



UNIVERSITE DE LA REUNION

Faculté des Sciences et Technologies

Ecole Doctorale Sciences Technologies et Santé (E.D.S.T.S-542)

THESE

Présentée à l'Université de La Réunion pour obtenir le

DIPLOME DE DOCTORAT

Discipline : Biologie des populations et écologie
UMR Peuplements Végétaux et Bioagresseurs en Milieu Tropical
Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et des Sciences des Aliments

Réponse des femelles de *Bactrocera cucurbitae* (Diptera, Tephritidae) aux composés volatils de fruits-hôtes

par

Toulassi ATIAMA-NURBEL

Soutenue le 21 mars 2014 devant le jury composé de :

Dominique STRASBERG, Professeur, PVBMT, Université de La Réunion

Président

Anne-Marie CORTESERO, Professeur, IGEPP, Université de Rennes 1

Rapporteur

Bertrand SCHATZ, Directeur de recherche, CEFÉ, CNRS

Rapporteur

David NESTEL, Chercheur, Agricultural Research Organisation, Israël

Examineur

Serge QUILICI, Chercheur, PVBMT, CIRAD

Directeur

Anne BIALECKI, Professeur, LCSNSA, Université de La Réunion

Co-directrice

« Vis comme si tu devais mourir demain. Apprends comme si tu devais vivre toujours »

Mahatma Gandhi

« Notre langage ne vaut rien pour décrire le monde des odeurs »

Le Parfum - Patrick Süskind

Remerciements

Mes travaux se sont déroulés au sein de deux laboratoires : l'UMR PVBMT et le LSCSNA. Je commencerai donc par remercier leur directeur respectif Mr Bernard Reynaud et Mr Bertrand Illien, pour m'avoir ouvert les portes de leur unité de recherche. Je remercie, par la même occasion, le CIRAD pour le financement de ma bourse de thèse.

Je voudrais remercier mon directeur de thèse Serge Quilici, de m'avoir fait partager son regard d'expérience sur le sujet des Tephritidae, pour sa gentillesse et ses précieux conseils.

Je souhaiterais adresser mes plus vifs remerciements à ma co-directrice Anne Bialecki pour son important investissement dans mon travail. Malgré ses nombreuses responsabilités, elle a toujours réussi à se rendre disponible et a su, par sa constante douceur, son sens de l'écoute, ses compétences et sa grande pédagogie, être pour moi une excellente référente en chimie organique. Je lui en suis profondément reconnaissante.

Je remercie également Mme Jacqueline Smadja, pour s'être si fortement investie dans les relectures de mon manuscrit et son accueil chaleureux au laboratoire de chimie.

Merci également à Pierre-François Duyck pour ses corrections et pour m'avoir apporté son regard d'écologue, toutes ses remarques ont grandement contribué à l'amélioration de mon manuscrit.

Une personne pour qui j'ai du mal à trouver les mots pour qualifier à quel point je lui suis reconnaissante, je sais qu'il se reconnaitra, Jean-Philippe Deguine. Un homme avec de grandes valeurs humaines, une générosité et une passion pour son travail, qui est aujourd'hui mon modèle et le restera jusqu'à la fin de ma carrière. Je le remercie de m'avoir donné toute sa confiance, de m'avoir transmis son savoir et de continuer à se battre pour moi. Mon plus grand souhait est de pouvoir continuer à travailler avec lui. Merci mon ami.

Je voudrais vraiment insister sur le fait que cette thèse est le fruit du travail d'une équipe extraordinaire qui a su dans toutes les situations m'apporter leur soutien et leurs compétences. Je remercie donc l'équipe « mouches » pour avoir été des collègues et des amis, qui j'espère sauront être fiers du travail accompli tous ensemble. Merci à Serge Glénac pour son travail dans les serres et m'avoir transformée en agricultrice. Merci à Jim, Moutou, Cédric pour s'être occupés des mouches et m'avoir appris tous les filons sur les élevages. Merci à Antoine, de m'avoir apporté ses talents de bricoleur pour la construction des olfactomètres et aussi pour ses sublimes photos.

Je n'oublie pas mes stagiaires, qui m'ont grandement aidée, surtout quand je devais être à la fois à St Denis et à St Pierre : Késia, Amandine, Emilie et la toute récente Lucile qui va continuer à faire vivre les résultats de cette thèse.

Une spéciale dédicace à mon collègue et avant tout mon petit frère Morguen, pour son soutien et son aide inconditionnelle. Je te dirais simplement que je te revaudrais ça, à dans 2 ans !

Merci aux statisticiens Fred et Sandrine, pour leurs conseils et leur aide sur R, sur un jeu de données pas très coopératif. J'adresse particulièrement mes remerciements à Sandrine pour son aide précieuse, elle a vraiment su m'aider à y voir plus clair dans tout ça. Merci également à Fabien Gogé pour ses conseils très utiles en data mining.

Merci à Michel Roux-Cuvelier pour avoir mis à ma disposition des semences de Cucurbitaceae.
Merci à Mr Hoarau pour les melons.

I would like to thank also my colleagues of Prague who give me the opportunity to see snow for the first time! But even more they have welcomed me in their lab as a friend, and have showed me how we can make so amazing work with so appropriate device like GC-EAD. I want to thank first Michal, who proposed me to come in Prague and thank also Blanka for teaching me so many things about EAG in a record time and for her help in the data-analysis. I want to thanks Radka and Lucie who were so precious in this country, and really managed to make me forget the cold. Special thanks for Radka for continuing to work for me on the LECO even after my departure.

Ensuite, viennent les remerciements aux collègues de La Réunion qui n'ont pas forcément contribué directement à mon travail mais qui, par leur bonne humeur et leur gentillesse, ont fait que venir travailler a toujours été un plaisir : Jean-Michel et Micheline Baptiste, Sylvain, David, Lulu, Richard, Iréné, Martial, Jean-Pierre, Chantal, Magali, Cynthia, Océane, Jean Volsan et tous les VCATs de passage (Marion, Benjamin, Coline, Mathilde H., Marianne, Adrien, Mika, Jessica, Laetitia, Oriane, Olivier, Pioum, David...).

Merci aux autres doctorants et quelques docteurs maintenant ; merci aux biologistes : Stéphanie, Minichief, Rodolphe, Cathy, Paul, Alice, Aline, Max, Sylvia, Jérémy, Maëva... ; et aux chimistes : David, Emmanuelle D., Emmanuelle G., Emmanuel P., Eric, Sophie, Graziella, Julien, Pierre-Eric.

Je remercie tout particulièrement Sophie, qui est ma voisine de bureau depuis un an et qui a partagé tous mes doutes, m'a remotivée et m'a aidée dans les moments les plus durs de cette dernière année.

Je remercie ainsi toutes les personnes qui ont croisé ma route pendant cette thèse et qui ont su par leur sourire, leurs mots, leurs petits gâteaux, m'apporter du réconfort et la motivation de continuer.

Merci à mes amis qui ne m'ont pas oublié par leurs messages et leurs appels pendant ces 3 ans ; je vous demande pardon de vous avoir tant délaissés : Natacha, Lise, Yoan, Romu, Anne-So, Doudou. J'ai vraiment hâte de vous retrouver !

Je remercie ma famille pour leur soutien et leur compréhension pendant ses trois années, mes frères et mes sœurs, et bien sûr mes parents sans qui rien n'aurait été possible. Je leur adresse ma reconnaissance pour m'avoir guidée et accompagnée dans ma vie et je sais qu'ils le feront encore. Papa, Maman je vous aime.

Merci à mes beaux-parents, et belles-sœurs pour votre soutien.

Et je finirai par Christophe, qui a dû souvent s'accommoder d'une femme « fantôme », mais qui malgré tout m'a soutenue et rendue heureuse pendant ces 3 ans. Merci, mi aime a ou.

Sommaire

SOMMAIRE	1
ABREVIATIONS ET SIGLES	4
LISTE DES FIGURES ET DES PLANCHES	5
LISTE DES TABLEAUX	8
LISTES DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS	9
INTRODUCTION GENERALE	10
CHAPITRE I - SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	14
I. Ecologie chimique des relations insecte-plante chez les phytophages	14
I.1 La sélection de l'hôte chez les insectes phytophages	14
I.1.1 Les étapes de la sélection de l'hôte	15
I.1.2 La première phase : la localisation à distance de la plante	16
I.1.3 La seconde phase : la reconnaissance au contact - l'acceptation de la plante	23
I.2 Médiation chimique au cours de la localisation de plantes-hôtes	24
I.2.1 Quelques rappels sur la médiation chimique	24
I.2.2 Etude des réponses comportementales aux substances allélochimiques	26
I.2.3 Les kairomones en protection des cultures	28
I.3 Facteurs influençant la réponse comportementale des insectes en recherche de plantes-hôtes	32
II. Les composés volatils de plantes	38
II.1 Généralités	38
II.2 Diversité et biosynthèse des composés volatils	40
II.2.1 Les terpènes	40
II.2.2 Les phénylpropanoïdes / benzénoïdes	43
II.2.3 Les dérivés d'acides gras	44
II.2.4 Les dérivés d'acides aminés	45
II.3 Fonctions des composés volatils de plantes	46
II.4 Localisation, régulation et dispersion des composés volatils de plantes	47
II.5 Les techniques d'extraction et d'analyse des composés volatils	49
II.5.1 Techniques d'extraction	49
II.5.2 Techniques d'analyse	53
II.6 Cas particulier des composés volatils de Cucurbitaceae : travaux antérieurs	59
II.6.1 Caractéristiques générales de la famille	59
II.6.2 Les composés volatils de Cucurbitaceae	60
III. Les Tephritidae : ravageurs d'importance économique	61
III.1 Systématique, morphologie et répartition géographique	61
III.2 Les Tephritidae : des ravageurs des cultures	62
III.2.1 Bioécologie	62
III.2.2 Méthodes de surveillance et de lutte contre les Tephritidae	64
III.3 Les Tephritidae nuisibles à La Réunion	66
III.3.1 Les principales espèces de Tephritidae nuisibles	66
III.3.2 <i>Bactrocera cucurbitae</i> : un ravageur majeur des cultures de Cucurbitaceae à La Réunion	69

CHAPITRE II - REPONSE DES FEMELLES DE *BACTROCERA CUCURBITAE* AUX ODEURS DE FRUITS DE CUCURBITACEAE

75

I. Réponses des femelles de *B. cucurbitae* aux odeurs de divers fruits-hôtes

75

I.1	Matériel biologique	76
I.1.1	Les mouches	76
I.1.2	Le matériel végétal	77
I.2	Mise au point d'un dispositif de mesure de l'attractivité de fruits-hôtes	80
I.2.1	Matériel et méthode	80
I.2.2	Résultats	85
I.3	Réponses des femelles aux odeurs de divers fruits-hôtes	90
I.3.1	Procédure générale	90
I.3.2	Analyse statistique	91
I.3.3	Résultats	92
I.4	Discussion	99

II. Facteurs influençant la réponse des femelles aux odeurs de fruits-hôtes

104

Factors influencing the response of *Bactrocera cucurbitae* female to host fruit odours

106

	Introduction	107
	Materials and methods	108
	Flies	108
	Plant material	109
	Experimental procedures	109
	Results	111
	Time of the day	111
	Age	112
	Mating status	113
	Number of lab-reared generations	113
	Discussion	114

CHAPITRE III - COMPOSITION CHIMIQUE DES EFFLUVES DE FRUITS DE CUCURBITACEAE

118

I. Analyse des composés volatils de 27 fruits de Cucurbitaceae

118

I.1	Matériels et méthodes	119
I.1.1	Matériel végétal	119
I.1.2	Extraction des composés volatils par SPME	119
I.1.3	Analyse chromatographique	122
I.1.4	Analyse statistique	124
I.2	Résultats	126
I.2.1	Caractérisation des profils d'émission des fruits au cours de la maturation	126
I.2.2	Comparaison des profils d'émission des fruits	133
I.3	Discussion	145

II. Cas particulier des effluves de cinq variétés de concombre

150

Volatile constituents of cucumber: differences between five tropical cultivars

151

CHAPITRE IV - DETERMINATION DES COMPOSES VOLATILS DE CUCURBITACEAE IMPLIQUES DANS L'ATTRACTION DES FEMELLES DE *BACTROCERA CUCURBITAE* VERS LEURS FRUITS-HOTES

160

I. Etude de la réponse électroantennographique des femelles aux effluves de trois fruits-hôtes

161

I.1	Matériels et méthodes	161
I.1.1	Les mouches	161
I.1.2	Les fruits testés	162
I.1.3	Extraction des composés volatils	162
I.1.4	Mesures électroantennographiques	164

I.2	Résultats	166
I.2.1	Concombre	166
I.2.2	Melon	168
I.2.3	Pipangaille lisse	169
I.2.4	Comparaison des réponses aux trois fruits	170
II.	Etude de la relation entre l'attractivité des fruits et leur composition chimique	172
II.1	Matériels et méthodes	172
II.2	Résultats	174
II.2.1	Visualisation des classes de fruits en fonction de leur attractivité	174
II.2.2	Analyse Factorielle des Correspondances	176
III.	Discussion	180
CHAPITRE V - REPONSES DES FEMELLES DE <i>BACTROCERA CUCURBITAE</i> A DES COMPOSES VOLATILS ISOLES OU EN MELANGE		185
Which cucurbit volatiles are most attractive to gravid females of <i>Bactrocera cucurbitae</i> (Diptera, Tephritidae)?		187
	Abstract	187
	Introduction	188
	Materials and Methods	189
	Flies	189
	Chemicals	190
	Experimental procedure	190
	Statistical analysis	191
	Results	192
	Single compounds	192
	Blends of compounds	195
	Discussion	196
DISCUSSION GENERALE		200
I.	La composition chimique des effluves de fruits : un stimulus clé dans la localisation de l'hôte	200
II.	La composition chimique des effluves de fruits : quel rôle dans la spécialisation d'hôtes ?	202
III.	Rôle de certains composés dans l'attraction des femelles	206
IV.	Implications pratiques : mise au point d'un système de piégeage des femelles	209
V.	Conclusion et perspectives de recherche	211
GLOSSAIRE		213
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES		215
ANNEXES		235

Abréviations et sigles

AFC	Analyse Factorielle des Correspondances
ACM	Analyse des Correspondances Multiples
CIRAD	Centre de coopération International de Recherche Agronomique pour le Développement
CAH	Classification Ascendante Hiérarchique
CG	Chromatographie Gazeuse
CG-EAD	Chromatographie Gazeuse couplée à la Détection Electroantennographique
CG-FID	Chromatographie Gazeuse couplée à un Détecteur à Ionisation de Flamme
CG-SM	Chromatographie Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse
GC x CG/TOFMS	Chromatographie Gazeuse bidimensionnelle couplée à la Spectrométrie de Masse avec un détecteur à Temps de Vol
DVB	Divinylbenzène
EAG	Electroantennographie
GAMOUR	Gestion Agroécologique des MOUches des légumes à La Réunion
GLM	Modèle Linéaire Généralisé
GLV	Green Leaf Volatiles (composés volatils de l'"odeur verte")
IRR	Indice de Rétention Relatif
LCSNSA	Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et des Sciences des Aliments
MAT	Technique d'Annihilation des Mâles
ORN	Récepteur Neuronal
PDMS	Polydiméthylsiloxane
PLS	Régression des moindres carrés partiels (<i>Partial Least Square</i>)
SIT	Technique d'Insecte Stérile
SNC	Système Nerveux Central
SPME	Micro-Extraction sur Phase Solide
SVM	Séparateur à Vastes Marges
RVB	Code couleur (Rouge Vert Bleu)
UMR PVBMT	Unité Mixte de Recherche – Peuplements Végétaux et Bioagresseurs en Milieu Tropical

Liste des figures et des planches

Chapitre I

Figure I-1. Séquence générale de sélection d'une plante hôte par les insectes avec les différents types de stimuli impliqués.....	15
Figure I-2. Anatomie et physiologie du système récepteur.....	16
Figure I-3. Structure d'une sensille.....	17
Figure I-4. Différents types de sensilles.....	19
Figure I-5. Réponse de l'insecte à l'odeur d'une plante.....	22
Figure I-6. Les différentes catégories de médiateurs chimiques.....	25
Figure I-7. La chromatographie gazeuse couplée à l'électroantennographie.....	27
Figure I-8. Résumé des processus cellulaires impliqués dans la biosynthèse des composés volatils.....	39
Figure I-9. Elongation de la chaîne isoprénique.....	41
Figure I-10. Formation de dérivés d'acides gras.....	44
Figure I-11. Formation de dérivés d'acides aminés.....	45
Figure I-12. Formation de dérivés soufrés d'acides aminés.....	45
Figure I-13. Interactions entre les plantes et l'environnement régies par les composés volatils qu'elles émettent.....	46
Figure I-14. Dispersion de l'odeur depuis la source.....	48
Figure I-15. Système de micro-extraction sur phase solide (SPME) de type seringue.....	51
Figure I-16. Les différents modes d'extraction.....	53
Figure I-17. Les différents modules de la chromatographie gazeuse.....	53
Figure I-18. Recherche effectuée pour la banque de données informatisée Wiley.....	56
Figure I-19. Chromatogramme de l'huile essentielle de <i>Schinus terebinthifolius</i>	58
Figure I-20. Le melon.....	59
Figure I-21. Dégâts de Tephritidae sur un fruit de "chouchou" (<i>Sechium edule</i>).....	62
Figure I-22. Cycle de développement des Tephritidae.....	63
Figure I-23. Eléments de morphologie des Tephritidae.....	68
Figure I-24. Position taxonomique des espèces de Tephritidae nuisibles de La Réunion.....	68
Figure I-25. Distribution mondiale de <i>Bactrocera cucurbitae</i>	69
Planche 1. <i>Bactrocera cucurbitae</i> (Coquillett).....	70

Chapitre II

Figure II-1. Cage d'élevage de <i>Bactrocera cucurbitae</i> en chambre climatique.....	76
Planche 2. Fruits de Cucurbitaceae étudiés.....	78
Figure II-2. Serre de culture «insect-proof» pour la production des différentes espèces de Cucurbitaceae.....	79
Figure II-3. Petites cages de comportement.....	80
Figure II-4. Boîte de piégeage.....	81
Figure II-5. Disposition des petites cages sur 2 étages en chambre climatique.....	83

Figure II-6. Pourcentage de femelles attirées dans les boîtes par l'odeur de concombre, en fonction de l'intensité lumineuse et de la position haute ou basse des boîtes.....	87
Figure II-7. Pourcentage moyen de femelles attirées par l'odeur de concombre dans le dispositif de petites cages en fonction de la tranche horaire de la journée et intervalle de confiance asymptotique.....	88
Figure II-8. Evolution du pourcentage moyen de femelles attirées par l'odeur de concombre, en fonction de la durée de la manipulation, et intervalle de confiance asymptotique écart type associé.....	89
Planche 3. Réponses des femelles aux 27 fruits-hôtes de Cucurbitaceae, aux trois stades de maturité (jeune, intermédiaire et mature), en petites cages.....	93
Figure II-9. Classement des fruits selon leurs stades de maturité les plus attractifs.....	94
Figure II-10. Réponses des femelles aux 27 fruits-hôtes de Cucurbitaceae, au stade de maturité "jeune", en petites cages.....	95
Figure II-11. Réponses des femelles aux 27 fruits-hôtes de Cucurbitaceae, au stade de maturité "intermédiaire", en petites cages.....	97
Figure II-12. Réponses des femelles aux 27 fruits-hôtes de Cucurbitaceae, au stade "mature", en petites cages.....	98
Figure II-13. Mean response ($\pm$ confidence interval) (%) of <i>Bactrocera cucurbitae</i> female to cucumber odor for 4 different times of the day (8:00-10:00, 10:00-12:00, 12:00-14:00, 14:00-16:00).....	112
Figure II-14. Mean response ($\pm$ confidence interval) (%) of <i>Bactrocera cucurbitae</i> female to cucumber odor for 4 different ages (0, 15, 25, 35 days-old females).....	112
Figure II-15. Mean number ($\pm$ confidence interval) of mature eggs per female (egg load) upon dissection ovaries of <i>Bactrocera cucurbitae</i> females of different ages (0, 15, 25, 35 days-old).....	113

Chapitre III

Figure III-1. Dispositifs expérimentaux pour l'extraction par SPME des composés volatils émis par les fruits découpés.....	121
Figure III-2. Dispositif expérimental pour l'extraction par SPME des composés volatils émis par les fruits en conditions <i>in situ</i>	122
Figure III-3. Dendrogramme des fruits selon leur profil d'émission en composés volatils pour l'extraction des fruits découpés 3 h à 37°C.....	136
Figure III-4. Dendrogramme des fruits selon leur profil d'émission en composés volatils pour l'extraction des fruits découpés 3 h à température ambiante.....	139
Figure III-5. Dendrogramme des fruits selon leur profil d'émission en composés volatils pour l'extraction des fruits entiers 4 h <i>in situ</i>	142

Chapitre IV

Figure IV-1. Tête d'une femelle de <i>Bactrocera cucurbitae</i> connectée aux électrodes du dispositif d'électroantennographie.....	165
Figure IV-2. Cycle de chromatographie sur phase gazeuse (détection à ionisation de flamme ; FID) couplé à la détection électroantennographique EAD des composés volatils de concombre 'showy green' mature découpé utilisant des femelles de <i>Bactrocera cucurbitae</i>	167
Figure IV-3. Cycle de chromatographie sur phase gazeuse (détection à ionisation de flamme ; FID) couplé à la détection électroantennographique EAD des composés volatils de melon jeune découpé utilisant des femelles de <i>Bactrocera cucurbitae</i>	168
Figure IV-4. Cycle de chromatographie sur phase gazeuse (détection à ionisation de flamme ; FID) couplé à la détection électroantennographique EAD des composés volatils de la pipangaille lisse jeune découpée utilisant des femelles de <i>Bactrocera cucurbitae</i>	169

Figure IV-5. Cycle de chromatographie sur phase gazeuse (détection à ionisation de flamme ; FID) des composés volatils de 3 fruits découpés (concombre ‘Showy green’ mature, melon jeune et pipangaille lisse moyenne) avec positionnement des composés élicitant une réponse EAD des femelles de <i>Bactrocera cucurbitae</i> .	171
Figure IV-6. Classification ascendante hiérarchique de 27 fruits de Cucurbitaceae aux stades jeune et mature associés à leur attractivité pour les femelles de <i>Bactrocera cucurbitae</i> .	175
Figure IV-7. Premier plan factoriel (axes 1 et 2) de l’AFC représentant les associations entre les classes d’attractivité de fruits et la présence de certains composés volatils.	177
Figure IV-8. Second plan factoriel (axes 2 et 3) de l’AFC représentant les associations entre les classes d’attractivité de fruits et la présence de certains composés volatils.	179

Chapitre V

Figure V-1. Olfactomètre à une voie.	186
Figure V-2. Mean response ($\pm$ confidence interval) (%) of <i>Bactrocera cucurbitae</i> female to 4 single volatile compounds, to 12 blends of volatile compounds from cucurbits and to fresh cucumber odor in olfactometer bioassays.	196

Discussion générale et conclusion

Figure VI-1. Coïncidence de détection des récepteurs neuronaux.	207

Liste des tableaux

Chapitre I

Tableau I-1. Caractéristiques de quelques revêtements polymériques pour les fibres SPME.....	51
Tableau I-2. Liste des plantes hôtes de <i>Bactrocera cucurbitae</i> à La Réunion.....	73

Chapitre II

Tableau II-1. Pourcentage moyen (et écart type) de femelles attirées dans les boîtes avec 2 types de couvercle (grillagé et étanche).....	85
Tableau II-2. Pourcentage moyen de réponse olfactive en petites cages et écart type en fonction de la position des cages et de la luminosité.....	86
Tableau II-3. Intervalle de confiance (IC) théorique calculé selon la méthode de Clopper et Pearson pour un pourcentage de réponse moyen attendu de 50%, pour 7 à 12 cages et pour 40 ou 30 femelles par cage.....	90

Chapitre III

Tableau III-1. Conditions d'analyse par CG-SM.....	123
Tableau III-2. Composés volatils les plus courants dans les profils d'émission des fruits jeunes pour les 3 méthodes d'extraction.....	132
Tableau III-3. Appartenance des fruits dans les classes des classifications ascendantes hiérarchiques.....	135
Tableau III-4. Caractérisation des classes de la classification ascendante hiérarchique des fruits découpés jeunes et matures pour l'extraction de 3h à 37°C.....	137
Tableau III-5. Caractérisation des classes de la classification ascendante hiérarchique des fruits découpés jeunes et matures pour l'extraction de 3 h à 37°C.....	140
Tableau III-6. Caractérisation des classes de la classification ascendante hiérarchique des fruits découpés jeunes et matures pour l'extraction de 3h à 37°C.....	143
TABLE 1: Morphological characteristic of the 5 tropical cucumber varieties (<i>Cucumis sativus</i>).....	153
TABLE 2: Volatile compounds identified in cucumber of five different varieties by GC-MS.....	158

