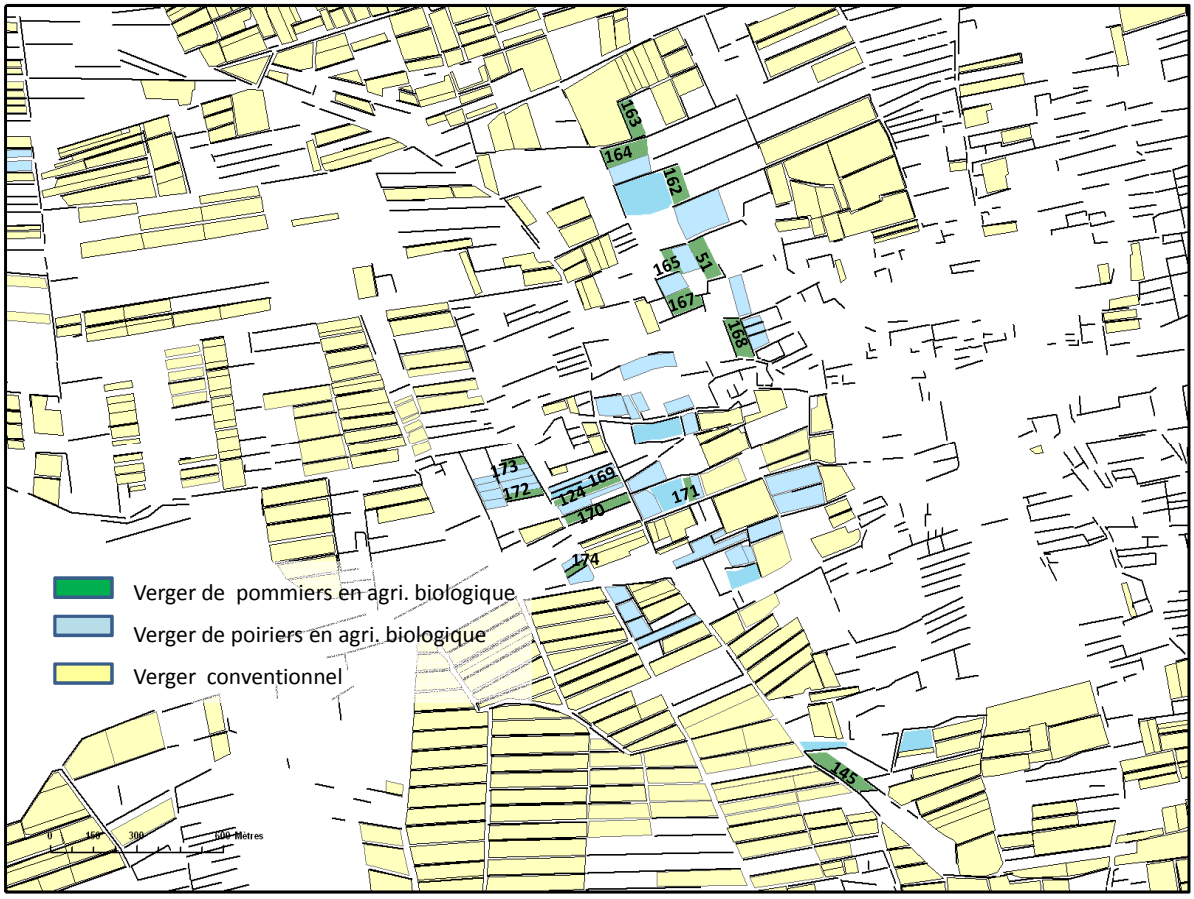
Annexe *Tableau des captures d'araignées réalisées en 2009 et 2010 par pièges Barber.*

	juin9	sept9	avril10	juin10	sept10	Total
Agelenidae	2	10	12	1	19	44
Amaurobiidae			62	1		63
Anyphaenidae			6			6
Atypidae			4			4
Clubionidae	4	4		2	4	14
Dysderidae	3	1	5		1	10
Gnaphosidae	44	71	128	23	37	303
Hahniidae				5		5
Linyphiidae	126	128	161	120	150	685
Liocranidae	1			9	1	11
Lycosidae	276	1198	1364	89	184	3111
Nemesiidae					1	1
Oxyopidae		1	1		1	3
Philodromidae	1	6	20			27
Pisauridae	5		1			6
Salticidae	11	18	22	3	2	56
Segestriidae	5					5
Tetragnathidae	3	2	1			6
Theridiidae		1	2			3
Thomisidae	73	8	42		21	144
Zodariidae	184	69	31	8	2	294
Zoridae			2			2
Autres		3	1			4
Total général	738	1520	1865	261	423	4807

Tableau des captures de carabes réalisées en 2009 et 2010 par pièges Barber.