Chapitre IV

Tableau IV-1. Tentative d'identification des zones chromatogrammes FID du concombre mature élicitant une réponse électroantennographique des femelles de <i>Bactrocera cucurbitae</i> par comparaison des IR _{FID} et IR _{CG} et des spectres de masse.....	167
Tableau IV-2. Tentative d'identification des zones chromatogrammes FID du melon jeune élicitant une réponse électroantennographique des femelles de <i>Bactrocera cucurbitae</i> par comparaison des IR _{FID} et IR _{CG} et des spectres de masse.....	168
Tableau IV-3. Tentative d'identification des zones chromatogrammes FID de la pipangaille lisse jeune élicitant une réponse électroantennographique des femelles de <i>Bactrocera cucurbitae</i> par comparaison des IR _{FID} et IR _{CG} et des spectres de masse.....	169
Tableau IV-4. Exemple de tableau de contingence.....	173

Chapitre V

Table V-1. Composition of the 12 blends.....	191
Table V-2. Values of likelihood ratio test on generalized linear models for factors dose and control based on Chi-squared test for 9 compounds, or on Fisher test for one compound.....	192
Table V-3. Attractiveness of 10 volatile compounds for <i>Bactrocera cucurbitae</i> female at 2 doses (1 and 5 µl) in olfactometer bioassays.....	194

Listes des publications et communications

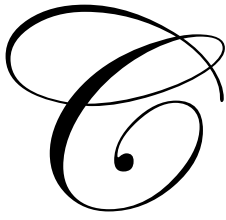
Mes travaux de recherche ont donné lieu à trois publications [P], un chapitre d'ouvrage [Ch], et 3 communications [C] dans des congrès internationaux :

- [P1] **Atiama-Nurbel, T.**, Quilici, S., Boyer, E., Deguine, J. P., Glénac, S. & Bialecki, A.
accepté
parution 2014
Volatile constituents of cucumber: differences between five tropical cultivars. *Chemistry of Natural Compounds*.
- [P2] **Atiama-Nurbel, T.**, Bouly, K., Deguine, J. P., Bialecki, A. & Quilici, S. Factors
soumis (2013)
influencing the response of *Bactrocera cucurbitae* female to host fruit odors. *Physiological Entomology*.
- [P3] **Atiama-Nurbel, T.**, Lignonière A., Müller, L., Deguine, J.P., Bialecki, A. & Quilici, S.
soumis (2014)
Which cucurbit volatiles are most attractive to gravid females of *Bactrocera cucurbitae* (Diptera, Tephritidae)? *Journal of Economic Entomology*.
- [Ch1] Quilici, S., **Atiama-Nurbel, T.** & Brévault, T. Plant odors as fruit fly attractants.
accepté
parution 2014
Trapping tephritid fruit flies: lures, area-wide programs and trade implications. (N. Epsky, E. J. Jang, J. Reyes, T. Shelly and R. Vargas). Springer.
- [C1] **Atiama-Nurbel, T.**, Bouly, K., Boyer E., Bialecki, A., Deguine, J.P. & Quilici, S.
poster
Response of female Melon fly, *Bactrocera cucurbitae* (Diptera, Tephritidae) to volatiles of different cucurbit host plants. 28th meeting of International Society of Chemical Ecology (ISCE 2012), Vilnius, Lithuania (22-26 juillet 2012).
- [C2] **Atiama-Nurbel, T.**, Bialecki, A., Bouly, K., Boyer, E., Lignonière, A., Deguine, J.P. &
poster
Prix de l'ISCE
(travel award)
Quilici, S. Response of the female of *Bactrocera cucurbitae* to host fruit odours and to selected semiochemicals from cucurbit fruits. International Chemical Ecology Conference (ICEC 2013), Melbourne, Australia (19-23 Août 2013).
- [C3] **Atiama-Nurbel, T.**, Bialecki, A., Bouly, K., Boyer, E., Lignonière, A., Deguine, J.P.,
poster
Hoskovec, M., Kalinova, B. & Quilici, S. Host Fruit Odours as Attractants for *Bactrocera cucurbitae* Females. 9th International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance (ISFFEI 2014), Bangkok, Thailand (12-16 Mai 2014).



Introduction générale





Introduction générale

Chez les insectes phytophages, la sélection de la plante-hôte au moment de la ponte, conditionne le succès de la descendance, particulièrement pour les espèces dont les stades larvaires sont peu mobiles. Deux étapes majeures peuvent être distinguées dans le processus de sélection de la plante : la localisation à distance et la reconnaissance au contact.

La localisation à distance constitue une phase essentielle de la stratégie du phytophage, car elle lui permet d'atteindre une zone propice à la découverte de nombreux sites de ponte. Au cours de cette étape, le comportement de recherche met en jeu des stimuli olfactifs et visuels provenant des plantes présentes dans l'agroécosystème. Du fait du grand nombre d'espèces d'importance économique qu'elle renferme, la famille des Tephritidae a souvent été utilisée comme modèle d'étude de ce processus de localisation de l'hôte. Les travaux antérieurs sur plusieurs espèces de Tephritidae sténophages (*Rhagoletis pomonella* (Walsh) et *Neoceratitis cyanescens* (Bezzi)) ont montré la prépondérance des stimuli olfactifs (composés volatils de fruits) dans la localisation à distance des femelles de la plante-hôte. Les stimuli visuels (forme et couleur) jouent au contraire un rôle majeur dans la phase finale de recherche, à proximité du fruit-hôte (Aluja & Prokopy, 1993 ; Brévault & Quilici, 2010b). De ce constat, l'étude de la nature et de l'importance des stimuli olfactifs, c'est à dire des composés volatils émis par la plante-hôte, représente un enjeu scientifique fondamental pour la compréhension de l'interaction insecte-plante.

L'une des espèces de Tephritidae, les plus nuisibles aux cultures maraîchères dans de nombreuses régions du monde (Asie, Afrique et plusieurs îles de l'Océan Pacifique), est *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) (Diptera, Tephritidae) (Dhillon *et al.*, 2005). A La Réunion, les pertes occasionnées par cette espèce sur les cultures de Cucurbitaceae peuvent atteindre 90 % (Ryckewaert *et al.*, 2010). Les dégâts engendrés par la ponte des femelles et le développement des larves dans le fruit entraînent son pourrissement, le rendant ainsi impropre à la consommation. Malgré la grande nuisibilité à l'échelle mondiale de *B. cucurbitae*, les mécanismes de localisation olfactive de ses plantes-hôtes ont été peu étudiés. Pour toutes ces raisons, *B. cucurbitae* constitue le modèle biologique de la présente étude.

La caractérisation des stimuli olfactifs qu'utilisent les femelles de *B. cucurbitae* lors du processus de localisation de leurs fruits-hôtes, constitue la problématique générale de la thèse. Elle répond à deux enjeux distincts :

- Le premier enjeu, est scientifique. La caractérisation de l'émission de stimuli olfactifs par les fruits de Cucurbitaceae et leur attractivité pour les femelles de cette espèce sont indispensables pour contribuer à la compréhension du processus de localisation. En effet, chez plusieurs espèces de Tephritidae, les odeurs de fruits se sont avérées être des stimuli majeurs dans la localisation des sites de ponte. Concernant les femelles de *B. cucurbitae*, les odeurs de plusieurs fruits de Cucurbitaceae se sont révélées attractives : concombre (*Cucumis sativus* L.), margose (*Momordica charantia* L.) et melon (*Cucumis melo* L.) (Miller *et al.*, 2004 ; Piñero *et al.*, 2006). Il est cependant nécessaire d'élucider plus précisément la composition chimique des odeurs de ces fruits et d'étudier l'impact de cette composition sur la réponse des femelles. De telles études restent complexes, car la composition chimique des effluves de fruits peut considérablement changer sous l'influence de paramètres environnementaux ou physiologiques (Negre-Zakharov *et al.*, 2009). Ainsi, on peut se demander si la composition chimique des fruits est modifiée au cours de la maturation et si cela a une influence sur leur attractivité pour les femelles. *B. cucurbitae* a été recensée au total sur près de 125 espèces de plantes réparties en 3 familles (Cucurbitaceae, Passifloraceae et Solanaceae) (Metcalf & Metcalf, 1992). Cependant, à La Réunion, cette espèce est particulièrement inféodée à la famille des Cucurbitaceae : elle y a été recensée sur 16 espèces sauvages et cultivées (Vayssières, 1999). Il serait intéressant de savoir si, au sein de la famille des Cucurbitaceae, il existe des préférences dans l'attraction des femelles pour certaines espèces de fruits-hôtes et dans quelle mesure les composés volatils impliqués dans cette attraction permettent une discrimination efficace des femelles. Ces résultats permettront une meilleure compréhension des mécanismes de reconnaissance de plantes-hôtes sur la base de stimuli olfactifs.
- Le second enjeu correspond à la gestion durable des populations de *B. cucurbitae*. Les méthodes de contrôle de ces populations ont très longtemps reposé sur la lutte chimique. Désormais, il est indispensable de s'orienter vers des méthodes alternatives, économes en intrants, qui résulteraient directement d'une meilleure compréhension de l'écologie des interactions insecte-plante dans l'agroécosystème. A l'heure actuelle, des méthodes de gestion agroécologique des populations sont à la disposition des agriculteurs à La Réunion

(Deguine *et al.*, 2012), utilisant, entre autres, des méthodes biotechniques basées sur la médiation chimique, notamment des paraphéromones[Ⓔ] sexuelles attractives uniquement pour les mâles. Certains composés volatils impliqués dans la localisation des fruits-hôtes à distance par les femelles pourraient constituer une source d'attractifs pour les piéger. Un des avantages à piéger les femelles serait de pouvoir agir directement sur la source des dégâts et de diminuer considérablement le nombre de descendants potentiels. Chez les mouches des fruits, des attractifs basés sur des kairomones de plantes-hôtes ont permis de contrôler certaines espèces, comme *R. pomonella* (Fein *et al.*, 1982 ; Stelinski & Liburd, 2002) ou *Anastrepha* spp. (Cruz-Lopez *et al.*, 2006 ; Gonzalez *et al.*, 2006).

Pour répondre à cette problématique, l'objectif général de ce travail est de caractériser les stimuli olfactifs impliqués dans la localisation des fruits-hôtes de Cucurbitaceae par les femelles de *B. cucurbitae*. Cet objectif général se décline en 5 objectifs spécifiques :

- ① mesurer la réponse des femelles de *B. cucurbitae* aux effluves des fruits de Cucurbitaceae ;
- ② comprendre l'influence des différents paramètres physiologiques qui modulent la réponse des femelles de *B. cucurbitae* aux stimuli olfactifs ;
- ③ caractériser la composition chimique des effluves des fruits de Cucurbitaceae ;
- ④ identifier et hiérarchiser les composés volatils de ces effluves, potentiellement impliqués dans l'attraction olfactive des femelles de *B. cucurbitae* ;
- ⑤ mesurer la réponse des femelles de *B. cucurbitae* aux composés volatils sélectionnés.

Dans le manuscrit, les différents objectifs sont abordés au fil de 5 chapitres suivis d'une discussion générale se proposant d'apporter un regard transversal sur l'ensemble du travail.

- Le premier chapitre fait état d'un bilan des connaissances sur la localisation des plantes-hôtes chez les insectes phytophages. Un focus particulier sur la localisation olfactive et les composés volatils mis en jeu est abordé. Les connaissances sur la bioécologie des Tephritidae et, plus spécifiquement sur *B. cucurbitae*, sont rappelées dans cette synthèse bibliographique.
- Le deuxième chapitre présente les travaux sur la réponse des femelles de *B. cucurbitae* aux effluves de 27 fruits-hôtes de la famille des Cucurbitaceae au cours de leur maturation. Les facteurs endogènes pouvant influencer cette réponse olfactive, ont été évalués et font l'objet d'un article soumis en 2013 à la revue *Physiological Entomology*.
- Le troisième chapitre concerne l'étude de la composition chimique des effluves des 27 fruits de Cucurbitaceae (découpés et *in situ*) au cours de leur maturation. Les analyses chimiques ont fait appel à la micro-extraction sur phase solide et à la chromatographie gazeuse couplée la spectrométrie de masse. Une partie de ces travaux, concernant cinq variétés de concombre, fait l'objet d'un article accepté dans la revue *Chemistry of Natural Compounds* (à paraître en 2014).
- Le quatrième chapitre s'intéresse à la recherche des composés volatils impliqués dans l'attraction des femelles. Cette étude a été conduite au moyen de deux approches : d'une part, l'électroantennographie couplée à la chromatographie gazeuse et, d'autre part, l'analyse statistique multivariée de la relation entre l'attractivité des fruits pour les femelles et leur composition chimique.
- Le cinquième chapitre est consacré à la mesure de l'attractivité d'une sélection de composés volatils préalablement identifiés (Chapitre IV), en olfactomètre à une voie. En premier lieu, l'attractivité des composés seuls a été mesurée pour deux doses (1 et 5µL). En second lieu, les performances de mélanges, basés sur les composés seuls les plus attractifs, sont comparées à celles du concombre frais. Ces travaux font l'objet d'un article soumis en 2014 à la revue *Journal of Economic Entomology*.

Chapitre I

Synthèse bibliographique



Chapitre I - Synthèse bibliographique

I. Ecologie chimique des relations insecte-plante chez les phytophages

I.1 La sélection de l'hôte chez les insectes phytophages

La sélection des plantes hôtes par les insectes phytophages doit être considérée dans un contexte évolutif global (Dicke, 2000). L'équilibre observé aujourd'hui n'est autre que la résultante de l'évolution des interactions plante-insecte. En effet, au fil de l'histoire évolutive, la plante ou l'insecte s'adapte et peut acquérir de nouvelles spécificités morphologiques et/ou sensorielles en réponse à des pressions biotiques ou abiotiques (Schoonhoven *et al.*, 2005). La plante, source de nourriture pour les insectes, a évolué en limitant sa destruction par les phytophages, par la diminution de sa valeur nutritive, par la production de toxines ou de substances répulsives (Vet & Dicke, 1992). Les insectes quant à eux, se sont adaptés par le déploiement de diverses réponses : (i) biochimiques par le développement de mécanismes de détoxification (Yu, 1984 ; Yu & Hsu, 1993), (ii) anatomiques pour assimiler de nouvelles ressources, et (iii) comportementales en développant de nouvelles habitudes alimentaires (Dethier, 1982 ; Monge & Cortesero, 1996). Ainsi ces mécanismes de co-évolution ont conditionné les préférences trophiques des insectes, les conduisant à se spécialiser. Dans le monde des insectes phytophages, 95% des espèces sont spécialistes, c'est-à-dire qu'elles n'exploitent qu'un seul genre ou qu'une seule espèce de plante. On parle d'adaptation à une plante hôte (Jaenike, 1990 ; Via, 1990). Les 5% des espèces restantes sont plus généralistes se partageant entre des espèces oligophages, qui exploitent un nombre limité d'espèces pouvant appartenir à une famille de plantes, et des espèces polyphages qui peuvent se nourrir sur plusieurs, voire de nombreuses familles végétales (Peterson & Denno, 1998).

La sélection de l'habitat dans lequel l'individu spécialisé vivra et se reproduira devient alors cruciale. Cette sélection est généralement opérée par la femelle surtout quand les stades larvaires sont peu mobiles. Un mauvais choix d'habitat entraînerait à la fois des pertes d'énergie considérables et une diminution de la survie de la descendance. Il est donc important de faire le bon choix. De ce fait, la stratégie essai/erreur est mal adaptée à une maximisation de l'exploitation de l'habitat. Estimer *a priori* la qualité de l'habitat et faire un choix, en utilisant au maximum les informations offertes par l'environnement, semble être la stratégie la plus appropriée pour la femelle. Quelles sont donc ces informations offertes par

l'environnement ? Plus précisément, quels sont les stimuli et les mécanismes utilisés par la femelle pour localiser et choisir son site de ponte ?

I.1.1 Les étapes de la sélection de l'hôte

La sélection de l'hôte peut être considérée comme un « comportement de choix » se déroulant en deux phases consécutives majeures (Robert, 1986):

- La localisation à distance de l'hôte (« host searching »)
- La reconnaissance au contact (« host finding »)

La première phase prend fin avec la découverte de l'hôte, et la seconde se termine par l'acceptation (oviposition) ou le rejet de l'hôte. La localisation de l'hôte à distance regroupe toutes les manœuvres spatiales des mouches sur le sol ou dans les airs qui sont influencées par la distribution et les caractéristiques de la végétation. La reconnaissance se réfère à la décision de pondre sur la plante-hôte ou de quitter la plante non-hôte (Visser, 1988). La séquence de sélection d'une plante hôte dépend de l'espèce considérée et fait intervenir différents types d'informations (olfactives, visuelles, mécano-sensorielles et gustatives) à chacun des niveaux (Figure I-1).

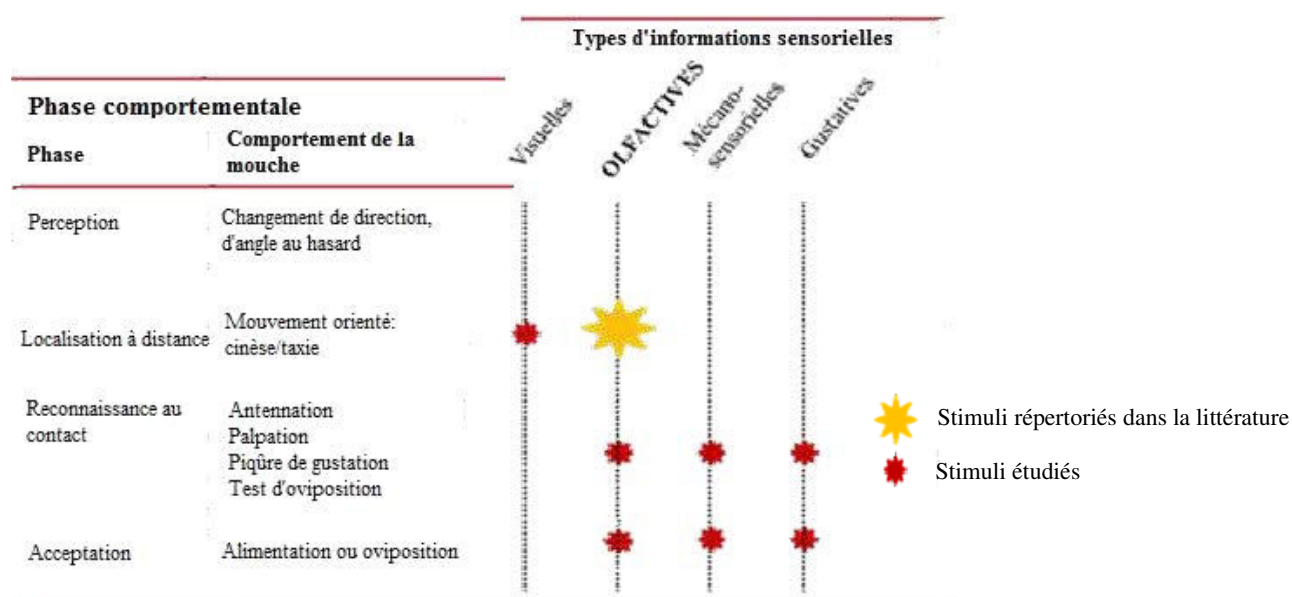


Figure I-1. Séquence générale de sélection d'une plante hôte par les insectes avec les différents types de stimuli impliqués.

Selon Schoonhoven *et al.* (2005), la sélection de la plante-hôte chez les insectes peut être schématiquement décrite comme une séquence de comportements standards prévisibles :

- ① L'insecte n'a pas de contact physique avec la plante et, soit se repose, soit se déplace en marchant ou en volant ;
- ② L'insecte perçoit des signaux (visuels et/ou olfactifs) provenant des plantes ;
- ③ L'insecte répond à ces signaux de telle manière que la distance entre son corps et la plante diminue ;
- ④ La plante est trouvée, c'est-à-dire que l'insecte rentre en contact avec la plante soit en la touchant, soit en s'y posant, soit en y grimpant ;
- ⑤ La surface de la plante est examinée par palpation ;
- ⑥ La plante est dégradée et le contenu des cellules est relâché par des piqûres faites avec l'ovipositeur ;
- ⑦ La plante est acceptée (dépôt des œufs) ou est rejetée (départ de l'insecte).

I.1.2 La première phase : la localisation à distance de la plante

Dans les mécanismes de sélection de l'hôte, les insectes utilisent plusieurs sens : l'odorat, le toucher, le goût et la vision (Bernays & Chapman, 1994). Ces sens sont probablement utilisés par la plupart des insectes à des stades particuliers du processus de sélection de l'hôte, avec un sens prédominant à chacun des stades. Dans cette synthèse, les sens impliqués majoritairement dans la localisation à distance de l'hôte, c'est-à-dire la vision et l'odorat seront plus spécifiquement décrits (Fletcher & Prokopy, 1991 ; Bernays & Chapman, 1994 ; Jang & Light, 1996).

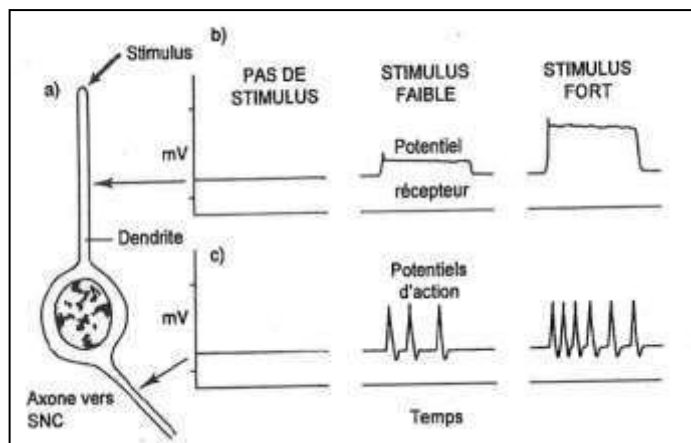


Figure I-2. Anatomie et physiologie du système récepteur.

- a : Unité de base : le neurone, un stimulus approprié entraîne un changement de potentiel de la membrane, le potentiel récepteur ;
- b : Le potentiel récepteur est transformé en potentiels d'action ;
- c : Les potentiels d'action ont une taille constante, mais leur nombre est proportionnel à l'amplitude du potentiel récepteur.

(D'après Bernays & Chapman, 1994)

Ces sens sont commandés par des systèmes sensoriels distincts mais avec un fonctionnement neuronal semblable. En effet, l'unité de base du système sensoriel des insectes est le neurone. Chez les insectes, le corps des cellules sensorielles se situe généralement dans l'épiderme juste sous la cuticule. Du corps de la cellule émerge une sorte de long doigt appelé dendrite^[1], et un axone^[2] sans liaison synaptique est relié au système nerveux central. Un stimulus approprié provoque un changement de potentiel électrique le long de la membrane de la cellule, appelé potentiel récepteur (**Figure I-2**).

L'insecte est capable de différencier la qualité et la quantité d'un stimulus. La différenciation de la qualité du stimulus est possible grâce à la spécialisation des cellules sensorielles qui sont capables de distinguer la nature du stimulus (luminosité, odeur...) et son degré d'intensité. L'intensité du stimulus est corrélée à la magnitude du potentiel récepteur. Un stimulus fort induit un fort potentiel récepteur, alors qu'un stimulus faible cause un faible potentiel récepteur. Les potentiels récepteurs se diffusent lentement dans les membranes des cellules. C'est la production de potentiels d'action au niveau des axones qui permet à l'information de se déplacer rapidement vers le système nerveux et de déclencher la réponse comportementale (Bernays & Chapman, 1994).

Les séquences comportementales lors de la localisation de l'hôte, ont été particulièrement bien étudiées chez les Tephritidae, notamment *Rhagoletis pomonella* Walsh et *Neoceratitis cyaneus* (Bezzi). Ces espèces, ont montré la prépondérance des stimuli olfactifs dans l'orientation à moyenne distance des femelles vers la plante-hôte ou son habitat ; les stimuli visuels jouant au contraire un rôle majeur dans la phase finale de recherche, à proximité du fruit hôte (Aluja, 1993 ; Brévault & Quilici, 2010a, b). L'importance relative de ces deux types de stimuli varie selon les espèces et selon la distance à la plante. Chez beaucoup d'espèces d'insectes on a montré l'existence d'interactions significatives entre l'odeur et la vision de la plante (Schoonhoven *et al.*, 2005).

En fonction de la distance à laquelle se situe la plante-hôte, les stimuli émis par la plante sont perçus par l'insecte selon une séquence d'étapes consécutives. Pour décrire cette séquence comportementale, l'exemple de *R. pomonella*, qui met en jeu la combinaison des stimuli visuels et olfactifs, est exposé ci-après.

Chez la mouche de la pomme, *R. pomonella*, les études ont montré que la femelle détecte l'habitat de l'hôte grâce à l'information olfactive fournie par des composés volatils émis par les fruits. Après l'arrivée sur l'arbre, la localisation des fruits s'effectue surtout à partir des caractéristiques visuelles de l'hôte. A moyenne distance de la plante-hôte (10 m), celle-ci est

perçue par la femelle comme une silhouette en contraste avec le sol. De plus, la haute réflectance du feuillage entre 500-600 nm accentue l'attraction vers celle-ci (Fletcher & Prokopy, 1991). Les propriétés telles que la teinte (longueur d'onde dominante de la lumière réfléchie), la saturation (pureté spectrale de la lumière réfléchie) et la clarté (intensité de la lumière réfléchie) peuvent intervenir dans le choix de la femelle. A proximité de la plante (un mètre ou moins), la discrimination visuelle des fruits repose sur les propriétés telles que la forme, la taille et la couleur du fruit. Lorsque les fruits sont peu visibles ou rares, l'odeur interagit alors avec la vision durant le processus de recherche (Aluja *et al.*, 1993). Chez *R. pomonella* et probablement chez la plupart des Tephritidae, les vols d'arbre en arbre à la recherche des fruits sont diurnes. Les femelles à la recherche d'un site de ponte visitent l'habitat de l'hôte jusqu'à ce qu'elles découvrent un fruit au stade favorable, ou émigrent après un temps critique fixé si la recherche n'a pas été fructueuse. En revanche, la ponte dans un fruit provoque la remise à zéro de l'horloge et une augmentation du temps critique de recherche dans la même région. Ainsi, ce mécanisme détermine la persistance de recherche des femelles dans l'habitat de l'hôte et augmente l'efficacité de la recherche dans un habitat fragmenté (Roitberg *et al.*, 1984).

Dans la suite de cette synthèse, seront présentés uniquement les éléments relatifs à la réception des stimuli olfactifs et à leur importance dans la localisation de l'hôte chez les phytophages.

I.1.2.1 Attraction olfactive

Récepteurs olfactifs

La transmission d'informations par communication chimique (interspécifique) entre les plantes et les phytophages est une forme de médiation chimique. Les antennes des insectes constituent un organe sensoriel important dans la médiation puisqu'elles constituent le siège essentiel de la réception du message olfactif. Les antennes sont des organes mobiles, pourvues de soies innervées de formes variées appelées sensilles, qui sont des micro-organes (ou organules) sensoriels d'origine tégumentaire programmés pour l'olfaction. Les sensilles recouvrent les branches antennaires par milliers et fonctionnent comme des microcapteurs périphériques des molécules odorantes de l'air environnant. Les sensilles sont constituées d'une structure cuticulaire, de neurones et de cellules auxiliaires. La sensille est un système de pores tubulaires (Zacharuk, 1985) qui connecte le milieu extérieur à la lumière sensillaire renfermant les dendrites des neurones sensoriels (deux à trois cellules sensorielles à la base de

chaque sensille) (**Figure I-3**). En coupe transversale, les pores cuticulaires et l'entrée des molécules odorantes sont séparées des cellules nerveuses cibles par un fluide aqueux protecteur, la « lymphe sensillaire ».

Les molécules odorantes captées au travers des pores diffusent dans cette lymphe. Pour la traverser et atteindre les neurones sensoriels, les molécules odorantes se lient à de petites protéines acides (« odorant-binding protein » (OBP)) présentes à de fortes concentrations dans la

lymphe (Picimbon, 2002). Le complexe formé par la molécule odorante et la protéine se fixe alors

sur les sites accepteurs de la dendrite et induisent un signal électrique (potentiel récepteur) dont la somme sur l'ensemble des sensilles provoque une dépolarisation de l'antenne (Visser, 1986). Cette activité électrophysiologique (différence de potentiel) peut être mesurée grâce à l'électroantennographie (EAG), qui consiste à placer une électrode à chaque extrémité de l'antenne afin de mesurer la somme des potentiels récepteurs de l'ensemble des cellules sensorielles de l'antenne (Visser, 1986 ; Agelopoulos *et al.*, 1999).

Chaque sensille répond de façon spécifique à une molécule ou à une famille de molécules, ce qui explique leur grande diversité morphologique. Sur la base de leur spécificité sensorielle et morphologique, on reconnaît trois types de sensilles chez les insectes (Picimbon, 2002) (**Figure I-4**).

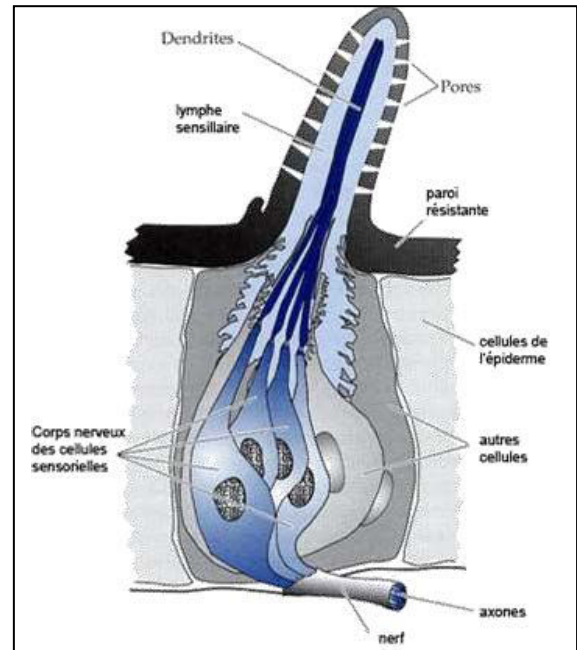


Figure I-3. Structure d'une sensille.

(<http://fourmistpe.free.fr>)

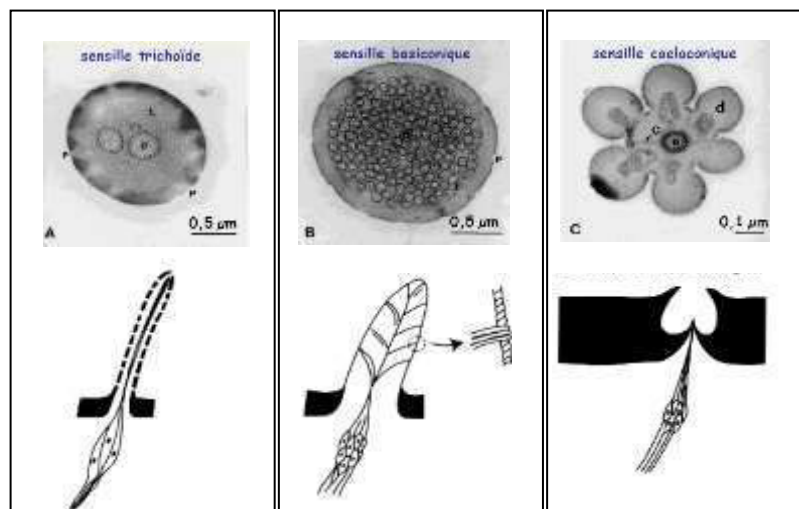


Figure I-4. Différents types de sensilles.

(D'après Picimbon, 2002)

- ① Les sensilles trichodéiques : larges, épaisses et allongées (25-35 μ m), impliquées dans la réception des molécules de phéromones[♀] sexuelles et largement répandues par exemple sur l'antenne des mâles de papillon de nuit ;
- ② Les sensilles basiconiques : plus petites (15-25 μ m), présentes chez les deux sexes d'un grand nombre d'insectes, impliquées dans la reconnaissance de molécules odorantes généralistes (les molécules volatiles de plantes, des œufs, des larves...) ;
- ③ Les sensilles coeloconiques : un cône protégé par un dôme au fond d'une petite dépression.

Importance des composés volatils de plantes

Chaque plante est caractérisée par un bouquet odorant spécifique, c'est-à-dire un ensemble de composés volatils qui peuvent être émis par les parties végétatives, les fruits, les fleurs (Knudsen *et al.*, 2006), ou les racines (Steeghs *et al.*, 2004). Ces composés sont émis d'un point de la plante et se retrouvent dans une sphère de diffusion autour de la plante, leur concentration diminuant avec la distance. L'odeur de la plante est transportée dans un panache d'odeur grâce au vent. Ainsi, l'insecte va utiliser ces composés volatils pour détecter la plante hôte dans le milieu et va parvenir à trouver le centre de cette sphère de diffusion en se dirigeant vers des odeurs de plus en plus concentrées (Bradbury & Vehrencamp, 1998). Les caractéristiques et le rôle des composés volatils dans la médiation chimique seront développés plus précisément dans ce même chapitre, au paragraphe I.2.

I.1.2.2 Orientation

L'orientation des insectes a été particulièrement étudiée dans le cas de la chimio-orientation phéromonale pour la recherche du partenaire sexuel (Bell *et al.*, 1995). Néanmoins, les principes présentés sont proches des stratégies utilisées dans la recherche des plantes-hôtes. La stratégie de recherche comprend une série de tactiques, incluant :

- ① L'initiation (ou prospection), durant laquelle l'insecte cherche ou attend la rencontre avec le stimulus ;
- ② L'orientation, durant laquelle l'insecte se déplace vers la source d'émission du stimulus ;
- ③ L'arrêt, incluant les phases d'arrêt du déplacement ou d'atterrissage ;
- ④ L'étape finale, l'approche vers la ressource (Bell *et al.*, 1995).

Dans les conditions naturelles, les insectes s'orientent et se déplacent vers leur plante-hôte non selon une seule stratégie, mais plutôt grâce à la combinaison de plusieurs (Schoonhoven *et al.*, 2005).

Pendant la prospection, les insectes emploient toutes les tactiques possibles pour augmenter leurs chances d'entrer en contact avec un stimulus. Deux tactiques différentes pour rencontrer le signal peuvent être mises en œuvre par les insectes :

- Le « perching », où ils se positionnent dans une zone optimale et attendent ;
- Le « ranging » où ils se déplacent et recherchent activement dans leur environnement (Jander, 1975).

Le « ranging », est une recherche active de l'hôte qui peut être réalisée soit au hasard, soit par un déplacement rectiligne jusqu'à la découverte de l'information qui fera changer de direction, soit par un déplacement selon un mode complexe comme des cercles réguliers et concentriques. Durant cette prospection, on distingue deux phases, la stimulation d'une part et l'orientation d'autre part (Bernays & Chapman, 1994).

- La stimulation des insectes par l'odeur les fait passer dans un état d'activation. Chez certaines espèces, cette seule stimulation suffit à déclencher le décollage.
- L'orientation prend place une fois en vol. Dans d'autres cas, l'orientation des insectes vers la source d'odeur se réalise alors qu'ils sont au sol.

Les réponses d'orientation peuvent être indirectes (cinèse) ou directes (taxie).

La cinèse correspond à la prospection au hasard comportant des changements indirects d'orientations (Fraenkel & Gunn, 1961 ; Kennedy, 1977). Les insectes peuvent changer leur vitesse de mouvement linéaire (orthocinèse) ou le taux et la fréquence de retournement (klinocinèse). L'intensité des stimuli externes (intensité de la lumière, odeurs de plante, humidité...) et la différence temporelle et spatiale de ceux-ci déterminent l'importance de la réponse des insectes. Ces réponses cinésiques mènent souvent à une recherche intensive restreinte à une petite zone, et à l'arrêt. Elles sont prédominantes à proximité de la plante-hôte et au contact.

La taxie correspond à une réaction de locomotion orientée et obligatoire d'animaux mobiles, déclenchée et entretenue par un agent physique ou chimique externe (lumière, pesanteur, chaleur, son, odeur ...) (Husson, 1968). Lorsque le mouvement est orienté vers la source de stimuli, on parle de taxie positive et lorsqu'il est orienté de manière opposée, de taxie négative. Chez beaucoup d'espèces d'insectes, la vision et/ou l'odeur de la plante jouent un rôle majeur dans les comportements d'orientation (Schoonhoven *et al.*, 2005). A courte distance dans l'air

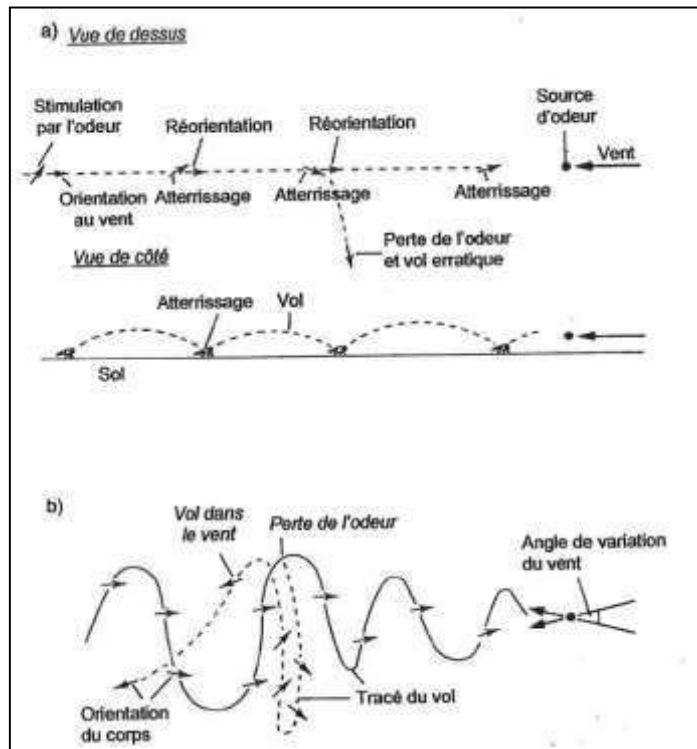


Figure I-5. Réponse de l'insecte à l'odeur d'une plante.

- a : L'insecte au sol s'oriente au vent en utilisant ses mécanorécepteurs lorsqu'il est stimulé par une odeur ;
- b : L'insecte s'oriente contre le vent chargé d'odeur par une anémotaxie optomotrice.

(D'après Bernays & Chapman 1994)

positive. Celle-ci peut être accomplie par la comparaison temporelle d'informations provenant des récepteurs olfactifs (klinotaxie) ou par la comparaison des informations sensorielles provenant simultanément de paires bilatérales de récepteurs olfactifs en essayant d'obtenir une stimulation égale des deux côtés (tropotaxie, orientation symétrique). Un dernier type d'orientation est la ménotaxie, c'est-à-dire le maintien de l'axe du corps dans une direction donnée par conservation d'une certaine distribution de la stimulation sur la surface sensorielle par l'intermédiaire de mouvements compensatoires ; la locomotion qui en résulte se fait à un angle temporairement fixé vers le stimulus (Husson, 1968) (**Figure I-5**).

Un cas particulier de ménotaxie s'observe chez les phytophages, l'anémotaxie. C'est un mécanisme qui consiste à s'orienter par la marche ou le vol contre le vent, on parle d'anémotaxie conditionnée par l'odeur lorsque l'odeur stimule cette orientation.

La taxie est déclenchée par la perception des odeurs qui mettent en jeu la régulation par les neurorécepteurs capables de mesurer la vitesse et la direction du flux d'air (perception anémotactique). Chez diverses espèces, comme *Delia antiqua* (Meigen), les femelles répondent par une anémotaxie conditionnée par l'odeur de l'hôte (McDonald & Borden, 1997). Elles s'orientent, dans un premier temps, dans le vent lorsqu'elles sont stimulées par

une odeur de l'hôte, puis décollent. Elles font des vols de 50 à 150 cm avant d'atterrir, puis se réorientent et décollent à nouveau. Cette série de petits vols les rapproche de la source d'odeur. Si le panache d'odeur est perdu pendant un vol, la mouche reste au sol en attendant une nouvelle stimulation ou décolle dans une direction au hasard. Cette stratégie de progression vers la source par petits vols est qualifiée d'« aim-and-shoot » (Carde, 1996).

Les insectes qui effectuent des vols plus soutenus et doivent parcourir de longues distances ne peuvent utiliser cette stratégie pour détecter la source d'odeur. Une fois en vol, les insectes sont entraînés par le vent. Même s'ils peuvent contrôler leur propre mouvement grâce à des récepteurs appropriés, ils ne peuvent pas déterminer la direction de la masse d'air dans laquelle ils évoluent. La vision intervient alors dans l'appréhension de son déplacement par rapport au sol (Kennedy, 1986). L'utilisation d'images visuelles pour maintenir l'orientation est appelée « réaction optomotrice ». L'insecte est capable d'augmenter sa vitesse pour dépasser celle du vent et maintenir plus ou moins constante sa progression, matérialisée par le défilement des repères visuels au sol. La direction instantanée du vent et l'axe du panache d'odeur coïncidant rarement, l'insecte doit être capable de détecter l'odeur en plein vol (Murlis *et al.*, 1992). Un vol en zigzags (Kennedy, 1983) utilisant le mécanisme de « counterturning », lui permet d'entrer à nouveau en contact avec le panache d'odeurs (Willis & Baker, 1984).

I.1.3 La seconde phase : la reconnaissance au contact - l'acceptation de la plante

Dans sa phase de recherche à distance de l'hôte, l'insecte se rapproche de la source d'odeurs jusqu'à un arrêt soudain de sa locomotion à proximité de la plante-hôte. Il restreint ensuite ses mouvements dans une petite zone autour de la plante ; par exemple, un insecte volant après un premier bref atterrissage sur une feuille de la plante hôte peut décoller à nouveau pour se poser sur la même feuille ou sur une feuille voisine. Une fois que l'insecte a touché la plante, il entre dans la phase dite de « contact ». Cette phase consiste en une série de comportements qui lui permet d'évaluer les caractéristiques physiques et chimiques de la plante non perceptibles à distance. Pour cela, en plus de ces récepteurs visuels, les récepteurs tactiles et olfactifs sur les antennes, les pièces buccales, les tarsi et l'ovipositeur sont utilisés pour déterminer les caractéristiques physiques et chimiques du fruit (Fletcher & Prokopy, 1991).

Pendant la phase de contact, des évaluations intermittentes sont réalisées au niveau de la surface de la plante, soit par des érafllements et des percussions avec les tarsi, soit par antennation, soit par palpation et frottement de l'ovipositeur (Schoonhoven *et al.*, 2005). Ces

mouvements sont des réponses directes au contact avec les stimulations physiques et chimiques produites par les parties végétatives (principalement les feuilles) et les fruits de la plante-hôte. La morphologie et la texture de la surface des feuilles influencent le comportement des femelles. La présence de trichomes et de cire, l'épaisseur de la feuille, la dureté, la composition en silice sont des facteurs importants dans le choix des plantes à très courte distance. De plus, les composés volatils qui se retrouvent à de fortes concentrations dans la couche d'air superficielle (1 ou 2 mm) au-dessus des feuilles affectent le comportement des insectes (Ahmad, 1982 ; Hurter *et al.*, 1999). En ce qui concerne le fruit, lorsque la femelle s'y pose, elle l'explore en marchant autour de sa surface en prenant également en compte de nombreux facteurs incluant la forme, la taille, la couleur, la texture de la surface, l'odeur ainsi que d'autres stimuli chimiques laissés lors de précédentes ovipositions par des femelles de la même espèce ou d'autres espèces (Fletcher & Prokopy, 1991). Quand les informations sensorielles recueillies pendant l'évaluation au contact sont jugées positives par le système nerveux central, l'acceptation, décision finale du processus de sélection de l'hôte, est confirmée et l'oviposition peut démarrer. L'acceptation du substrat d'oviposition se manifeste par le dépôt d'un ou plusieurs œufs, dépendant du potentiel de fécondité de l'espèce. De plus, la quantité d'œufs pondus est très variable et dépend non seulement des résultats de l'évaluation sensorielle mais de nombreux autres facteurs pouvant influencer la réponse comportementale.

I.2 Médiation chimique au cours de la localisation de plantes-hôtes

Dans cette partie, un rappel sur la médiation chimique (écologie chimique) sera tout d'abord présenté. Puis, l'étude comportementale de la réponse des insectes aux substances allélochimiques sera développée. Enfin, l'exposé se concentrera plus particulièrement sur la réponse des phytophages à un type de médiateur chimique : les kairomones de plantes-hôtes.

I.2.1 Quelques rappels sur la médiation chimique

Il est utile de définir les termes employés pour caractériser les substances chimiques émises par la plante ou les insectes afin de distinguer les rôles respectifs de ces composés secondaires. Le terme « sémiochimique » caractérise de manière générale les substances chimiques, médiateurs des interactions entre organismes (Law & Regnier, 1971). Ces stimuli sont groupés en deux catégories distinctes : les phéromones et les substances allélochimiques selon que les interactions sont respectivement intra- ou interspécifiques (**Figure I-6**).

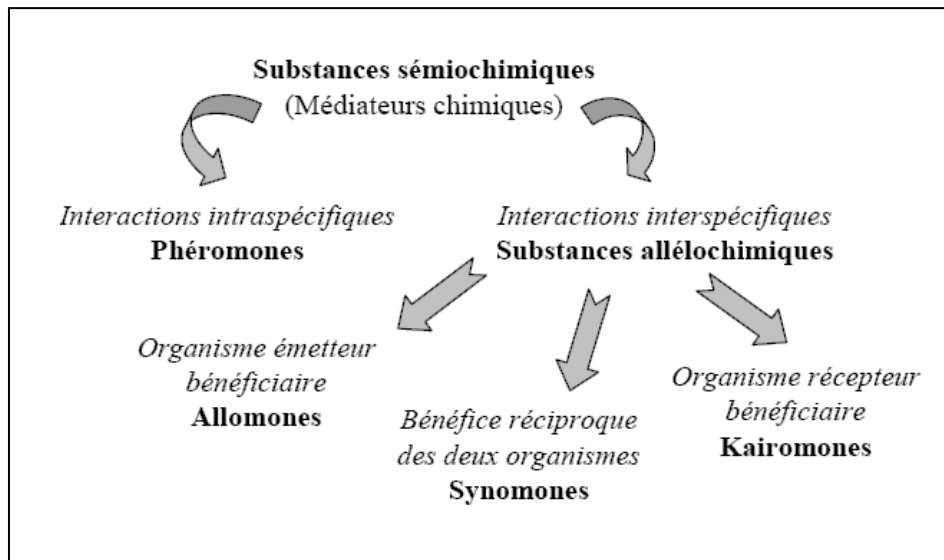


Figure I-6. Les différentes catégories de médiateurs chimiques.

(D'après Brossut (1996))

Les substances allélochimiques (Whittaker, 1970 ; Nordlund & Lewis, 1976) sont classées en plusieurs catégories :

- Les **allomones** sont des substances produites ou acquises par un organisme et qui induisent chez l'espèce réceptrice une réponse comportementale ou physiologique favorable à l'organisme émetteur et non à l'individu récepteur.
- Au contraire, les **kairomones** sont bénéfiques au récepteur du stimulus et non à l'émetteur. Lorsque le bénéfice du médiateur chimique n'est pas précisément déterminé, comme c'est le cas dans les interactions hôte-parasite ou proie-prédateur, le terme allélochimique est généralement préféré. Certaines substances stimulent la nutrition ou l'oviposition d'un nombre limité d'espèces de phytophages sur une plante et fonctionnent également comme répulsif de nombreuses autres espèces ravageurs de cette plante. Si la substance joue le rôle de stimulant, c'est une kairomone. Si elle joue le rôle de répulsif, c'est une allomone.
- Le terme **synomone** est quant à lui utilisé lorsque le médiateur chimique est responsable d'interactions mutuelles. L'effet favorable de cette substance se traduit chez l'émetteur et le récepteur. C'est notamment le cas dans les relations symbiotiques.

Les stimuli olfactifs sont considérés comme ayant une influence sur les déplacements des insectes dès lors qu'ils altèrent leur mouvement de départ. Les médiateurs chimiques peuvent être regroupés selon les réponses comportementales qu'ils engendrent chez les insectes

(Dethier *et al.*, 1960). Ils peuvent avoir un effet favorisant le mouvement vers la source (« engageant ») ou un effet de mouvement loin de la source (« disengageant ») (Miller *et al.*, 2009).

Dans le but de trouver des substances attractives pour le piégeage des insectes nuisibles, une grande majorité des études a été réalisée sur les composés permettant un mouvement orienté vers la source, soit des composés attractifs. Dans les relations phytophages-plantes, ces composés attractifs sont très souvent des kairomones puisqu'il s'agit de composés émis naturellement par la plante qui seront détectés et utilisés par le ravageur pour localiser celle-ci dans l'environnement.