	juin9	sept9	avril10	juin10	sept10	Total
Acinopus picipes		1				1
Amara aenea	36		20		1	57
Amara eurynota	1					1
Amara familiaris			23			23
Anchomenus dorsalis			5			5
Badister bipustulatus			6			6
Bembidion sp			22	2		24
Brachinus crepitans	2	1	1			4
Brachinus sclopeta	3		3	1		7
Calathus cinctus		3				3
Calathus circumseptus		6		1	3	10
Calathus fuscipes	11	137			34	182
Callistus lunatus	2					2
Carabus coriaceus		5		6	9	20
Carterus fulvipes	2					2
Cylindera germanica	83			15	17	115
Dixus capito	1	1				2
Harpalus affinis	5	11	29		5	50
Harpalus anxius			5			5
Harpalus dimidiatus	8	5	25	3	3	44
Harpalus distinguendus	5		8	2		15
Harpalus honestus			2		1	3
Licinus punctatulus			2			2
Metallina sp			2		1	3
Microlestes sp	6		7	27	2	42
Nebria brevicollis	4	25	77		49	155
Ophonus azureus	7	9		9	1	26
Ophonus cribricollis	2					2
Ophonus sabulicola	1	16				17
Ophonus subquadratus	1		1			2
Philorhizus quadrisignatus	1					1
Poecilus cupreus		1				1
Pseudoophonus calceatus	6				6	12
Pseudoophonus griseus	80	101			96	277
Pseudoophonus rufipes	110	209	5	1	127	452
Pterostichus niger	6	100	1	4	77	188
Trechus quadristriatus					3	3
Zabrus tenebrionides	1	13			4	18
Autres	11			23		34
Total général	395	644	244	94	439	1816

Planche amovible



	Propriétaire A								Propriétaire B						
Désignation sur la carte	51	145	162	163	164	165	167	168	124	169	170	171	172	173	174
Dispositif mésanges (densité de nichoirs/ha)	3/ha	3/ha	20/ha	20/ha	3/ha	3/ha	20/ha	0/ha	3/ha	0/ha	20/ha	0/ha	0/ha	20/ha	0/ha
Gîtes artificiels	3 gîtes	1 gîte		2 gîtes					2 gîtes						
Article 1 Prédation des tordeuses par les arthropodes du sol	O-1	O-3		O-4			O-5	0-6	O-2		O-7	O-8	O-9		
Article 2 Prédation du puceron cendré par les araignées de la frondaison		O-2							O-1			O-3			
Chapitre V.A Etude de la gestion de l'habitat intra et inter verger favorisant les carabes et araignées du sol	×	×		×			×	×	×		×	×	×		
Article 4 Effet des caractéristiques environnementales sur la fonctionnalité des communautés d'araignées de la frondaison	O-1	O-2		O-3			O-4	O-5	O-6		O-7	O-8	O-9		

Résumé :

L'intérêt des prédateurs généralistes dans la lutte biologique par conservation est peu étudié en verger de pommiers. Cette thèse visait à déterminer le rôle de prédateurs généralistes invertébrés (principalement carabes et araignées) et vertébrés (mésanges et chauves souris) dans le contrôle de trois ravageurs clés du pommier et de définir les éléments paysagers qui leur sont favorables. Pour cela, nous avons effectué des suivis de populations dans des vergers en agriculture biologique et nous les avons associés à des mesures de prédation des ravageurs par analyse moléculaire des contenus stomacaux et faeces des prédateurs à l'aide d'amorces spécifiques développées à cet effet. Nous montrons que les ravageurs sont consommés dès leur apparition dans les vergers, notamment les pucerons par les araignées de la frondaison, ce qui suggère que ces prédateurs ont un potentiel de régulation important. De plus une complémentarité temporelle semble exister entre araignées et carabes dans le contrôle des tordeuses. L'influence des éléments paysagers intra et extra verger diffère selon les taxa de prédateurs considérés. Ce dernier résultat suggère des compromis dans les aménagements à réaliser pour favoriser leur action et la nécessité d'une meilleure compréhension de leur écologie.

Summary :

Generalist predators have been merely studied in conservation biological control studies in apple orchards. This work aimed to determine the potential of invertebrate (arthropods, mainly carabids and spiders) and vertebrate (great tits and bats) predators at suppressing three key apple pests and then to devise which landscape features are beneficial to them. For this purpose, we monitored pest and predator populations in organic apple orchards of southeastern France and related their abundance and diversity to measures of pest predation using molecular gut content and faeces analysis with specific primers designed for this purpose. We found that pests were consumed as soon as they arrived in the orchard, in particular aphid by canopy spiders, indicating that these predators are likely to be efficient. We also observed some temporal complementarity in predation of tortricids by spiders and carabids. Finally, the influence of landscape features within and surrounding the orchards was different for the different studied taxa suggesting the need for compromises in orchard management for enhancing natural enemy populations and for a better consideration of the ecology of these predators.