Deux hypothèses ont été émises par Visser (1986) quant à la perception de composés volatils de plantes par les insectes. La première hypothèse selon laquelle la reconnaissance de la plante se fait par la présence de composés volatils hautement spécifiques à celle-ci n'a été démontrée que dans peu d'études et uniquement chez des insectes spécialistes de Brassicales comme le puceron du chou *Brevicoryne brassicae* (L.) ou le charançon des graines de chou *Ceutorhynchus assimilis* Payk. La seconde hypothèse avance que la spécificité de l'odeur de la plante-hôte est due à un mélange de composés volatils généralistes répartis selon un ratio bien spécifique à chaque espèce de plante. De nombreuses études électrophysiologiques ont permis de corroborer cette dernière hypothèse, notamment du fait qu'un grand nombre de phytophages répondent aux odeurs généralistes (Bruce *et al.*, 2005) et que diverses espèces répondent de manière différentielle à des mélanges dans lesquels les ratios de composés volatils généralistes varient (Visser & Avé, 1978 ; Thiéry & Marion-Poll, 1998 ; Fraser *et al.*, 2003 ; Natale *et al.*, 2003).

I.2.2 Etude des réponses comportementales aux substances allélochimiques

La procédure classique d'analyse de la médiation chimique entre une plante et un insecte passe par plusieurs étapes.

I.2.2.1. Etape 1 : Extraction et identification des composés volatils

L'extraction du message olfactif est réalisée par des techniques de collecte dites en espace de tête ou « headspace » (*cf.* chapitre I, partie II.5.1). La plante est placée dans un espace clos et hermétique (sous une cloche) afin de conserver l'ensemble des composés émis, ces composés restant en suspension dans l'espace de tête, qui est la partie supérieure comprise entre la plante et le haut de la cloche. Au sein de cet espace de tête plusieurs techniques permettent de

récolter les volatils (headspace statique ou dynamique) (Papet *et al.*, 2010). Actuellement, l'une des méthodes les plus utilisées est la méthode de microextraction en phase solide (SPME) (Pawliszyn, 2000) et développée par Supelco qui consiste en l'absorption et/ou adsorption[☞] des composés volatils sur une fibre en silice placée à l'intérieur d'une aiguille creuse amovible, suivie d'une désorption thermique et d'une analyse par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse afin d'identifier les composés volatils émis par la plante.

I.2.2.2. Etape 2 : Recensement des composés détectés par l'insecte

Afin de recenser les composés engendrant une réponse des insectes, les méthodes d'électroantennographie (EAG), ou d'observation visuelle des comportements peuvent être utilisées. L'électroantennographie couplée à la chromatographie gazeuse (CG-EAG) est de plus en plus utilisée, car elle permet de déterminer précisément quel composé engendre une réponse électroantennographique de l'insecte (**Figure I-7**).

En effet, le mélange de composés volatils (odeur complète d'une plante) est injecté dans le chromatographe qui le sépare en ses différents composés et les présente individuellement à l'insecte, dont les réponses sont enregistrées grâce à l'électroantennographe (Bruce *et al.*, 2005). Les composés déclenchant une réponse électroantennographique sont des composés détectés par l'antenne de l'insecte, mais aucune conclusion quant à leur caractère attractif ou répulsif ne peut être déduite à partir de ces études en CG-EAD. En revanche, l'avantage non négligeable de cette technique est le screening rapide des composés. En effet, dans le cas des études sur les effluves de plantes qui sont très complexes, la détection des composés d'intérêt est grandement facilitée.

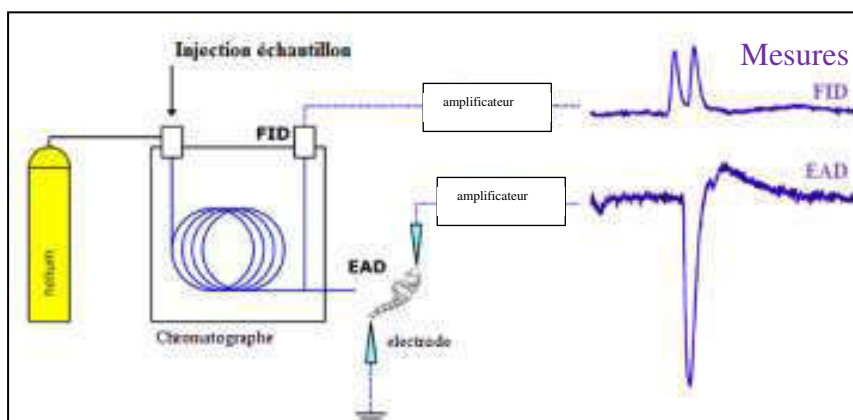


Figure I-7. La chromatographie gazeuse couplée à l'électroantennographie.
EAD : détecteur de l'électroantennographe ; FID : détecteur à ionisation de flamme.

D'autres techniques consistant à présenter les odeurs dans des structures appropriées à la diffusion des odeurs (tunnel de vol, olfactomètre^[1]) permettent d'observer les comportements (orientation, mouvement, vitesse...) des insectes en présence de ces odeurs complexes. L'avantage de ces techniques est qu'elles permettent d'observer des comportements comme l'attraction et la répulsion vis-à-vis d'un mélange complexe mais elles ne permettent pas d'identifier les composés particulièrement impliqués dans ces comportements.

I.2.2.3. Etape 3 : Réalisation de tests comportementaux avec un mélange synthétique

Il s'agit de réaliser des mélanges à partir des composés synthétiques isolés (sélectionnés grâce aux deux premières étapes) selon différents ratios, de les présenter aux insectes et d'analyser leur comportement face à ces mélanges dans des structures comme le tunnel de vol, l'olfactomètre ou même dans des cages de comportement ou au champ.

I.2.3 Les kairomones en protection des cultures

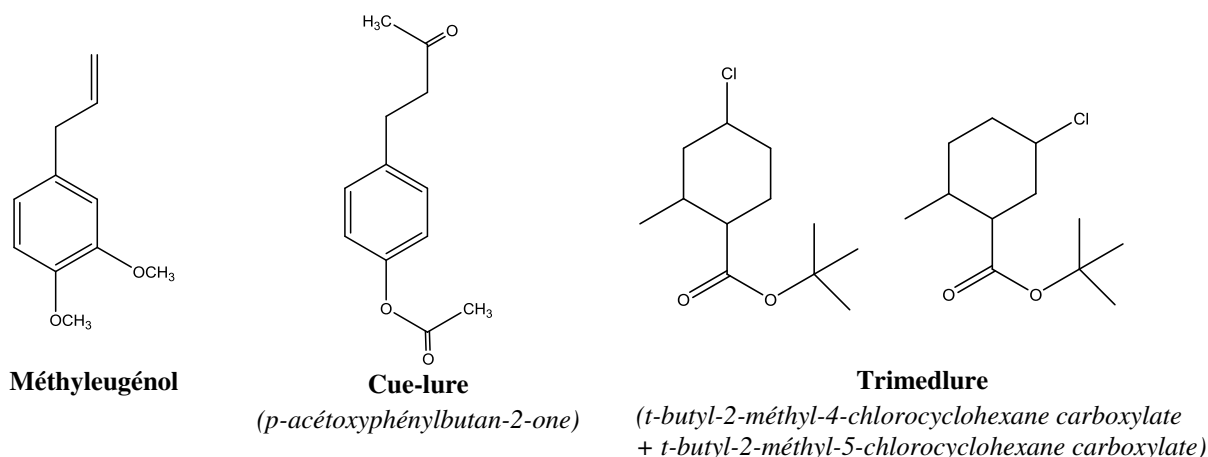
La gestion des comportements contrôlés par la communication chimique, au profit de la production agricole, est une des solutions qui ont fait l'objet de nombreuses études au cours des quarante dernières années. Dans les études de la médiation chimique, à des fins de protection des cultures, les phéromones font l'objet d'une majeure partie des études. Les travaux sur les substances allélochimiques et plus particulièrement les kairomones, sont en revanche peu nombreux.

Quelques exemples d'études sur des kairomones, jugés pertinents dans le cadre de cette thèse seront présentés ci-après : en premier lieu, l'exemple d'étude des kairomones de plantes-hôtes pour le cas particulier de *Rhagoletis pomonella* : en second lieu, le cas de kairomones de Cucurbitaceae, étudiées avec d'autres phytophages.

I.2.3.1 Des kairomones pour piéger les Tephritidae

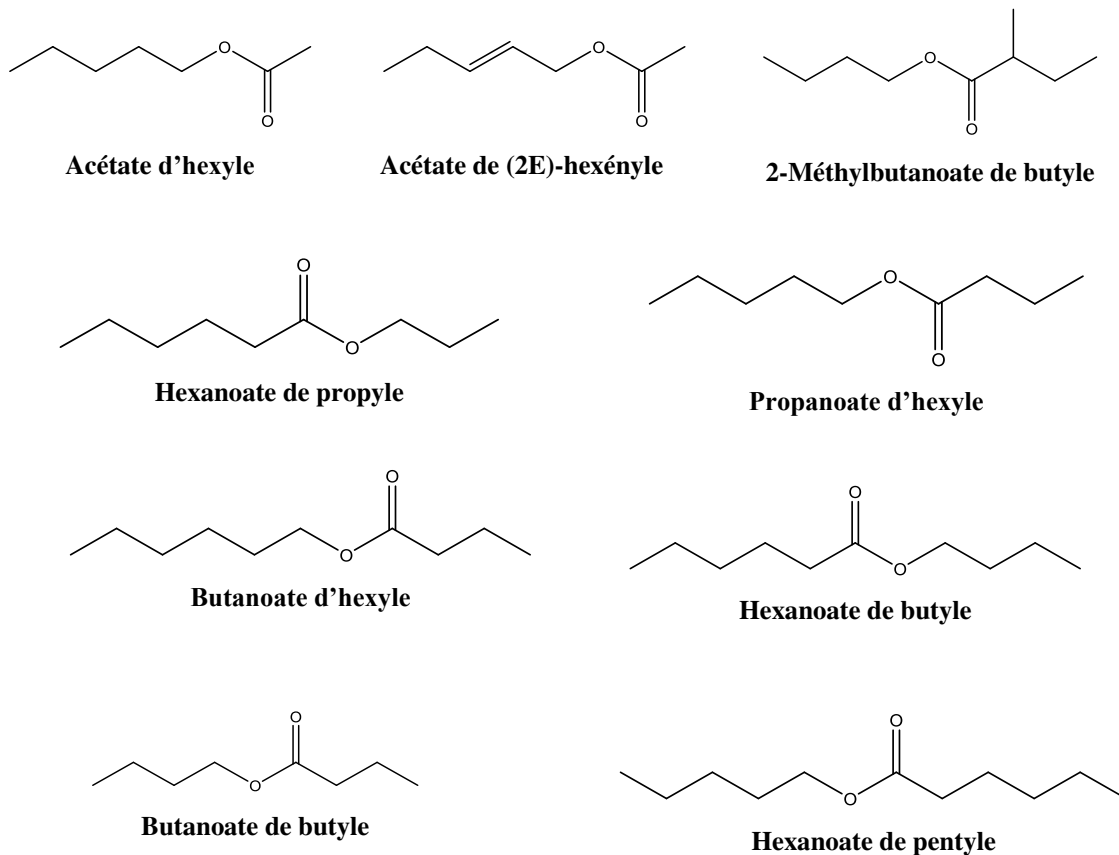
Pour le piégeage des mâles de mouches des fruits, les paraphéromones^[1] sont largement utilisées (méthyleugénol, cue-lure, trimedlure). La recherche de kairomones a été particulièrement développée pour les espèces pour lesquelles aucune paraphéromone n'était disponible pour le piégeage des mâles. L'étude des kairomones s'est avérée ainsi importante en vue du piégeage des femelles de toutes les espèces. Pour la majorité des femelles, aucun attractif puissant n'est connu excepté pour les *Ceratitis* spp.. Les mâles et particulièrement les femelles de *Ceratitis* spp. sont attirés par le « 3-lures » (Heath *et al.*, 1996). Les seuls

attractifs connus pour la plupart des femelles de Tephritidae restent les attractifs à base de protéines hydrolysées ou de sucres fermentés, qui montrent des limites (peu de puissance, durée de vie limitée au champ, attraction d'espèces autres que l'espèce-cible) (Jang & Light, 1996). L'enjeu est de trouver de puissants attractifs pour les femelles, spécifiques et avec une longue durée de vie au terrain en vue de piéger en masse les femelles et de réduire les dégâts qu'elles causent (Jacobson *et al.*, 1971). Les kairomones apparaissent ainsi comme une source prometteuse d'attractifs, notamment celles émises par les fruits-hôtes car une réelle préférence pour les composés volatils de fruits-hôtes a été démontrée chez plusieurs espèces de Tephritidae (Jang & Light, 1996). La majeure partie des investigations dans ce domaine s'est focalisée sur des espèces oligophages (i.e. *Rhagoletis* spp.), pour lesquelles la découverte de composés volatils spécifiques puissants est plus probable que chez des espèces polyphages. Une synthèse des travaux effectués sur *Rhagoletis pomonella*, l'une des espèces oligophages les plus étudiées, est présentée ci-après.



Rhagoletis pomonella constitue l'un des modèles biologiques les plus étudiés et pour lequel les études ont abouti au développement de systèmes de piégeage fonctionnels pour les femelles à base d'odeur de fruits-hôtes (Reissig *et al.*, 1985 ; Jones & Davis, 1989 ; Agnello *et al.*, 1990 ; Nojima *et al.*, 2003 ; Cha *et al.*, 2008). L'association des kairomones de plantes avec des stimuli visuels s'est avérée importante dans le processus de sélection de la plante-hôte chez cette espèce. Des premières études en vergers ont montré que les femelles sexuellement matures et les mâles de cette espèce étaient fortement attirés par des odeurs de pommes mûres comparées à celles de pommes immatures et de fruits non-hôtes (Prokopy & Bush, 1973 ; Reissig, 1974). Suite à des analyses chimiques des odeurs de pommes mûres, plusieurs composés ont été identifiés : l'acétate d'hexyle, l'acétate de 2(*E*)-hexényle, le 2-méthylbutanoate de butyle, l'hexanoate de propyle, le propanoate d'hexyle, l'hexanoate de butyle, et le butanoate d'hexyle dans un ratio de 35:2:8:12:5:28:10. Les substances

synthétiques de ces composés et l'extrait naturel ont déclenché des réponses comportementales (tunnel de vol) et électroantennographiques similaires mais aucun des composés synthétiques ou composants naturels n'a induit une réponse complète quand il était présenté individuellement (Fein *et al.*, 1982).

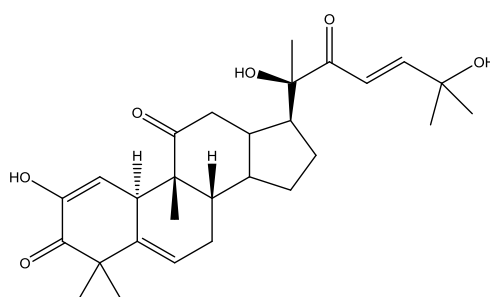


Différentes études associant des composés ou des mélanges synthétiques avec des sphères colorées ont montré que le taux de capture était particulièrement amélioré grâce à la combinaison des stimuli visuels et olfactifs (Reissig *et al.*, 1982 ; Reissig *et al.*, 1985 ; AliNiazee *et al.*, 1987 ; Agnello *et al.*, 1990). Les modalités d'utilisation de pièges au sein des vergers ont été optimisées avec la mise en place de périmètres de capture (arbres avec des fruits matures ou avec les variétés les plus sensibles) dans lesquels les pièges visuels avec mélanges synthétiques doivent être placés ; alors que hors de ces périmètres, des sphères engluées sont suffisantes (Bostanian *et al.*, 1999 ; Prokopy *et al.*, 2000 ; Bostanian & Racette, 2001 ; Rull & Prokopy, 2005). Zhang *et al.* (1999) utilisant la SPME et la CG-EAD ont identifié un mélange à 5 composés incluant trois composés du précédent mélange (le butanoate d'hexyle, l'hexanoate de butyle et le propanoate d'hexyle) et deux nouveaux composés (le butanoate de butyle, et l'hexanoate de pentyle) dans un ratio de 44:4:10:37:5. Dans des tests de choix en tunnel de vol, en comparaison avec des sphères engluées sans odeur, le nouveau mélange à 5 composés s'est révélé significativement plus attractif que le

précèdent mélange à 7 composés et que l'hexanoate de butyle seul (Zhang *et al.*, 1999). L'association des sphères avec l'odeur synthétique de fruit et des odeurs de protéines (carbonate d'ammonium) a longtemps été utilisée pour attirer *R. pomonella* (Duan & Prokopy, 1992 ; Rull & Prokopy, 2000 ; Stelinski & Liburd, 2002 ; Prokopy *et al.*, 2005). *Rhagoletis pomonella* reste un modèle intéressant à étudier notamment du fait de la récente spéciation sympatrique dans la zone nord-est des Etats-Unis due à une extension de la gamme d'hôtes à cause des introductions de nouvelles espèces de Rosacées. Les systèmes de piégeage utilisés deviennent inefficaces pour ces populations dont le comportement de sélection se modifie. L'étude de la réponse de ces différentes sous-populations est donc très intéressante d'un point de vue écologique mais aussi dans le but d'adapter les systèmes de piégeage.

I.2.3.2 Des kairomones de Cucurbitaceae chez les insectes phytophages

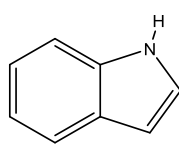
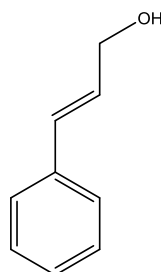
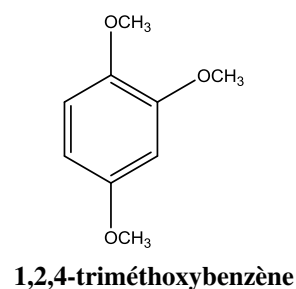
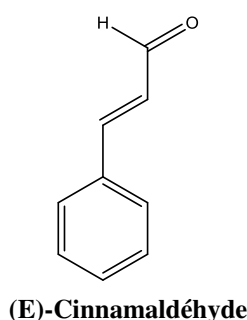
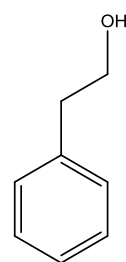
Les chrysomèles rayées du concombre (*Acalymma* spp. et *Diabrotica* spp.) sont des ravageurs importants des Cucurbitaceae, occasionnant des dégâts sur le concombre, le melon, la courge et la citrouille (Tallamy & Krischik, 1989 ; Stephenson *et al.*, 2004 ; Du *et al.*, 2008). La chrysomèle est attirée par l'odeur de toxines produites par les feuilles et les organes des Cucurbitaceae, les cucurbitacines (triterpènes tétracycliques oxygénés). Les cucurbitacines sont toxiques pour la plupart des phytophages, mais dans ce cas précis, suite à une longue co-évolution, l'insecte a acquis la capacité de s'en nourrir et de les utiliser lui-même pour se défendre contre ses ennemis naturels (Eben *et al.*, 1997 ; Du *et al.*, 2008). Ces composés sont ainsi devenus des kairomones pour la chrysomèle (Eben *et al.*, 1997).



Exemple de cucurbitacine
(Responsable de l'amertume du concombre)

Ces insectes sont également attirés à une grande distance par les composés volatils émis par les fleurs de Cucurbitaceae. Diverses études ont montré qu'au moins 10 des composés volatils émis par les fleurs de potiron (*Cucurbita maxima* D.) sont des kairomones agissant sur les deux sexes des diabroticites (Coleoptera: Chrysomelidae) (Metcalf & Lampman, 1989). La

plupart de ces kairomones sont des phénylpropanoïdes, comme l'indole, qui est le principal responsable de l'odeur des fleurs et de l'attraction des chrysomèles *D. v. virgifera* (Leconte) et *A. vittatum* (F.) (Andersen & Metcalf, 1986 ; Metcalf *et al.*, 1995). En revanche, pour *D. barberi* (Smith et Lawrence) ou *D. undecimpunctata howardi* (Barber), l'indole est attractif lorsqu'il est couplé avec des composés volatils de courges comme le 1,2,4-triméthoxybenzène et le (*E*)-cinnamaldéhyde (Metcalf & Lampman 1991). Le mélange de ces trois composés représente une odeur simplifiée de fleurs de Cucurbitaceae et est fortement attractif pour toutes les espèces de chrysomèles du concombre. Les kairomones des fleurs de Cucurbitaceae les plus attractives pour ces dernières sont donc l'indole, le cinnamaldéhyde, l'alcool cinnamylique et le phényléthanol (Metcalf & Lampman 1991).

**Indole****Alcool cinnamylique****1,2,4-triméthoxybenzène****(E)-Cinnamaldéhyde****2-Phényléthanol**

I.3 Facteurs influençant la réponse comportementale des insectes en recherche de plantes-hôtes

La réponse des insectes phytophages face à la sélection de leur plante-hôte peut être modulée par des facteurs externes mais aussi endogènes, qui font que dans un même contexte informationnel, la réponse comportementale ne sera pas identique pour tous les individus (Bell, 1990). Ces facteurs peuvent agir comme des déclencheurs (activateur ou inhibiteur) de comportements ou des régulateurs (diminution de la vitesse de vol...). La prise en compte de ces facteurs dans les études d'écologie chimique est particulièrement importante.

Les facteurs exogènes qui peuvent être abiotiques (vent, température, lumière) et biotiques (ressources, compétiteurs) mais aussi les facteurs endogènes (rythme biologique, âge et maturation ovarienne, état nutritionnel et expérience) sont présentés ci-après.

I.3.1 Facteurs exogènes

I.3.1.1 Facteurs abiotiques

Vent

La vitesse du vent influence la réponse des insectes durant leur phase de recherche de la plante-hôte. Tout d'abord, si le vent excède la vitesse maximale supportée par l'insecte, sa capacité à réaliser un vol orienté contre le vent (vers l'odeur) est considérablement diminuée. *Rhagoletis pomonella* montre une efficacité de recherche d'hôte significativement diminuée avec un vent supérieur à 2 m.s⁻¹ (Aluja *et al.*, 1993). En outre, le vent affecte la diffusion et la structure du panache d'odeur émis par les plantes (Gibson & Torr, 1999).

Température et lumière

La température et la luminosité influencent directement le comportement des insectes phytophages. Beaucoup d'espèces montrent des comportements leur permettant d'optimiser la température de leur corps, en s'exposant à un maximum de radiations quand la température est basse, et en se déplaçant dans des zones à l'ombre ou juste au-dessus du sol quand elle est élevée. Ces activités conditionnent ainsi la disponibilité en plantes-hôtes (Bernays & Chapman, 1994).

I.3.1.2 Facteurs biotiques

Ressources

L'utilisation des ressources par les insectes phytophages est influencée par la variabilité de leur distribution, de leur disponibilité et de leur qualité (Chew, 1977). Beaucoup d'espèces, surtout celles qui possèdent un large spectre d'hôte, doivent trouver des ressources pour l'oviposition dans des habitats disparates, comme des patches d'arbres tropicaux, des forêts d'arbres caduques, de grands vergers en monoculture, des vergers en mélange, ou même des jardins (Sivinski *et al.*, 2004). La distance entre les patches d'hôtes peut également varier considérablement (Aluja & Prokopy, 1993), notamment dans les habitats fragmentés qui présentent des mélanges de plantes-hôtes et non-hôtes. Ces plantes non-hôtes peuvent émettre des effluves qui, soit sont répulsifs, soit masquent les odeurs des plantes-hôtes, perturbant ainsi les mécanismes de localisation des insectes (Thiéry & Visser, 1987). A plus petite échelle, l'insecte doit agir selon la variabilité au sein même de la plante due à la distribution

non homogène des fruits et des microclimats favorables (Messina, 1989). La disponibilité des plantes-hôtes génère un deuxième type de variabilité de la ressource. Finalement, les composants de la qualité d'hôte comme la taille du fruit, la couleur et le degré de maturité, sont des facteurs déterminants dans le choix du site d'oviposition.

Interactions avec d'autres individus

Chez certains phytophages, l'occupation de l'hôte par un ou plusieurs individus de la même espèce, d'autres espèces herbivores, des ennemis naturels ou des microorganismes, est reconnue par les femelles pondeuses au moyen de stimuli chimiques et visuels qui inhibent la ponte et engendrent sa dispersion. La forme, la couleur des œufs ou des larves renseignent les femelles de certains papillons sur la présence de congénères et empêchent la ponte. La vue peut ainsi permettre une reconnaissance de la présence de congénères mais son action est souvent couplée à l'olfaction (Robert, 1986). La reconnaissance olfactive de congénères fait intervenir des substances chimiques pouvant être d'origine végétale (allomones de la plante-hôte), ou synthétisées par le congénère au stade adulte ou larvaire (phéromones). L'utilisation d'allomones répulsives issues de plante peut être illustrée par le cas de *Bactrocera oleae* (Gmelin) (Diptera, Tephritidae) qui après avoir déposé sa ponte, aspire le jus qui exsude du trou de ponte et le répand sur le fruit. Ce jus contient des composés qui masquent les kairomones de l'olive et inhibent de nouvelles pontes (Prokopy & Haniotakis, 1975). La protection est efficace pendant le développement de la jeune larve. Des femelles d'espèces phytophages peuvent émettre une phéromone de marquage qui signale aux congénères la présence d'une ponte : le phénomène a été découvert pour la première fois chez la mouche de la pomme *R. pomonella* par Prokopy et son équipe (Prokopy, 1972). Après la ponte, la femelle, au cours d'une phase de « danse », frotte l'ovipositeur sur le fruit et dépose une phéromone de marquage qui inhibe la ponte et éloigne les congénères. La durée d'action est de quelques jours pendant lesquels la larve du 1^{er} stade se développe, puis les femelles détectent la présence des larves par des composés exhalés à travers les lésions du tégument occasionnées par les asticots âgés (Robert, 1986). La phéromone soluble dans l'eau est produite au niveau de l'intestin moyen et postérieur et est émise par les fèces et par l'ovipositeur (Prokopy *et al.*, 1982). La conséquence est le dépôt d'un seul œuf par fruit et une répartition uniforme des œufs dans les arbres (Cameron & Morrison, 1974), les vols de dispersion des femelles allant jusqu'à 1000 m (Roitberg *et al.*, 1984). La quantité de phéromones déposée est positivement corrélée à la taille du fruit (Averill & Prokopy, 1987).

I.3.2 Facteurs endogènes

I.3.2.1 Physiologie

L'état physiologique interne d'un animal, qui affecte son comportement de recherche, dépend de nombreux facteurs comme la motivation, le rythme biologique, l'âge, la maturité sexuelle, l'état nutritionnel, etc.

Rythme biologique

De nombreux insectes obéissent à un rythme biologique c'est-à-dire à une séparation temporelle de leurs activités de recherche s'exerçant à l'échelle d'une journée et/ou de plusieurs jours. Cette séparation influence la réponse comportementale de l'insecte selon la phase dans laquelle il se trouve au moment de la perception du stimulus. Barton Browne (1993) a suggéré deux mécanismes, agissant séparément ou en combinaison, pour expliquer la séquence comportementale échelonnée dans le temps. Tout d'abord, cette séquence de comportement peut être induite par un rythme circadien interne. Pour l'autre mécanisme, la priorité donnée à un comportement serait contrebalancée par la récente acquisition de la ressource associée ou par le résultat de la performance de ce comportement, permettant donc l'émergence d'un nouvel ordre de priorité favorisant ainsi un nouveau comportement.

Age et maturation ovarienne

Dans la recherche de site d'oviposition, le comportement des femelles est conditionné par leur âge. Celui-ci s'accompagne de changements physiologiques comme le développement des ovaires et la production d'œufs. Cette maturation sexuelle est directement reliée à la capacité des femelles à répondre à des stimuli émis par la plante-hôte. Chez *Aedes aegypti* (L.) (Diptera, Culicidae), la maturation des ovaires initie une chaîne neuro-hormonale qui rendrait les femelles réceptives aux stimuli associés au site de ponte (Klowden, 1990). Chez *R. pomonella*, l'âge des femelles affecte significativement la probabilité de découverte d'un fruit et le temps mis pour le localiser (Duan & Prokopy, 1994).

Chez certaines femelles, la charge en œufs influence la sélection de la plante-hôte. Les facteurs physiologiques mis en jeu ne sont pas précisément connus, mais il est suggéré que la distension abdominale causée par cette charge en œufs trop importante pourrait perturber le comportement des femelles. En effet, chez les femelles des espèces des genres *Dacus*, *Rhagoletis*, *Delia* et *Liriomyza* présentant une charge en œufs trop importante, une réduction

de la sélectivité vis-à-vis de l'hôte a été démontrée, de même que chez *R. pomonella*, on peut observer des pontes dans des fruits marqués par des phéromones de marquage (Bernays & Chapman, 1994).

Etat nutritionnel

De manière générale, l'état nutritionnel et le temps passé depuis la dernière prise de nourriture constituent des éléments importants de l'état physiologique de l'insecte pouvant altérer son comportement de recherche de l'hôte. Un insecte privé de nourriture aura une motivation importante à engager des comportements de recherche (Visser, 1986 ; Bell, 1990 ; Barton Browne, 1993) et plus le temps de privation augmente, moins l'insecte devient sélectif dans son choix de l'hôte. Les jeunes femelles qui n'ont pas encore acquis les nutriments nécessaires à la maturation ovarienne vont essayer d'obtenir en priorité ces nutriments, pour atteindre la maturité et ensuite vont pouvoir s'accoupler et pondre (Barton Browne, 1993).

1.3.2.2 Expérience

L'expérience acquise au contact de la première espèce végétale rencontrée à l'état adulte peut affecter les choix ultérieurs et la stratégie de recherche de l'insecte (Robert, 1986 ; Bell, 1990). Plusieurs mécanismes sont impliqués dans l'acquisition de l'expérience (Bernays & Chapman, 1994).

L'habituation est la disparition de la réponse motrice (non apprise) à un stimulus donné après que l'animal a été, de façon répétée ou prolongée, mis en présence du stimulus. L'individu apprend à ne plus répondre à un stimulus qui a perdu sa signification : l'animal ne réagit plus aux stimuli non-significatifs de son environnement, ce qui lui évite un épuisement de ses ressources cognitives et énergétiques. Dans la recherche de l'hôte, ces phénomènes d'habituation permettent par exemple d'éliminer les réponses de rejet des plantes présentant des substances répulsives qui sont en réalité inoffensives.

La sensibilisation, à l'inverse de l'habituation, est une augmentation de la réponse d'alerte suite à l'exposition répétée à une situation stimulante sans conséquences défavorables. Ce mécanisme implique des stimuli plus intenses comme des substances chimiques très répulsives ou phagostimulantes. Un répulsif qui, au premier contact, conduit au rejet de la plante en quelques secondes, peut lors d'une rencontre ultérieure, empêcher toute prise de nourriture. Ce type d'apprentissage contribue à un gain d'efficacité dans la recherche des ressources.

Enfin, lorsqu'un animal apprend à associer un stimulus sans signification spécifique (neutre) à un stimulus qui produit des effets positifs ou négatifs, on parle d'**apprentissage par association** ; c'est-à-dire qu'à force d'exposition à ces stimuli associés, la seule présence du stimulus neutre peut provoquer une réponse comportementale. Le criquet *Locusta migratoria* (L.) qui a été mis en contact avec une nourriture riche en protéines contenant une odeur spécifique, est par la suite significativement attiré par cette odeur même si elle est privée de protéines (Simpson & White, 1990).

1.3.2.3 Patrimoine génétique

Des variations intra-spécifiques dans le comportement de sélection de l'hôte peuvent intervenir à différents niveaux du processus de localisation : activité de recherche, attraction à distance, reconnaissance ou rejet de l'hôte.

Ces variations dans le comportement de sélection de l'hôte peuvent être la réponse à des modifications des génotypes des populations lors de phénomènes de spéciation induits par des modifications d'accès à la ressource. Dans la zone nord-est des Etats-Unis, *R. pomonella* dont l'hôte naturel est l'aubépine *Crataegus mollis* Scheele, a étendu sa gamme de plantes hôtes avec l'introduction dans la zone de nouvelles espèces de Rosaceae comme la pomme cultivée *Malus domestica* Borkh. Le fait que ces différentes plantes-hôtes aient des périodes de fructification décalées et le caractère peu mobile de la mouche ont conduit à un isolement reproducteur (Dambroski *et al.*, 2005) formant ainsi des sous-populations de *R. pomonella* avec des préférences trophiques différentes. Cet isolement a été notamment accentué par un conditionnement larvaire important qui a été démontré. En effet, des femelles dont l'hôte larvaire est une pomme, ont plus de chance de pondre dans une pomme que dans une baie d'aubépine. De même, les mâles issus de la pomme restent à proximité de pommes pour l'accouplement (Linn *et al.*, 2003 ; Forbes *et al.*, 2005 ; Forbes & Feder, 2006).

L'isolement géographique est un facteur empêchant les flux de gènes entre populations. Dans ce cas, des différences génétiques peuvent survenir et entraîner des modifications de préférence d'hôtes. Prokopy *et al.* (1984) ont montré des variations dans la préférence de l'hôte chez certaines populations de *C. capitata*. Chez *Trypodendron lineatum* (Olivier) (Coleoptera : Scolytidae), certaines populations géographiques diffèrent dans leur réponse aux odeurs de l'hôte (Borden *et al.*, 1997). Dans la plupart des cas, les différences reflètent la disponibilité des ressources dans des zones géographiques particulières, mais dépendent aussi de la taille et de la mobilité de l'insecte concerné.

II. Les composés volatils de plantes

II.1 Généralités

Le monde végétal a su partiellement pallier son immobilité et s'adapter à différents environnements par le développement de stratégies, comme la synthèse de composés volatils (Schoonhoven *et al.* 2005). Une base de 1719 composés volatils émis par 991 espèces de plantes à fleurs appartenant à 90 familles et 38 ordres a été compilée par Knudsen *et al.* (2006). Les composés volatils de plantes constituent 1% des métabolites secondaires et sont des composés carbonés lipophiles de 6 à 20 atomes de carbone à forte pression de vapeur, c'est-à-dire qu'ils sont spontanément à l'état gazeux sous des conditions de pression atmosphérique et de température ambiante. Ces substances sont principalement constituées de composés à chaînes courtes (alcools, aldéhydes, cétones, esters, lactones), de composés aromatiques, et de terpènes (mono- et sesquiterpènes) (Bernays & Chapman, 1994). Les composés volatils de plantes ont une masse moléculaire inférieure à 300 Daltons (Negre-Zakharov *et al.*, 2009). Les composés de faible poids moléculaire sont plus volatils et atteignent des concentrations dosables à une grande distance de la plante. A courte distance, des mélanges plus complexes, comprenant des composés de poids moléculaire plus élevé, prédominent dans la couche limite de la surface des plantes (quelques millimètres) (Bernays & Chapman, 1994).

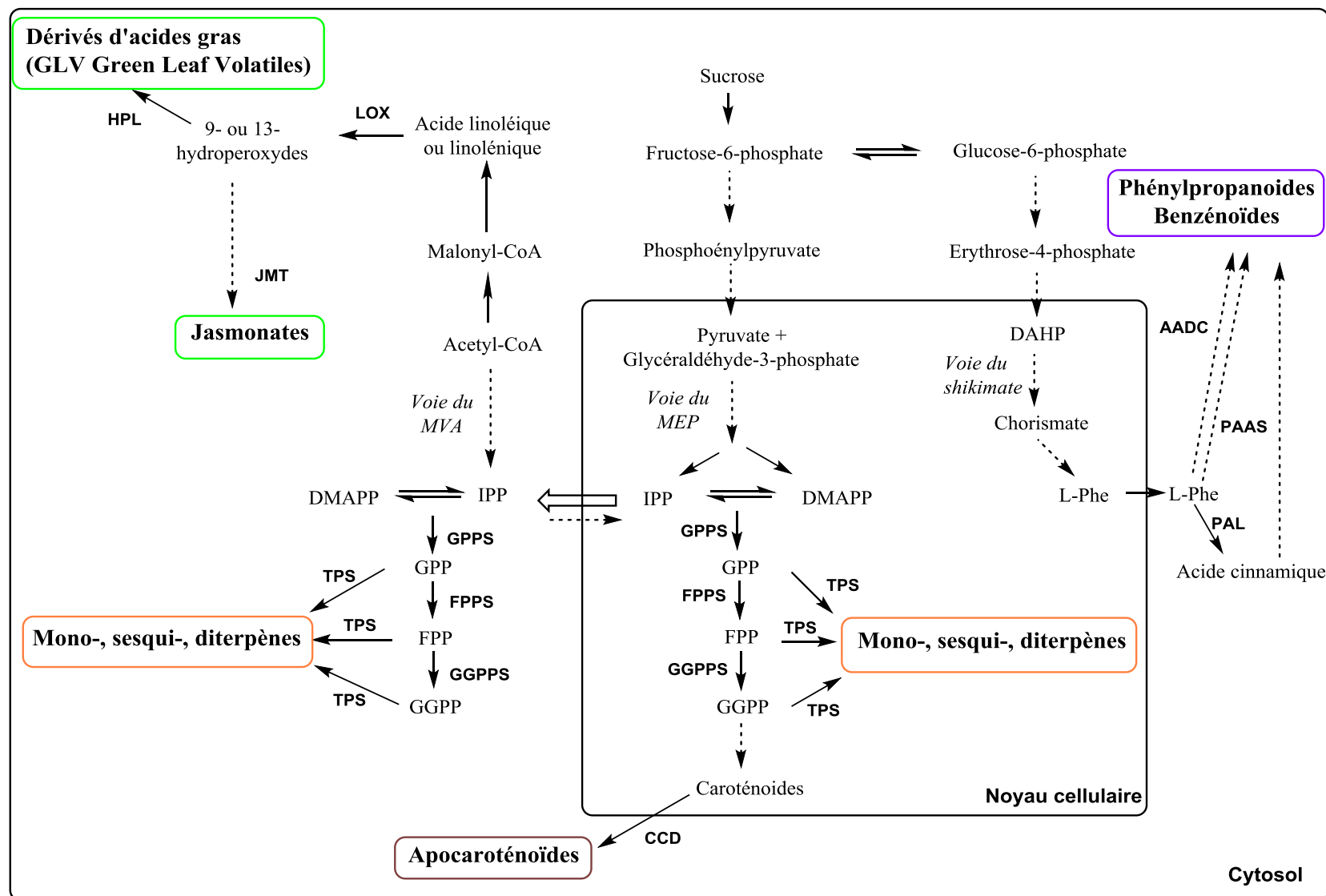


Figure I-8. Résumé des processus cellulaires impliqués dans la biosynthèse des composés volatils.

AADC : Amino acide décarboxylase ; CCD : Caroténoïde clivage dioxygénase ; DAHP : 3-Déoxy-D-arabino-heptulosonate 7-phosphate ; DMAPP : Diméthylallyl diphosphate ; FPP : Farnésyl diphosphate ; FPPS : FPP synthase ; GGPP : Géranylgeranyl diphosphate ; GGPPS : GGPP synthase ; GPP : Géranyl diphosphate ; GPPS : GPP synthase ; HPL : Hydroperoxyde lyase ; IPP : Isopentényl diphosphate ; JMT : Acide jasmonique carboxyl méthyl transférase ; LOX : Lipoxygénase ; L-Phe : L-Phénylalanine ; MEP : 2-C-Méthyl-D-érythritol 4-phosphate ; MVA : Mévalonate ; PAAS : Phénylacétaldéhyde synthase ; PAL : Phénylalanine ammonia lyase ; TPS : Terpene synthase.

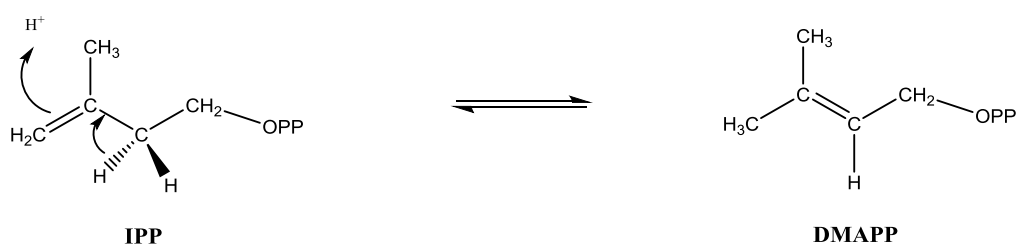
(Negre-Zakharov et al., 2009).

II.2 Diversité et biosynthèse des composés volatils

Les composés volatils de plantes sont divers en termes de structures chimiques : composés hydrocarbonés et oxygénés (alcools, aldéhydes, cétones, éthers et esters). Ils peuvent être regroupés en quatre classes selon leur origine métabolique : les terpènes, les phénylpropanoïdes/ benzénoïdes, les dérivés d'acides gras et les dérivés d'acides aminés. Ces quatre voies de biosynthèse se déroulent au sein des plastes de la cellule végétale (Negre-Zakharov *et al.*, 2009) (**Figure I-8**).

II.2.1 Les terpènes

Les terpènes constituent la plus abondante classe de composés volatils de plantes. Il s'agit plus précisément des hémiterpènes (C5), des monoterpènes (C10), des sesquiterpènes (C15), de quelques diterpènes (C20) ainsi que des apocaroténoïdes et autres terpènes irréguliers. Ces composés ont une haute pression de vapeur leur permettant d'être émis dans l'atmosphère. Tous ces terpènes dérivent d'une unité isoprénique à 5 carbones, l'isopentényl diphosphate (IPP) et de son isomère le diméthylallyl diphosphate (DMAPP) (McGarvey & Croteau, 1995).



Quatre étapes permettent de résumer la synthèse des monoterpènes, sesquiterpènes et diterpènes (**Figure I-9**).

- La **première étape** consiste en la synthèse de l'IPP et de son isomérisation en DMAPP. Ils peuvent être formés par deux voies distinctes, la voie classique du mévalonate (MEV) ayant lieu dans le cytoplasme ou les mitochondries, ou la voie du méthylérythritol 4-phosphate (MEP) dans les plastes (Rohmer, 2003 ; Dudareva *et al.*, 2004).
- La **deuxième étape** est la condensation de ces molécules par les prényltransférases (ou prényldiphosphate synthétases) afin de donner le géranyl diphosphate (GPP en C10), le farnésyl diphosphate (FPP en C15), et le géranylgéranyle diphosphate

(GGPP en C20), respectivement précurseurs des mono-, sesqui- et diterpènes (Liang *et al.*, 2002).

- Lors de la **troisième étape**, les prényl diphosphates subissent des réactions de cyclisation catalysées par un ensemble d'enzymes appelées terpènes synthases (TPS) afin de produire les squelettes de base (modification de la structure et des propriétés des précurseurs) (Cane, 1999 ; Schwab *et al.*, 2008).
- Enfin, la **quatrième étape** est marquée par le remaniement des squelettes par des enzymes de maturation des terpènes au cours de réactions d'hydroxylation, d'oxydation, de réduction de double liaison, d'acylation, de glycosylation ou de méthylation, permettant d'aboutir à la formation de centaines de composés différents (Lange & Croteau, 1999 ; Dudareva *et al.*, 2004).

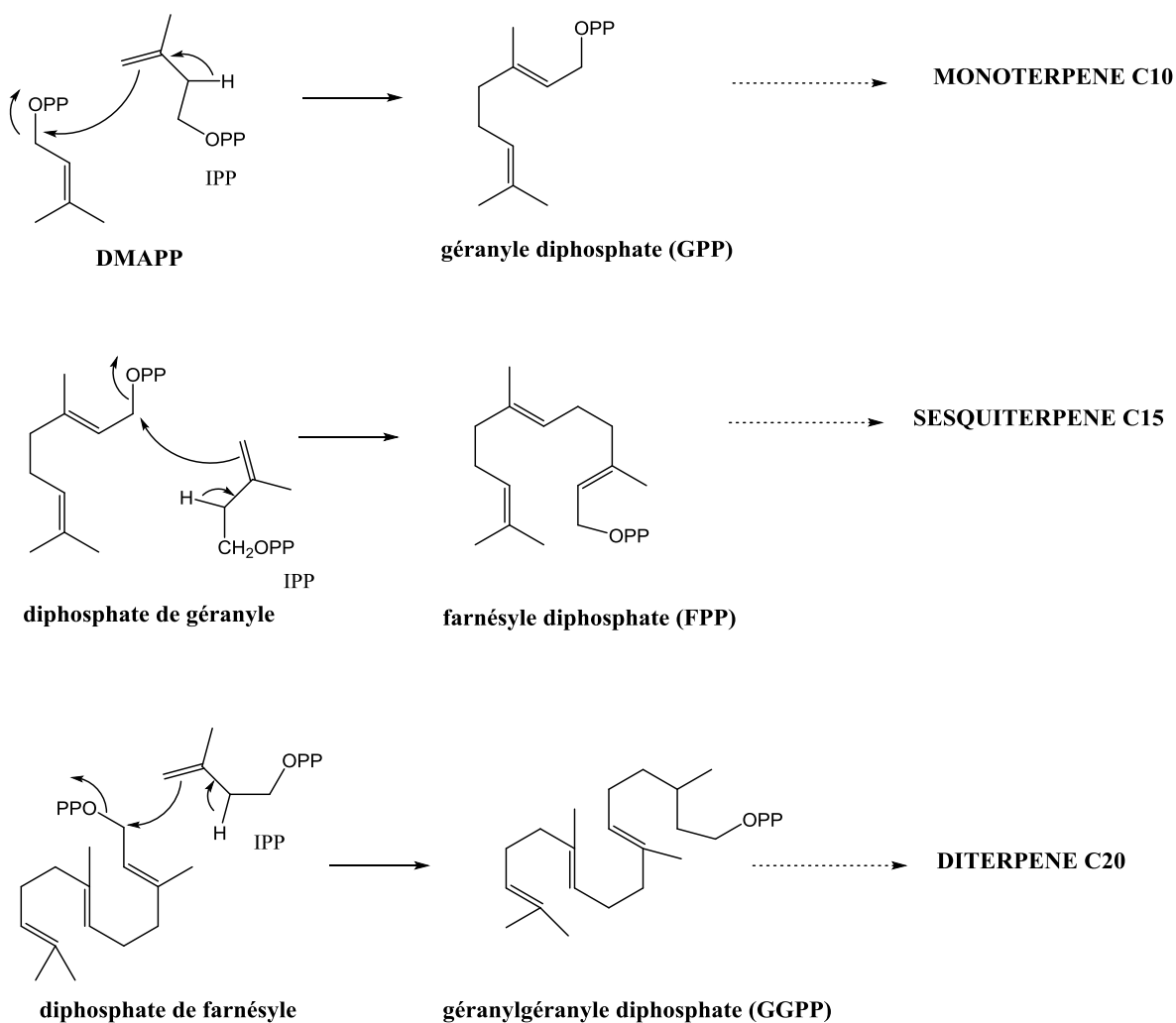
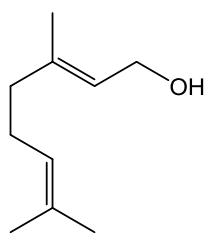
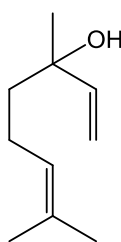
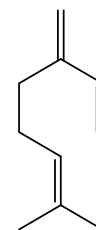
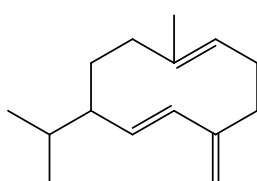
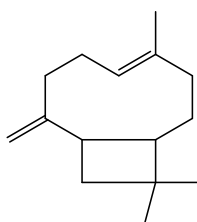
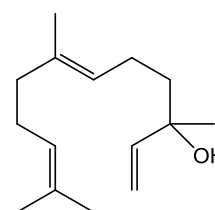
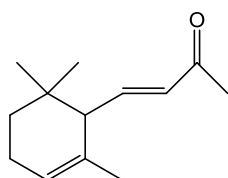
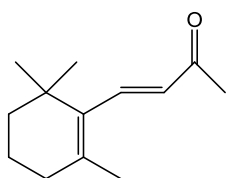
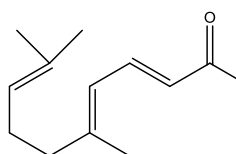
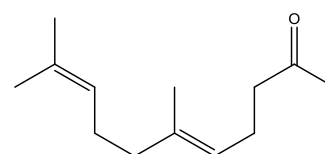


Figure I-9. Elongation de la chaîne isoprénique.

Plusieurs milliers de terpènes sont connus. Parmi les plus répandus, on peut citer dans la classe des monoterpènes : le géraniol, le linalol et le myrcène, et dans la classe des sesquiterpènes : le germacrène D, le β -caryophyllène et le nérolidol.

**Géraniol****Linalol****Myrcène****Germacrène D** **β -Caryophyllène****Nérolidol**

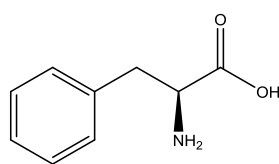
Une autre classe importante de composés volatils originaire de cette voie de biosynthèse des terpènes, sont les apocaroténoïdes comprenant un squelette de 8 à 18 atomes de carbone. Ce sont des produits du clivage des caroténoïdes, composés terpéniques à 50 atomes de carbones (Knudsen *et al.*, 2006). La biosynthèse de ces dérivés volatils de caroténoïdes se déroule en trois étapes : un premier clivage par une dioxygénase produisant les apocaroténoïdes, suivi d'une transformation enzymatique de ces apocaroténoïdes en des précurseurs polaires aromatiques, et enfin une catalyse acide les convertissant en des molécules volatiles (Winterhalter & Rouseff, 2002). Dans certains cas incluant la tomate, le pétunia et le melon, la première étape de clivage par la dioxygénase permet de produire des composés volatils tels que l' α - et la β -ionone, le géranylacétone et la pseudoionone (Simkin *et al.*, 2004a ; Simkin *et al.*, 2004b ; Ibdah *et al.*, 2006). Beaucoup de ces apocaroténoïdes, sont des constituants clés des arômes de fruits et de fleurs, en raison de leur seuil extrêmement bas de détection olfactive (Negre-Zakharov *et al.*, 2009).

 **α -Ionone** **β -Ionone****Pseudo-ionone****Géranylacétone**

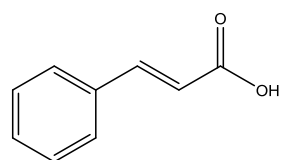
II.2.2 Les phénylpropanoïdes / benzénoïdes

Les phénylpropanoïdes/benzénoïdes constituent la seconde classe de composés volatils la plus abondante (Knudsen *et al.*, 2006). Ce sont des composés aromatiques qui dérivent du même précurseur, la L-phénylalanine (L-Phe). Cette dernière peut subir :

- soit l'action d'enzymes telles que l'acide aminé décarboxylase (AADC) ou la phénylacétaldéhyde synthase (PAAS) pour donner lieu directement à la formation de phénylpropanoïdes ;
- soit l'action de la L-phénylalanine aminolyase (PAL) pour donner lieu à la formation de l'acide *trans*-cinnamique précurseurs d'un grand nombre de benzénoïdes et de phénylpropanoïdes.

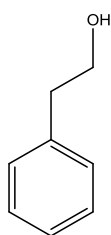


L-Phénylalanine

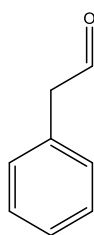


Acide *trans*-cinnamique

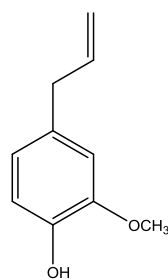
Les phénylpropanoïdes volatils sont réduits au niveau du carbone 9 (en aldéhyde, alcool ou alcane/alcène) et/ou présentent un groupement *O*-alkyle à la place de la fonction OH du noyau benzénique ou de la fonction carboxyle de la chaîne linéaire. Parmi cette classe de composés, les plus connus sont le phényléthanol, le phénylacétaldéhyde ou encore l'eugénol.



Phényléthanol

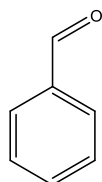


Phénylacétaldéhyde

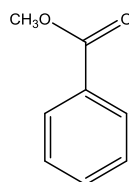


Eugénol

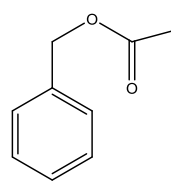
Les benzénoïdes sont des dérivés des phénylpropanoïdes par coupure des carbones C8-C9. On peut citer par exemple le benzaldéhyde, le benzoate de méthyle et l'acétate de benzyle.



Benzaldéhyde



Benzoate de méthyle



Acétate de benzyle

II.2.3 Les dérivés d'acides gras

Les dérivés d'acides gras ou composés aliphatiques comme le (3Z)-hex-3-én-1-ol, l'hexanal, le nonanal, et le méthyl-jamonnate constituent un autre groupe important des composés volatils de plantes. Ce sont les composés aliphatiques volatils à 6 carbones, qui procurent aux fruits et aux légumes une odeur verte et fraîche. Ces composés sont constitués d'une chaîne hydrocarbonée, terminée par un composé carboxylate. Ils sont produits par dégradation d'acides gras polyinsaturés en C18 (acide linoléique et acide linolénique) par la voie de la lipoxygénase. Les étapes importantes sont la peroxydation des acides linoléique et linolénique par lipoxygénase (LOX), qui conduit à la formation de deux précurseurs : l'acide (9S)-hydroperoxy-linolénique et l'acide (13S)-hydroperoxy-linolénique. La lyse de ces hydroperoxydes catalysée par l'hydroperoxyde lyase (HPLS), conduit à la formation d'aldéhydes à 9 carbones (C9), comme par exemple le (2E,6Z)-nona-2,6-diéanal ; et à 6 carbones (C6), comme par exemple le (3Z)-hex-3-éanal (**Figure I-10**). Ces aldéhydes peuvent subir des conversions spontanées en leurs isomères par un réarrangement ou l'action d'une alkényle isomérase, ou peuvent être réduits en alcools par une alcool déshydrogénase (ADH) comme par exemple le (3Z,6Z)-nona-3,6-dié-1-ol et le (3Z)-hex-3-én-1-ol.

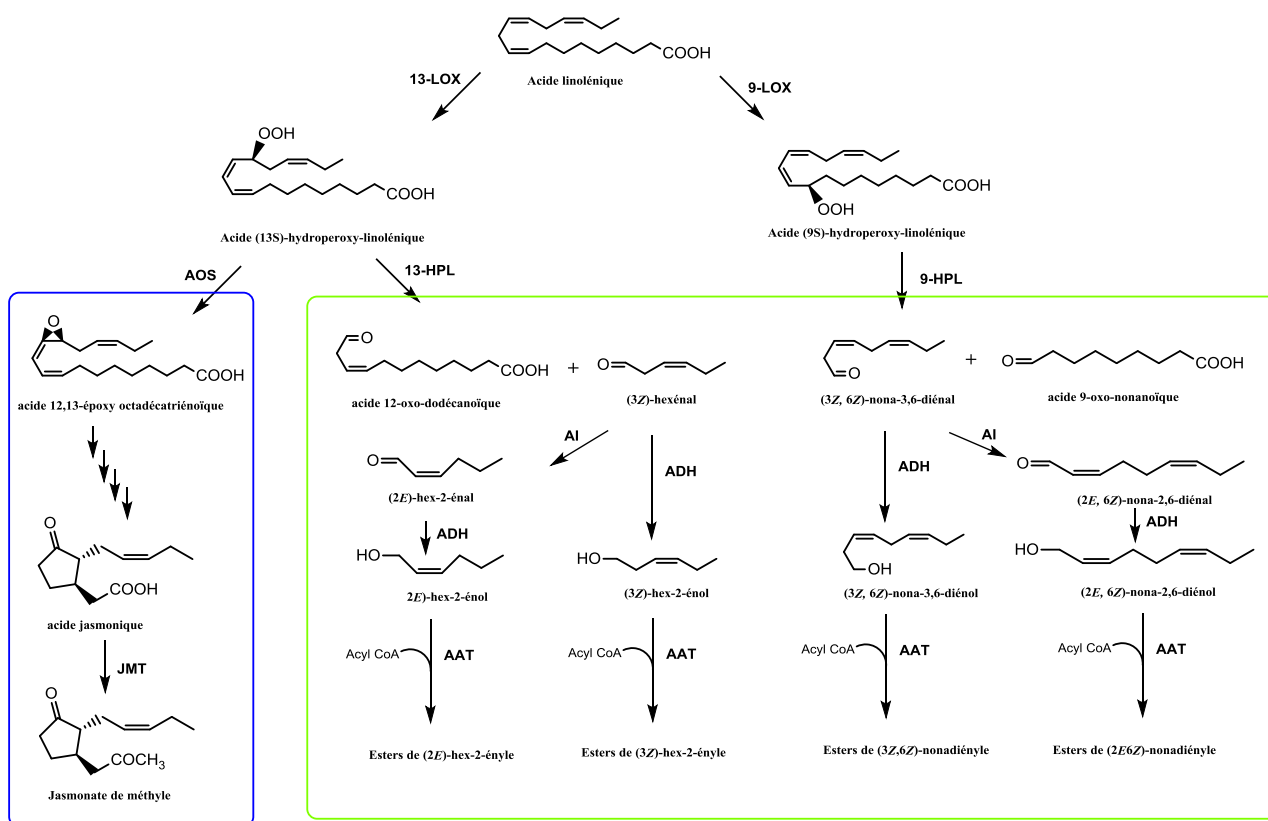


Figure I-10. Formation de dérivés d'acides gras.

- Encadré bleu : Voie de l'allène oxyde synthase (AOS) conduisant au jasmonate de méthyle
- Encadré vert : Voie de l'hydroperoxyde lyase (HPL) conduisant aux composés volatils en C6 et C9

AAT : Alcool acyltransférase ; ADH : Alcool déshydrogénase ; AI : Alcène isomérase ; JMT : Acide jasmonique carboxyle méthyltransférase

II.2.4 Les dérivés d'acides aminés

Les dérivés d'acides aminés regroupent de nombreux composés volatils de plantes incluant des aldéhydes, des alcools, des esters, des acides et des composés azotés et soufrés provenant d'acides aminés tels que l'alanine, la valine, la leucine, l'isoleucine et la méthionine. Les acides aminés issus de la dé-amination d'acides α -cétoniques forment des aldéhydes, des acides, des alcools et des esters après décarboxylation, réduction, oxydation et estérification tels que le méthylbutanol, l'acétate de 2-méthylbutyle et l'acétate de méthylpropyle (**Figure I-11**).

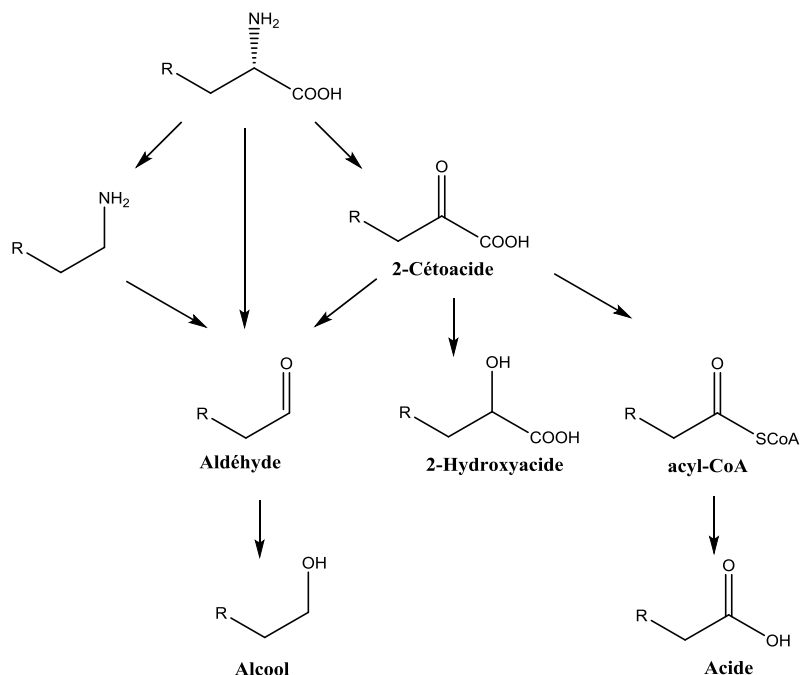


Figure I-11. Formation de dérivés d'acides aminés.

La méthionine et la cystéine ont été détectées comme précurseurs de composés soufrés tels que le méthanthiol, le diméthyldisulfure et les thioesters responsables des odeurs d'ail, d'oignon ou de pomme de terre bouillie (Bialecki & Smadja, 2014) (**Figure I-12**).

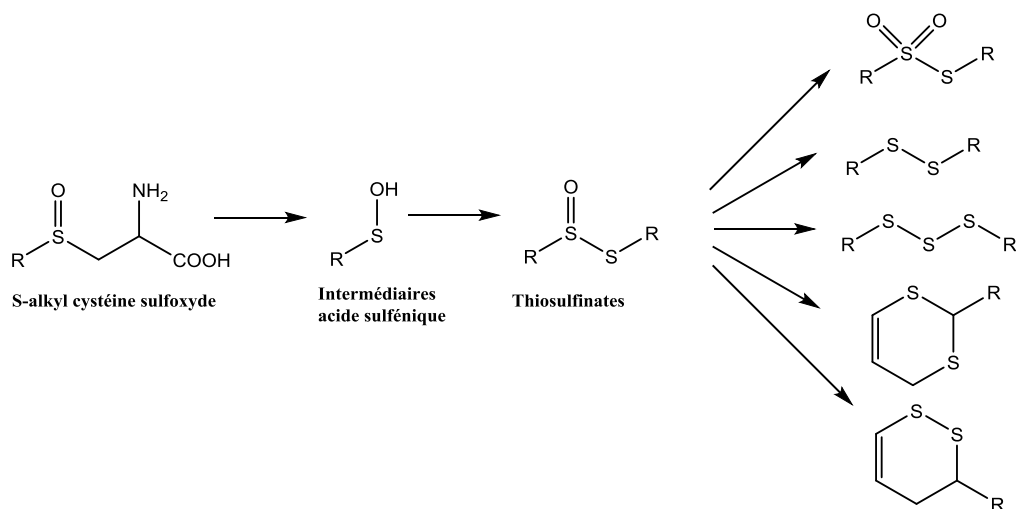


Figure I-12. Formation de dérivés soufrés d'acides aminés.

II.3 Fonctions des composés volatils de plantes

Les composés volatils permettent la communication de la plante avec son environnement. Les fonctions premières des composés volatils sont de défendre la plante contre les herbivores et les pathogènes, d'apporter un avantage reproductif en attirant les pollinisateurs et des disperseurs de graines, et de permettre la communication avec d'autres plantes (Pichersky & Gershenzon, 2002) (**Figure I-13**).

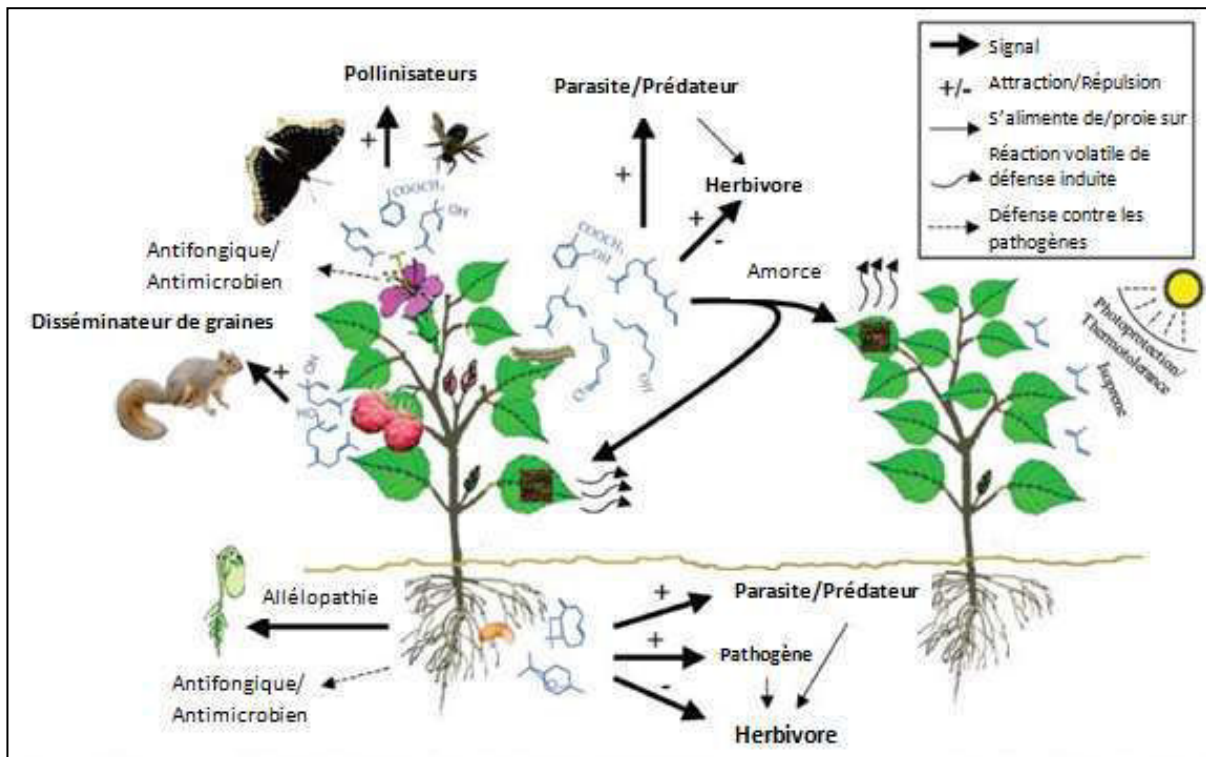


Figure I-13. Interactions entre les plantes et l'environnement régies par les composés volatils qu'elles émettent. (D'après Dudareva *et al.* 2006)

La transmission d'informations par communication chimique (interspécifique) entre les plantes et les phytophages est appelée médiation chimique (*cf.* chapitre I, partie I.2.1). Les composés volatils de plantes pourront ainsi avoir des rôles différents selon le récepteur. Les composés volatils émis par les fleurs sont notamment impliqués dans la pollinisation, attirant par exemple le pollinisateur vers le nectar (Pichersky & Gershenzon, 2002 ; Dudareva *et al.*, 2004 ; Hossaert-McKey *et al.*, 2010) et protégeant ce nectar en inhibant le développement microbien (Schwab *et al.*, 2008). Ceux émis par les parties végétatives peuvent jouer un rôle dans la protection de la plante contre les facteurs abiotiques, comme l'isoprène qui permet, en cas de fortes températures, d'améliorer la thermotolérance, de maintenir la photosynthèse et de protéger la plante de l'herbivorie (Pichersky & Gershenzon, 2002 ; Dudareva *et al.*, 2004).

Lorsque la plante subit un dégât par un insecte phytophage, des composés volatils sont libérés. Ils peuvent être synthétisés et stockés dans des structures préexistantes qui se rompent lorsque le phytophage consomme la plante (Gang *et al.*, 2001), ou être produits au moment du dégât, comme les GLV (« Green Leaf Volatiles » composés à 6 carbones (C6) : aldéhyde, alcool et ester) ou d'autres composés émis *de novo* plusieurs heures ou jours après la blessure (Paré & Tumlinson, 1999 ; Schoonhoven *et al.*, 2005). Afin de protéger la plante, ces composés agissent directement par effet répulsif sur les phytophages ou pathogènes, ou de manière indirecte en attirant des prédateurs ou parasitoïdes des phytophages (Price *et al.*, 1980 ; Cortesero *et al.*, 2000). Les composés volatils émis par les fruits jouent quant à eux un rôle indirect dans la dispersion des graines par l'attraction d'animaux et d'insectes disperseurs. Ils représentent un signal de maturité car certains sont spécifiques aux fruits mûrs (Goff & Klee, 2006).

Les composés volatils émis après un épisode d'herbivorie constituent des signaux chimiques dans les interactions plante-plante, en induisant par exemple l'expression de gènes de défense et l'émission de volatils des feuilles saines de la même plante ou de plantes voisines non attaquées, augmentant ainsi leur attractivité pour des ennemis naturels des herbivores, ou pour diminuer leur sensibilité aux herbivores (Dicke *et al.*, 1990 ; Arimura *et al.*, 2002 ; Ruther & Kleier, 2005).

II.4 Localisation, régulation et dispersion des composés volatils de plantes

Les composés volatils de plantes sont produits à l'intérieur des plastes cellulaires puis stockés au niveau cellulaire ou extracellulaire dans des structures sécrétrices telles que les trichomes glandulaires ou dans les canaux de résines ou émis généralement par les fleurs ou les tissus lésés (Caissard *et al.*, 2004 ; Dudareva *et al.*, 2006 ; Pichersky *et al.*, 2006). Plusieurs mécanismes permettent l'émission par les plantes de ces composés (Schoonhoven *et al.*, 2005), surtout par diffusion à travers les surfaces aériennes (et souterraines), mais aussi par le lessivage des surfaces par la pluie et la rosée, la diffusion consécutive à des exsudations comme celles de résine, la diffusion et/ou l'exsudation consécutive à des blessures ou au pourrissement, ou encore la diffusion lors de l'ouverture des stomates pour la régulation de la transpiration de la plante.

L'émission de ces composés volatils est régulée tout au long de la croissance et de la vie des organes et des fruits (Bouwmeester *et al.*, 1998 ; Dudareva & Pichersky, 2000 ; Gershenzon *et al.*, 2000). Elle est influencée par des facteurs environnementaux comme la lumière, la

température, ou l'humidité (Staudt & Bertin, 1998 ; Gershenzon *et al.*, 2000). Elle coïncide généralement avec les activités des pollinisateurs, variables selon les espèces de plantes et elle est contrôlée par un rythme circadien (Jakobsen & Olsen, 1994 ; Helsper *et al.*, 1998).

L'odeur de la plante est transportée dans un panache d'odeur grâce au vent (**Figure I-14**). Le panache d'odeur est le volume dans lequel la concentration de l'odeur est supérieure au seuil engendrant une réponse comportementale. La dispersion de l'odeur dans le vent est essentiellement due aux mécanismes de diffusion turbulente plus qu'à la diffusion moléculaire (Murlis *et al.*, 1992).

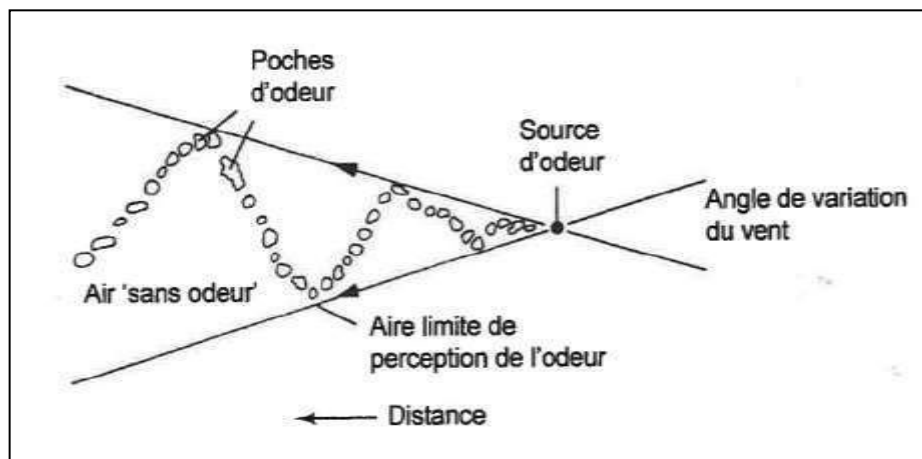


Figure I-14. Dispersion de l'odeur depuis la source.

(D'après Bernays & Chapman 1994 ; Brévault 1999)

Du fait de ce mode de diffusion, lorsque l'odeur provient d'un mélange, le ratio des composés dans le panache est très proche du ratio émis à la source. A cause des turbulences, l'odeur est inégalement distribuée dans le panache, avec des tourbillons d'odeurs entrecoupés d'air sans odeur ou en dessous du seuil de détection des insectes, ce qui implique que le signal odorant forme des « poches » ou « filaments » dans le flux d'air qui le transporte (Visser, 1986). Les insectes naviguent le long du panache turbulent et rencontrent des « bouffées » d'odeur qui persistent dans le panache à plusieurs mètres du point d'émission (Murlis *et al.*, 1992). Les caractéristiques structurelles de l'habitat comme les arbres, lorsqu'ils sont au contact du panache, peuvent l'agiter ou encore le diluer (Carde & Willis, 2008). De plus, la structure du panache peut varier avec la vitesse du vent. En effet, lorsque celle-ci augmente, le flux directionnel du panache est plus rectiligne et son enveloppe externe englobe un volume réduit et une concentration plus importante (Griffiths *et al.*, 1995).

II.5 Les techniques d'extraction et d'analyse des composés volatils

II.5.1 Techniques d'extraction

Plusieurs champs d'études, comme l'analyse des composés volatils floraux en relation avec la pollinisation, comme les mesures d'émission des composés volatils tel que l'isopropène produits par les tissus photosynthétiques en réponse aux modifications de lumière et de température ou encore comme l'émission de composés volatils induite par l'herbivorie, nécessitent des méthodes permettant l'échantillonnage des composés volatils et leur concentration avant analyse. Ces investigations utilisent particulièrement les techniques d'headspace, c'est-à-dire l'étude des composés volatils contenus dans l'espace de tête afin de les identifier et de les quantifier (Papet *et al.*, 2010). Cette technique permet de collecter les composés volatils émis par les parties hors-sol de plante sans la détruire. La technique de l'headspace est basée sur la volatilité de l'analyte recherché dans une matrice complexe non chromatographiable. Comparé aux extractions par solvants des tissus de plantes, les analyses en headspace donnent une image plus réaliste des profils d'émission des plantes détectés par les insectes, faisant de cette méthode l'une des plus adaptée aux études écologiques. Il existe différentes méthodes de collecte par headspace :

- La **collecte dynamique** (avec circulation d'air) par Close-Loop Stripping (air continuellement recyclé) ou par « Pull » et « Push Pull-systems »,
- La **collecte statique** (sans circulation d'air) avec l'utilisation de microextraction sur phase solide (SPME, Solid Phase MicroExtraction).

Dans toutes ces méthodes de collecte de composés volatils, la chambre de collecte doit être dépourvue de matériaux pouvant retenir les composés volatils ou causer des relargages de composés pouvant contaminer l'espace de tête. Les matériaux les plus appropriés sont le verre et le Teflon alors que le caoutchouc, le plastique, les colles, les adhésifs et le bois sont à proscrire. Seule l'extraction par SPME sera développée ci-après, car il s'agit de la méthode utilisée au cours de ce travail de thèse, celle-ci présentant de nombreux avantages. Les méthodes d'extraction par headspace dynamique sont quant à elles décrites en **Annexe 1 (Planche 1.1)**.

II.5.1.1 Principe de l'extraction par headspace statique : la microextraction sur phase solide (SPME)

L'échantillonnage de composés volatils à partir de l'headspace statique a l'avantage de concentrer ces composés dans un tube ou une chambre fermée. Après une période d'équilibre thermodynamique dans l'espace de tête, on prélève de manière manuelle ou automatique un volume fixe qui est injecté dans le chromatographe. Les impuretés qui peuvent résulter d'un flux d'air continu sont réduites, ce qui constitue un avantage lors de la collecte de composés à faible émission. Il s'agit d'une technique d'extraction sans solvant, applicable à des molécules organiques plus ou moins volatiles, à partir d'échantillons qui peuvent-être aqueux, solides ou gazeux ou même à l'état de traces. Cette technique est une vraie révolution verte dans les techniques de collecte de composés volatils. Peu coûteuse, simple d'utilisation et sans utilisation de solvants, elle permet en outre, la collecte de composés volatils aux seuils limites de détection de l'ordre du ppbv (partie par billion par volume).

Introduite au début des années 1990 par les canadiens Pawliszyn et Arthus, et commercialisée en 1993 par la société Supelco, la microextraction sur phase solide (SPME) a su trouver de très nombreuses applications dans des domaines aussi variés que l'environnement, la pharmacie, la toxicologie, la chimie légale ou encore l'agroalimentaire.

Le principe de base de la méthode repose sur la technique d'ab(ad)sorption[☞]-désorption utilisant une fibre de silice fondue, revêtue de différents types d'ab(ad)sorbants inertes (Burgot & Pellerin, 2003). Ces ab(ad)sorbants peuvent varier de polarité et d'épaisseur, et sont sélectionnés selon les différents types d'applications. Après concentration des molécules sur la phase polymérique pendant la phase d'extraction, ces molécules sont transférées dans l'injecteur d'un appareil de chromatographie en phase gazeuse (CG) ou de chromatographie liquide à haute performance (CLHP) pour être désorbées, c'est la phase de désorption des molécules.

II.5.1.2 Description du système de SPME

Le système de SPME (**Figure I-15**) est composé de deux éléments :

- Une fibre de silice fondue de 1 à 2 cm revêtue d'une phase polymérique dont l'épaisseur varie entre 7 et 16 μm .
- Un piston en acier inoxydable à l'extrémité duquel est placée la fibre.

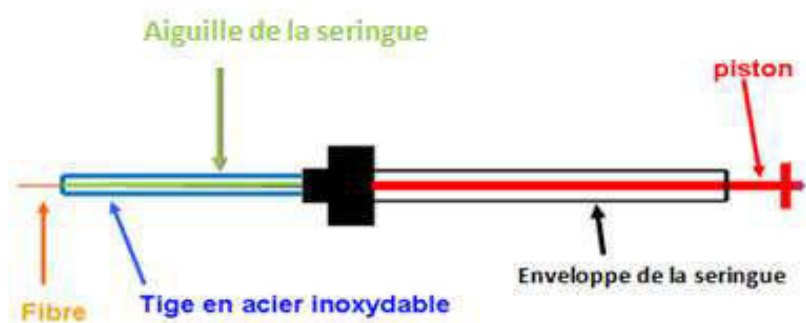


Figure I-15. Système de microextraction sur phase solide (SPME) de type seringue

II.5.1.3 Revêtement des fibres polymériques

Le choix du polymère est fonction du composé à analyser et notamment de sa polarité et de sa volatilité. Il existe de nombreux polymères disponibles commercialement (**Tableau I-1**).

La fibre la plus utilisée est la fibre revêtue de Polydiméthylsiloxane (PDMS). Le PDMS présente les avantages de posséder une longue durée de vie (100 analyses environ) et une grande stabilité thermique (il supporte jusqu'à 300°C). Mais sa sensibilité est limitée à des substances polaires ou peu volatiles. Le développement de nouveaux revêtements s'est alors avéré nécessaire, c'est ainsi qu'est apparu le polyacrylate (PA), le divinylbenzène (DVB) ou encore le carbowax. La sensibilité des fibres peut être augmentée en combinant plusieurs phases polymériques (Pawliszyn, 2000).

Tableau I-1. Caractéristiques de quelques revêtements polymériques pour les fibres de micro-extraction sur phase solide (SPME)

Nature du revêtement	Épaisseur (µm)	Polarité	Température maximale de désorption (°C)	Nature du composé
PDMS	100	Non polaire	280	Volatil (arômes, parfums, additifs alimentaires ...)
	30	Non polaire	280	Volatil (arômes, parfums, additifs alimentaires ...)
PDMS	7	Non polaire	340	Semi-volatil à non volatil, substance de haut poids moléculaire non polaire
PDMS-DVB	65	Bipolaire	270	Polaire volatil
Carbowax-DVB	65	Polaire	260	Polaire (alcools, cétones nitrés)
DVB-PDMS-Carboxen®	50/30	Bipolaire	270	Volatil et semi-volatil

II.5.1.3 Procédure d'extraction

L'extraction des matrices liquides, solides ou gazeuses émettant des composés volatils s'effectue en plongeant la fibre dans l'échantillon. Plus précisément, l'échantillon à analyser est placé dans un flacon fermé par un bouchon équipé d'un septum ; le septum est tout d'abord percé à l'aide de l'aiguille (avec la fibre dans la position rétractée), et le piston est ensuite abaissé, ce qui expose la fibre à l'échantillon. Les analytes peuvent ainsi se répartir à la surface du revêtement polymérique pendant quelques minutes. À l'issue de ce temps de pause, la fibre est ensuite rétractée dans l'aiguille puis retirée du flacon (Pawliszyn, 2000).

L'extraction peut être réalisée selon trois modes :

L'extraction directe

Ce type d'extraction s'applique aux matrices liquides en plongeant la fibre directement dans l'échantillon (**Figure I-16 a**). La fibre revêtue de sa phase polymérique est insérée dans l'échantillon et les analytes sont transportés directement de la matrice échantillon à la phase d'extraction. Pour réaliser une extraction plus rapide et ainsi attendre plus facilement le point d'équilibre, une agitation est nécessaire.

L'extraction de l'espace de tête appelé headspace

Cette extraction s'applique aux matrices liquides, solides ou gazeuses qui émettent des composés volatils (**Figure I-16 b**). Les analytes sont extraits de la phase gazeuse équilibrée issue de l'échantillon. Ce mode d'extraction permet de protéger la fibre contre les effets néfastes susceptibles d'être provoqués par les substances non-volatiles de haut poids moléculaire présentes dans la matrice de l'échantillon. En général, le temps d'équilibre est atteint plus rapidement pour une extraction en headspace que pour une extraction directe.

L'extraction protégée d'une membrane

La fibre est directement plongée dans l'échantillon mais elle est protégée par une membrane semi-perméable (**Figure I-16 c**). Celle-ci empêche certains composés susceptibles de dégrader la fibre de venir au contact de cette dernière.

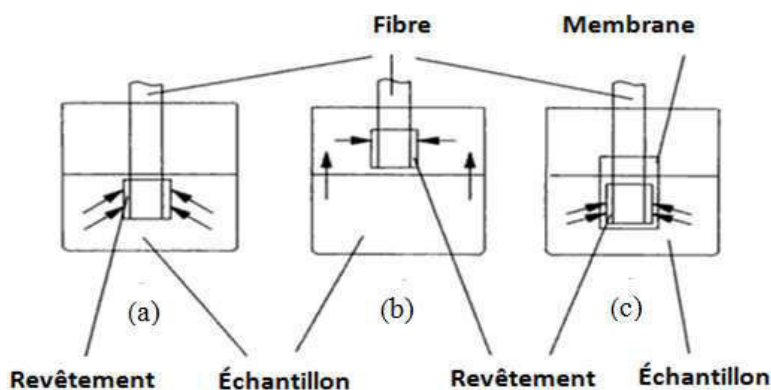


Figure I-16. Les différents modes d'extraction

- a : Extraction directe
- b : Extraction de l'espace de tête
- c : Extraction protégée d'une membrane

(D'après Pawliszyn, (1999))

Au cours de l'extraction, les analytes vont progressivement être concentrés sur la phase polymérique par absorption ou adsorption jusqu'à atteindre un équilibre au sein du système. Le point d'équilibre est déterminé par la grandeur du coefficient de partage de l'analyte entre la matrice et le matériau de revêtement.

II.5.2 Techniques d'analyse

II.5.2.1 La chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM)

Les composés volatils collectés par ad/absorption sur des matrices sont couramment analysés par chromatographie en phase gazeuse (CG). Le chromatographe est composé de quatre unités (**Figure I-17**) : l'injecteur, la colonne placée dans le four, le détecteur et l'enregistreur.

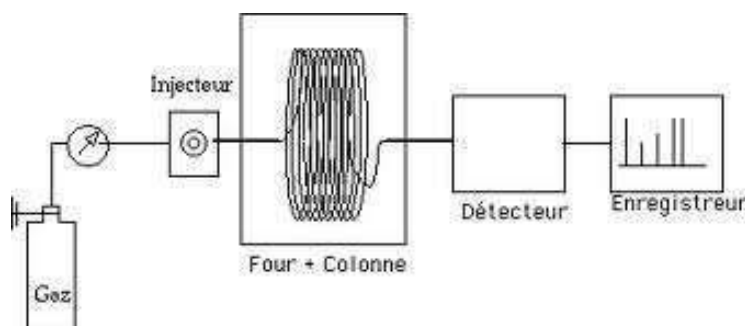


Figure I-17. Les différents modules de la chromatographie gazeuse

- **Injecteur.** Les échantillons sont soit injectés comme des extraits à base de solvants, dans l'injecteur chauffé en mode *split* (avec division du flux) ou en *splitless* (sans division du flux), soit désorbés à partir des fibres SPME en les plaçant directement

dans un tube thermique de désorption chauffé entre 200-300°C. La chambre d'injection a pour fonction de porter l'échantillon à l'état vapeur et de l'amener en tête de colonne grâce au gaz vecteur. Ce gaz vecteur, constitue la phase dite mobile. Il est choisi inerte vis-à-vis des composés du mélange et de la phase stationnaire (He, N₂ pour les plus utilisés).

- **Colonne.** Il s'agit de colonnes capillaires, placées dans une enceinte thermostatée, pouvant aller de la température ambiante à 400°C. Cette température est maintenue constante pour une plus grande efficacité de la séparation des constituants de l'échantillon. Elle se présente sous la forme d'un tube enroulé sur lui-même. Il est constitué de silice fondue dont la paroi interne est couverte d'une fine pellicule nommée phase stationnaire. La paroi externe est enveloppée d'un revêtement en polyimide qui donne souplesse et robustesse à la colonne. La phase stationnaire est caractérisée par les fonctions chimiques greffées sur la silice. Ainsi, la phase stationnaire peut être soit apolaire, soit mi-polaire, soit polaire. Par conséquent, selon sa polarité, les constituants du mélange à analyser seront séparés en fonction de leur polarité si la phase stationnaire est polaire et de leur volatilité si cette dernière est apolaire (Bouchonnet & Libong, 2004). En plus de la nature de la phase stationnaire, la colonne capillaire est caractérisée par trois paramètres géométriques : sa longueur (entre 5 et 100 m), son diamètre interne (entre 0,1 et 0,75 mm) et l'épaisseur de sa phase stationnaire (entre 0,2 et 5 µm). Chacun de ses paramètres exerce une influence déterminante sur la qualité de la séparation. L'objectif étant de choisir la colonne la mieux adaptée à l'échantillon à analyser pour pouvoir obtenir des pics chromatographiques les plus fins possibles (grande efficacité), les mieux séparés possible (bonne résolution), en un temps d'analyse minimum (Pawliszyn, 2000).
- **Détecteur.** Après séparation dans la colonne du chromatographe, les composés peuvent être analysés par deux types de détecteurs : le premier type, le détecteur à ionisation de flamme (FID) apporte uniquement des informations sur les temps de rétention^[1], alors que les détecteurs de seconde génération (détecteur de spectrométrie de masse, SM) permet l'élucidation des structures. Ce dernier est le détecteur le plus utilisé dans les analyses de composés volatils de plantes. Dans le cas du chromatographe gazeux couplé au spectromètre de masse (CG-SM), les composés sortant de la colonne sont ionisés et fragmentés par impact électronique. Les molécules résultantes chargées positivement ainsi que les fragments de

molécules sont sélectionnés en entrant dans le filtre du quadropôle¹¹ selon le ratio masse sur charge (m/z). Les chromatogrammes en ions totaux sont obtenus pour chaque composé, et donnent à la fois des informations sur le temps de rétention du composé et son spectre de masse (profil de fragmentation ionique caractéristique).

- **L'enregistreur.** Les données sont ensuite enregistrées par un microprocesseur à partir duquel les chromatogrammes sont exploités.

II.5.2.2. Identification des composés volatils

L'identification des composés dans un système CG-SM est basée à la fois sur la comparaison des spectres de masse avec ceux de la base de données et sur le calcul des indices de rétention relatifs.

Les spectres de masse

Un spectre de masse est un graphique ou un tableau à double entrée produit par un spectromètre de masse. Il présente le courant d'ions mesuré en fonction du rapport masse (dalton) sur charge (m/z). Le graphique peut se présenter sous la forme de deux tracés différents :

Le premier, qualifié de vrai spectre de masse ou spectre continu, est le reflet fidèle du courant ionique que reçoit le détecteur en fonction du rapport m/z et se présente sous la forme d'un ensemble de pics plus ou moins larges.

Le deuxième, ou spectre barres, est obtenu après traitement informatique du vrai spectre de masse, chaque pic étant présenté sous la forme d'un trait vertical (**Figure I-18**). Le pic le plus intense du spectre, correspondant au type d'ion le plus abondant, est appelé le pic de base, et son intensité est chiffrée à 100%. L'intensité des autres pics s'exprime en % de celle du pic de base (Menet, 2011).

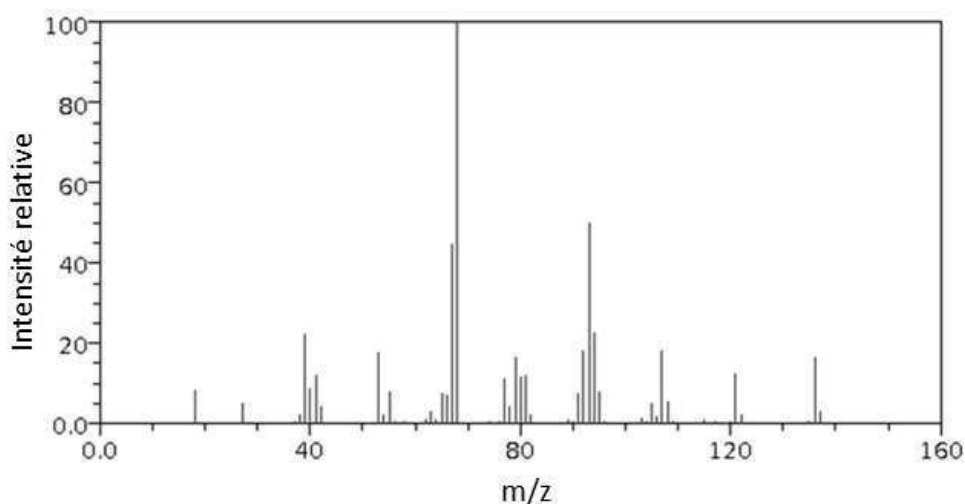


Figure I-18. Recherche effectuée sur la banque de données informatisée Wiley.

Apparaît en haut de la fenêtre de spectre de masse de l' α -pinène présent dans l'échantillon analysé et au milieu de la fenêtre, l' α -pinène de référence. La seconde possibilité correspond au γ -terpinène, dont le degré de similitude est très proche de celui de l' α -pinène (91 vs 90).

(D'après Gauvin (2006)).

Pour identifier des composés ayant les mêmes spectres de masse, il devient alors indispensable d'avoir recours à des données complémentaires. Ainsi, il est possible, si l'on dispose de standards, de les injecter dans les mêmes conditions que l'échantillon étudié afin de comparer les temps de rétention, ou d'associer les spectres de masse aux indices de rétention relatifs (IRR). Cette technique est la plus souvent utilisée et permet l'identification précise du composé (Gross & Caprioli, 2003).

Les indices de rétention relatifs (IRR)

Les indices de rétention relatifs ou IRR, ont deux objectifs principaux :

- Caractériser tous les composés par une grandeur générale autre que le temps de rétention car celui-ci dépend des conditions opératoires (programmation de température du four, nature et débit du gaz vecteur, longueur de la colonne ...) ;
- Suivre l'évolution dans le temps de colonnes.

Les IRR sont fondés sur la relation linéaire constatée entre le logarithme du temps de rétention réduit^[4] et le nombre n d'atomes de carbone du soluté, dans une famille de produits homologues, par exemple celle des hydrocarbures saturés aliphatiques (n -alcane).

Dans les mêmes conditions opératoires que celles utilisées pour la table d'alcane, le mélange à étudier est injecté. Ainsi, le nouveau chromatogramme permet d'accéder à l'IRR qui

correspond au produit par 100 du nombre apparent d'atomes de carbone de l'alcane théorique ayant le même temps de rétention réduit.

$$\text{Log } t_r' = an + b^*$$

t_r' : temps de rétention réduit
 n : nombre d'atomes de carbones

Deux calculs permettent d'obtenir directement l'IRR à partir des t_r' de deux alcanes (C_n et C_{n+1}) qui encadrent le composé inconnu X.

$$t_r'_{C_n} < t_r'(X) < t_r'_{C_{n+1}}$$

t_r' : temps de rétention réduit
 n : nombre d'atomes de carbones

Les indices de rétention se calculent de deux manières différentes suivant le fonctionnement en température du chromatographe :

✓ *Pour une analyse effectuée en isotherme*

$$IRR(X) = 100n + 100 \frac{\log(tr'(X)) - \log(tr'(C_n))}{\log(tr'(C_{n+1})) - \log(tr'(C_n))}$$

IRR : indice de rétention du composé X à identifier
 tr' : temps de rétention réduit
 n : nombre d'atomes de carbones

✓ *Pour une analyse par programmation de température*

$$IRR(X) = 100n + 100 \frac{tr'(X) - tr'(C_n)}{tr'(C_{n+1}) - tr'(C_n)}$$

IRR : indice de rétention du composé X à identifier
 t_r' : temps de rétention réduit
 n : nombre d'atomes de carbones

À chaque composé on attribue ainsi un IRR qui lui est propre pour une phase stationnaire donnée. Ces indices pourront être comparés à ceux donnés dans la littérature (Joulain & König, 1998 ; Adams, 2007) afin de pouvoir identifier les composés.

Corrélation masse-indice de rétention relatif

Lorsque que l'on combine l'IRR avec le spectre de masse, la qualité des données augmente proportionnellement et fournit un excellent guide pour les identités possibles de composants. Prenons un exemple pour mieux comprendre cette corrélation : l'huile essentielle de *Schinus terebinthifolius* Raddhi a été analysée par CG-SM et le chromatogramme obtenu est représenté en **Figure I-19**:

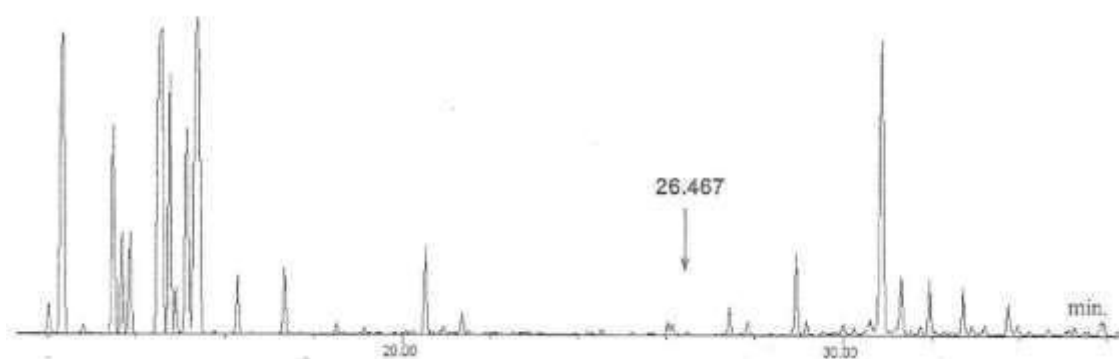


Figure-I-19. Chromatogramme de l'huile essentielle de *Schinus terebinthifolius*
(D'après Gauvin, 2006).

Pour le pic à 26,467 minutes la banque de données informatisée propose :

- L' α -cubébène, avec une qualité de corrélation de 99% ;
- L' α -copaène, avec une qualité de corrélation de 90%.

Le calcul de l'IRR_{SPB-5} du composé à 26,467 minutes grâce aux formules précédemment citées est de 1357. Dans la littérature, pour une phase stationnaire similaire (DB-5), les valeurs des IRR proposées sont :

- IRR_{DB-5} (α -cubébène) = 1351
- IRR_{DB-5} (α -copaène) = 1377

Par comparaison des valeurs des IRR_{SPB-5} et IRR_{DB-5}, il est alors possible de conclure sur l'identification du composé sortant à 26,467 minutes : **La valeur la plus proche de 1357 est 1351, donc le composé élué à 26,467 minutes correspond à l' α -cubébène.**

II.6 Cas particulier des composés volatils de Cucurbitaceae : travaux antérieurs

II.6.1 Caractéristiques générales de la famille

Règne : Végétal

Sous-règne : Eucaryotes

Embranchement : Archégoniates

Sous-embranchement : Phanérogames

Classe : Angiospermes

Sous-classe : Dicotylédones gamopétales

Ordre : Cucurbitales

Famille : Cucurbitaceae

Ss-famille: Zanonioïdeae

Ss-famille: Cucurbitoïdeae

Les Cucurbitaceae sont des plantes dicotylédones qui ont des représentants sous les climats tempérés mais surtout sous les climats tropicaux et sub-tropicaux. Cette famille comprend plus de 800 espèces réparties en 118 genres (Jeffrey, 1990).

La famille des Cucurbitaceae comprend deux sous-familles caractéristiques : les Zanonioïdeae (graines ailées) et les Cucurbitoïdeae (graines non-ailées). Dans cette synthèse, seule la sous-famille des Cucurbitoïdeae, qui regroupe toutes les espèces étudiées dans ce travail, fera l'objet d'une présentation détaillée. Cette sous-famille est subdivisée en huit tribus essentiellement par des critères de différenciation des pièces florales.

Les Cucurbitaceae possèdent un appareil végétatif aérien généralement herbacé, grimpant ou rampant grâce à des vrilles spiralées (Gaussen et al., 1982). Elles possèdent des tiges charnues. Chez certaines espèces les parties souterraines peuvent être charnues, permettant à la plante d'être vivace. Les feuilles sont alternes, souvent dentées (**Figure I-20**). Au sein d'une



Figure I-20. Le melon *Cucumis melo* (L.)

même espèce, leur forme peut varier d'un individu à un autre. Les plantes possèdent des poils rugueux du fait de la présence de cystolithes^[1] à la base (Botineau, 2010).

Les Cucurbitaceae sont soit monoïques^[1], soit dioïques^[1], avec des fleurs presque toujours unisexuées apparaissant au niveau des axilles des feuilles, soient solitaires, soient sous forme d'inflorescence. Les fleurs mâles, souvent regroupées en inflorescences, présentent un androcée^[1] typique mais des dispositions variées selon les genres (anthères^[1] libres ou soudées, chacune avec une à deux loges polliniques). Les fleurs femelles ont un ovaire infère formé généralement de 3 carpelles renfermant une à plusieurs centaines d'ovules. Après la pollinisation, la fleur est fécondée et se transforme en fruit contenant les graines. Les fruits peuvent avoir la taille d'un petit cornichon (*Coccinia* sp.) comme ils peuvent peser une centaine de kilos pour les potirons (*Cucurbita maxima* Duch.). Le fruit, dénommé péponide, peut être soit sec avec un épicarpe lignifié lisse (*Lagenaria* sp.), ou côtelé (*Telfairia* sp.), soit charnu avec une pulpe bien développée formée par des placentas hypertrophiés (Gaussen *et al.*, 1982). Les graines de tailles variées (de 5 à 20 mm), exalbulminées^[1], lisses ou ornementées, contiennent une amande, composé de 50% de substances lipidiques (Timothy, 1993).

La famille des Cucurbitaceae est constituée de nombreuses espèces cultivées particulièrement comme ressources alimentaires. Elles sont consommées principalement comme légumes et plusieurs parties de la plante sont utilisées : le fruit principalement, mais aussi les graines, les fleurs, les jeunes pousses avec les vrilles et les racines (Pitrat *et al.*, 1997). Les genres les plus cultivés sont *Cucurbita*, *Cucumis*, *Citrullus*, *Lagenaria*, *Luffa* et *Sechium* (Whitaker & Davis, 1962).

II.6.2 Les composés volatils de Cucurbitaceae

L'analyse des composés volatils a déjà été réalisée sur plus d'une quinzaine d'espèces de Cucurbitaceae (**Annexe 1, Tableau 1.1**). Ces analyses chimiques menées principalement sur la pulpe de fruits, montrent une grande diversité des composés volatils. Il s'agit principalement d'aldéhydes et d'alcools en C6 et C9 ainsi que de monoterpènes (Hurtrel, 2000).

Parmi les composés en C6, on retrouve les aldéhydes *n*-hexanal, (3*Z*)- et (2*E*)-hexénal et les alcools correspondants *n*-hexanol, (3*Z*)- et (2*E*)-hexénol (Hurtrel, 2000 ; Ligor & Buszewski, 2008).

Parmi les composés en C9, les aldéhydes (3Z)- et (2E)-nonénal, (3Z,6Z)- et (2E,6Z)-nonadiénal ainsi que les alcools (3Z)- et (2E)-nonénol, (3Z,6Z)- et (2E,6Z)-nonadiénol sont les plus fréquemment cités (Parliment *et al.*, 1981 ; Ligor & Buszewski, 2008).

Des composés comme l'indole, le benzène, l'eucalyptol ou le linalol ont également été identifiés dans l'odeur de nombreuses espèces de Cucurbitaceae ((Metcalf & Lampman, 1991 ; Fernando & Grün, 2001).

Selon la littérature, les quantités de composés volatils dépendent de l'espèce végétale considérée. Elles varient de plus selon le stade phénologique du fruit (jeune ou mûr). La proportion de nonanal par exemple augmente dans la seconde phase de mûrissement du concombre et de la pastèque. Quant à l'hexanal, il est faiblement présent dans le jeune concombre mais augmente dans le fruit mûr d'après Hurtrel (2000).

III. Les Tephritidae : ravageurs d'importance économique

Les Tephritidae constituent une famille de ravageurs d'importance économique au niveau mondial car ils s'attaquent à un grand nombre de cultures fruitières et légumières, engendrant des pertes de production considérables. Cette famille d'insectes sera présentée tout d'abord de façon générale ; puis, les espèces présentes à La Réunion seront décrites ; enfin, le cas particulier de *Bactrocera cucurbitae*, modèle biologique de la thèse, sera exposé.

III.1 Systématique, morphologie et répartition géographique

La famille des Tephritidae (Ordre : Diptera, Sous-ordre : Brachycera, Division : Cyclorhapha, Groupe : Schizophora, Section : Haplostomata, Super-famille : Tephritoidea), dont les membres sont communément appelés Mouches des fruits, compte environ 4000 espèces réparties en 500 genres (White & Elson-Harris, 1992). Près de 250 espèces sont considérées comme des ravageurs d'importance économique. Elles sont largement distribuées dans le monde dans des régions tempérées, subtropicales et / ou tropicales (Christenson & Foote, 1960).

D'après Delvare & Aberlenc (1989), les adultes de Tephritidae se caractérisent par :

- des soies orbitales,
- une nervure subcostale se recourbant vers l'avant à son extrémité et disparaissant avant d'atteindre la costale,
- un abdomen formé de cinq ou six segments visibles et se terminant chez les femelles par un ovipositeur pointu,
- une ornementation alaire parfois très réduite mais le plus souvent constituée de rayures ou de tâches jaunes, brunes ou noires.

III.2 Les Tephritidae : des ravageurs des cultures

III.2.1 Bioécologie

Les dégâts sur les fruits sont engendrés par les femelles qui insèrent leurs œufs sous l'exocarpe. Selon l'espèce-hôte et le degré de maturité des fruits, les piqûres de mouches engendrent la détérioration du fruit par le développement des larves qui se nourrissent de la pulpe du fruit ainsi que par l'entrée fortuite d'autres pathogènes (bactéries, champignons...) par les trous de ponte. Ainsi, le fruit se détériore rapidement et chute prématurément (Clarke *et al.*, 2011) (**Figure I-21**).



Figure I-21. Dégâts de Tephritidae sur un fruit de "chouchou" (*Sechium edule*).
(Photo : C. Jacquard/CIRAD)

Comme tous les diptères, les Tephritidae sont des insectes holométaboles [□] avec un cycle de développement se déroulant en plusieurs étapes (White & Elson-Harris, 1992) (**Figure I-22**), dont la durée diffère selon les espèces.

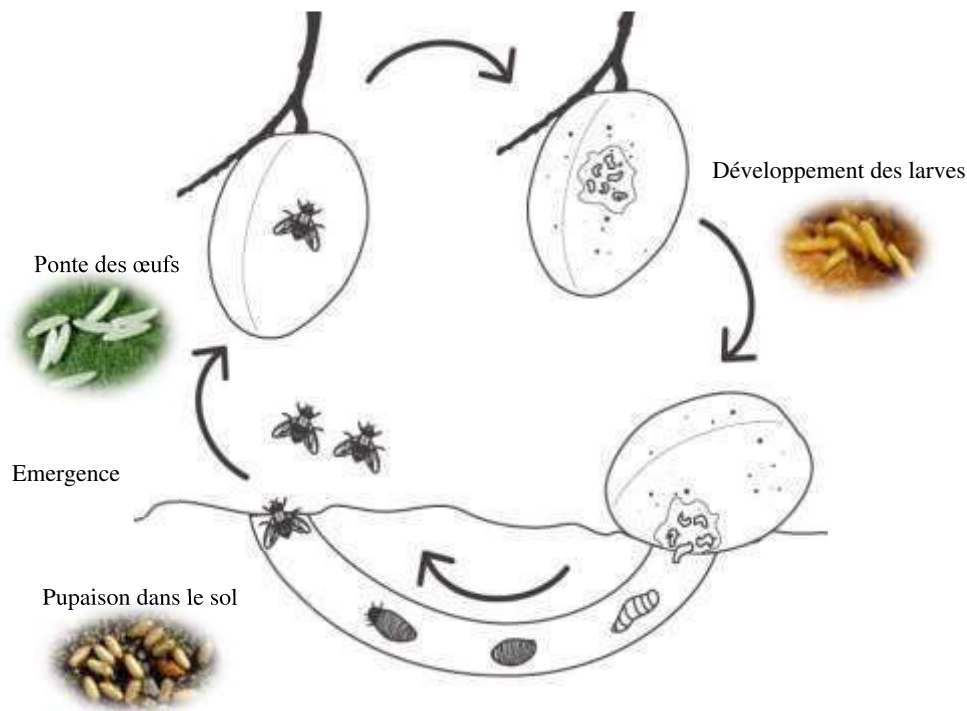


Figure I-22. Cycle de développement des Tephritidae.

(Source : *preventfruitfly.com.au* modifié par T.Atiama-Nurbel, Photos : A.Franck-CIRAD)

Après la ponte des femelles dans le fruit, les œufs éclosent pour donner des larves, qui se développent en consommant sa pulpe. Ces larves passent par trois stades de développement. Au terme de la dernière phase de développement, pour un grand nombre d'espèces, les larves sautent du fruit pour démarrer la pupaison dans le sol. Pour certaines espèces, la pupaison peut se dérouler dans le fruit. Après l'émergence, les adultes ont une maturation sexuelle de plusieurs jours à quelques semaines avant de devenir sexuellement matures, ce qui coïncide chez les femelles à l'achèvement de la vitellogénèse^[1]. Les mâles peuvent s'accoupler fréquemment, mais deviennent non-réceptifs pendant plusieurs semaines après chaque accouplement (Bateman, 1972 ; Fay & Meats, 1983). Les adultes ont besoin de se nourrir régulièrement de carbohydrates et d'eau pour survivre. Les femelles ont de plus, besoin de s'alimenter de protéines indispensables à la maturation de leurs œufs (Christenson & Foote, 1960 ; Bateman, 1972). Les adultes se nourrissent d'une large variété de produits naturels : jus et tissus de fruits endommagés, sève de plantes, nectar de fleurs et fèces d'oiseaux (Bateman, 1972).

Les Tephritidae entretiennent une relation très étroite avec les plantes dans lesquelles se développent leurs larves. Ces plantes sont dites hôtes lorsqu'elles sont choisies comme site de ponte par les femelles gravides et qu'elles permettent un développement complet des stades pré-imaginaux^[2]. Les stades larvaires des Tephritidae étant très peu mobiles, le choix de la

plante-hôte par la femelle au moment de la ponte est déterminant pour la survie de la descendance. Lorsque adultes et larves se nourrissent du même végétal, la sélection du site de ponte peut être conditionnée par le comportement de prise alimentaire des parents. Dans le cas des Tephritidae, les adultes ne s'alimentent pas forcément sur les mêmes plantes que leur progéniture ; ce sont les femelles gravides qui sélectionnent le végétal-hôte pour le développement des descendants. Les mécanismes entrant en jeu dans le processus de choix des plantes hôtes par les femelles gravides sont exposés dans la partie « sélection de l'hôte » (*cf.* chapitre I, partie I.1)

Selon le degré de spécialisation de leur régime alimentaire, les Tephritidae peuvent être classés en trois catégories : les monophages, les oligophages et les polyphages (Fletcher, 1989). Selon May & Ahmad (1983), les espèces monophages se nourrissent uniquement de plantes appartenant à une seule espèce, les espèces oligophages sont restreintes à une seule famille de plantes et les polyphages se nourrissent sur des plantes appartenant à plusieurs familles et ordres. Le degré de spécialisation des phytophages peut évoluer au cours du temps et varier selon les zones géographiques.

III.2.2 Méthodes de surveillance et de lutte contre les Tephritidae

La mise en place de méthodes de lutte efficaces contre les Tephritidae ravageurs des cultures s'avère difficile, d'autant plus que les différents stades du cycle biologique sont localisés dans des différents micro-habitats. Les œufs et les larves se développent dans les fruits tandis que la pupa est enfouie dans le sol : ainsi le stade adulte reste le seul stade exposé aux insecticides utilisés en traitement de couverture. Pour obtenir une efficacité optimale, la lutte doit donc être menée pendant la période de préoviposition (période de maturation sexuelle) de la femelle afin d'empêcher la ponte. Il convient également d'intégrer des méthodes de surveillance de populations, afin de permettre aux agriculteurs de savoir à quel moment il est nécessaire d'appliquer un traitement insecticide ou encore pour vérifier l'efficacité de la lutte appliquée.

Pour surveiller l'abondance des populations de mouches, il existe des systèmes de piégeage des mâles qui utilisent un attractif sexuel (ou paraphéromone[Ⓜ]) spécifique des mâles de certaines espèces. Ainsi, les mâles de diverses espèces de *Ceratitis* sont fortement attirés par le trimedlure, et ceux de nombreuses espèces de *Bactrocera* ou de *Dacus* par le méthyl-eugénol ou le cue-lure. Il existe également des attractifs alimentaires à base de protéines comme le « Nulure », le « Buminal » ou la levure de *Torula*, qui en général capturent

essentiellement des femelles, celles-ci ayant besoin de protéines pour la maturation sexuelle et le développement des œufs (Hagen & Finney, 1950). Ces derniers montrent toutefois des limites quant à leur efficacité : attractivité faible, distance réduite d'attraction, durée de vie limitée au champ, contraintes d'utilisation et attraction d'espèces non-cibles (Jang & Light 1996 ; Siderhurst & Jang 2010).

La lutte chimique couramment utilisée contre les Tephritidae, repose sur l'utilisation de produits insecticides pendant la phase de sensibilité du fruit (Rossler, 1989). Cette protection montre ses limites tant par une efficacité insuffisante sur les ravageurs que par les lourdes conséquences sanitaires, environnementales et économiques qu'elle entraîne. Différentes méthodes alternatives à la lutte chimique, ont été développées :

- **Les traitements par taches**, méthode largement répandue dans le monde, reposent sur la pulvérisation en traitement localisé d'un mélange d'insecticide et d'attractifs à base de protéines ou de levures, ou de substances dérivant de plantes (Qureshi & Hussain, 1992 ; Akhtaruzzaman *et al.*, 2000 ; Satpathy & Rai, 2002)
- **Les méthodes culturales** sont un complément indispensable afin d'abaisser les populations de mouches en dessous des seuils de nuisibilité. Ainsi, une méthode prophylactique consiste à collecter et détruire ou isoler tous les fruits infestés qui constituent des réservoirs de mouches (Nishida & Bess, 1957).
- **La lutte par suppression des mâles ou « Male Annihilation Technique » (MAT)** a été mise au point dès le milieu du 20^{ème} siècle (Steiner & Lee, 1955). Cette méthode vise les mâles que l'on attire et tue grâce à un attractif sexuel associé à un insecticide, placés dans le même dispositif. Les pièges sexuels utilisés sont les mêmes que ceux utilisés pour la surveillance, mais sont placés en plus grande quantité sur les parcelles.
- **La lutte autocide ou « Sterile Insect Technique » (SIT)** a également été initiée dans les années 50 (Knipling, 1955). Elle est basée sur l'élevage, la stérilisation par radiations ionisantes ou par chimiostérilisation et le lâcher dans la nature, d'un nombre suffisant de mâles stériles compétitifs en vue de les mettre en compétition avec la population de mâles sauvages. Le ratio de mâles stériles doit être suffisant pour permettre la diminution du potentiel reproductif de la population-cible. Des succès d'éradication ont été obtenus par exemple sur des populations de *B.*

cucurbitae sur diverses îles de l'archipel hawaïen (Steiner & Lee, 1955 ; Ito & Koyama, 1982 ; Shiga, 1989 ; Koyama *et al.*, 2004).

- **La lutte biologique** contre les Tephritidae a commencé au début du 20^{ème} siècle : une des premières actions fut menée à Hawaï contre *B. cucurbitae* par Fullaway (1920) grâce à des lâchers de *Psytalia fletcheri* Silvestri (Braconidae) un parasitoïde larvo-pupal. Ce parasitoïde s'est établi avec succès sur l'île principale, entraînant des réductions considérables des niveaux de populations de différentes espèces de Tephritidae (Bess *et al.*, 1961 ; Vargas *et al.*, 1993 ; Bautista *et al.*, 2004).

III.3 Les Tephritidae nuisibles à La Réunion

L'agriculture est une activité importante pour l'économie de La Réunion : le territoire agricole couvre 20% de la surface de l'île, occupe 10% des actifs, dégage 5% du produit brut régional et lui fournit son premier poste d'exportation (Agreste, 2009). Les cultures fruitières et maraîchères représentent 5 000 ha sur l'île avec une production approchant les 100 000 tonnes par an (Agreste, 2009). Cette filière reste toutefois confrontée à de nombreuses difficultés d'ordre phytosanitaire avec comme ravageurs majeurs les mouches des fruits, qui engendrent des pertes de récoltes pouvant atteindre dans certains cas 100% de la production (Ryckewaert *et al.*, 2010).

III.3.1 Les principales espèces de Tephritidae nuisibles

A La Réunion, 22 espèces de Tephritidae sont recensées, dont quatre économiquement préjudiciables aux cultures fruitières et quatre aux cultures maraîchères (Etienne, 1972). Ces huit espèces de ravageurs des cultures d'importance économique, appartiennent à la sous-famille des Dacinae et se répartissent en deux tribus : Dacini et Ceratitidini (White & Elson-Harris, 1992 ; De Meyer, 2000). Un schéma permettant la distinction entre la tribu des Ceratitidini et Dacini est donné en **Figure I-23**.

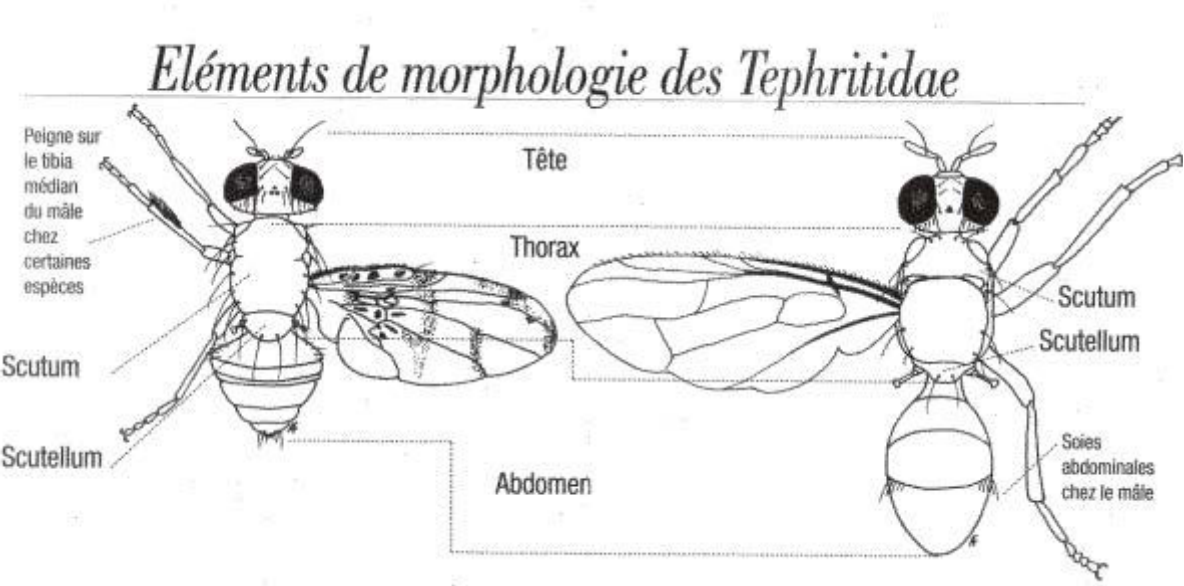
La tribu des Ceratitidini compte quatre espèces sur l'île (**Figure I-24**):

- *Neoceratitis cyanescens* (Bezzi) : la Mouche de la tomate ;
- *Ceratitis* (Pterandus) *rosa* Karsch : la Mouche du Natal ;
- *Ceratitis* (Ceratitis) *capitata* (Wiedemann) : la Mouche méditerranéenne des fruits ;
- *Ceratitis* (Ceratitis) *catoirii* Guérin-Merville : la Mouche des fruits des Mascareignes.

La tribu des Dacini compte quatre espèces sur l'île (**Figure I-25**) :

- *Dacus* (*Didacus*) *ciliatus* Loew : la Mouche éthiopienne des Cucurbitaceae ;
- *Dacus* (*Dacus*) *demmerezi* (Bezzi) : la Mouche des Cucurbitaceae de l'Océan Indien ;
- *Bactrocera* (*Zeugodacus*) *cucurbitae* (Coquillett) : la Mouche du melon ;
- *Bactrocera* (*Zeugodacus*) *zonata* (Saunders) : la Mouche de la pêche.

Les quatre espèces inféodées aux cultures fruitières (*C. rosa*, *C. capitata*, *C. catoyii* et *B. zonata*), sont des espèces polyphages car s'attaquant à des nombreuses familles de fruits. Les quatre autres espèces inféodées aux cultures maraîchères sont des oligophages (*N. cyanescens* inféodée à la famille des Solanaceae et *D. ciliatus*, *D. demmerezi* et *B. cucurbitae* inféodées à la famille des Cucurbitaceae).



Tribu des Ceratitidini

Tribu des Dacini

Figure I-23. Eléments de morphologie des Tephritidae
(D'après Quilici & Jeuffrault (2001)).

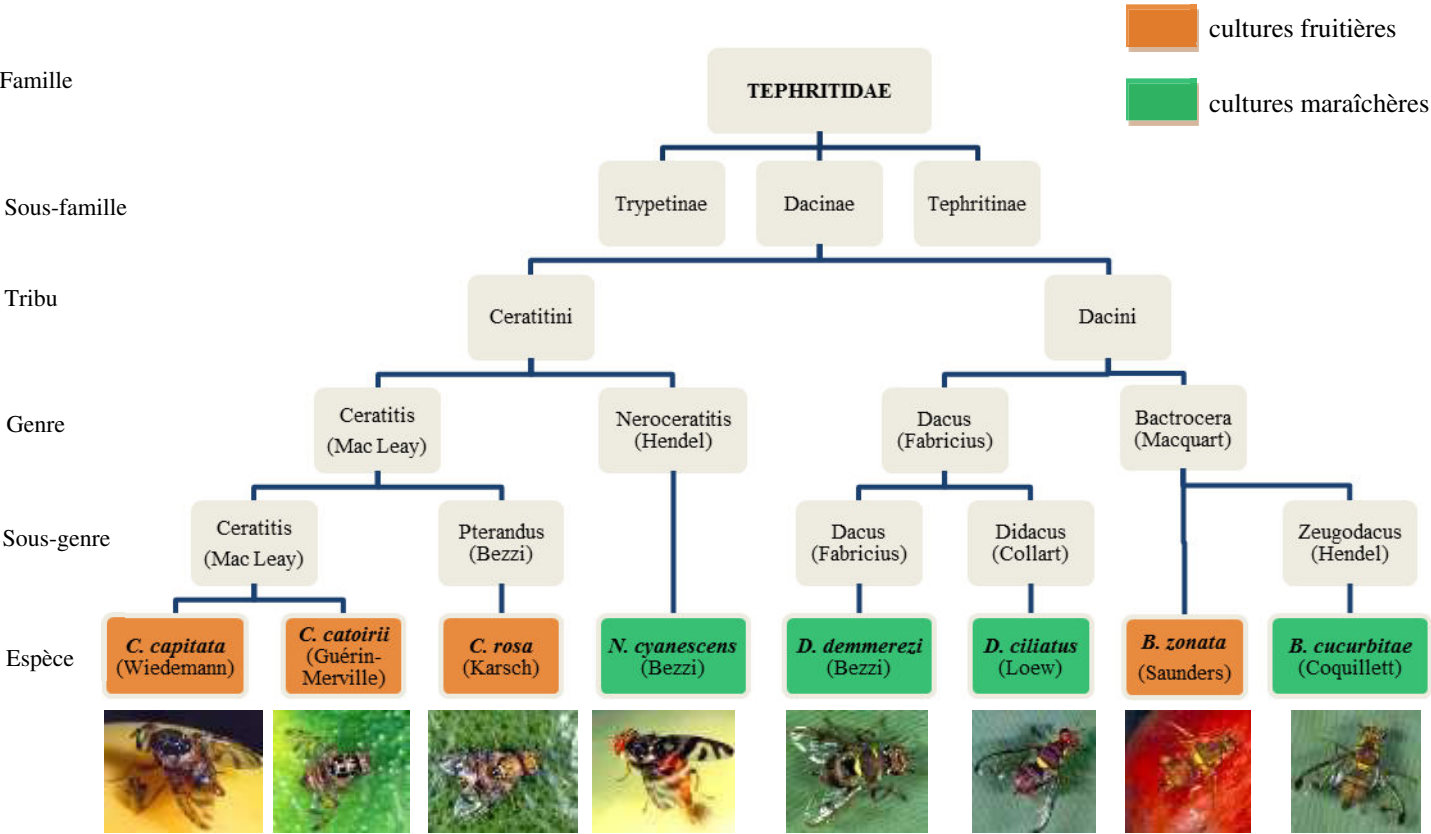


Figure I-24. Position taxonomique des espèces de Tephritidae nuisibles de La Réunion.
(D'après (Norrbon, 2004), Photos : A.Franck-CIRAD)

III.3.2 *Bactrocera cucurbitae* : un ravageur majeur des cultures de Cucurbitaceae à La Réunion

III.3.2.1 Généralités et bioécologie

Dans le cadre de cette thèse, les recherches seront focalisées sur *Bactrocera* (*Zeugodacus*) *cucurbitae* (la mouche du melon). L'adulte, de couleur orangée, possède un scutum avec trois lignes médianes jaunes parallèles, deux larges bandes jaunes latérales et deux macules noires frontales. Les ailes portent trois taches noires (**Planche 1**).

La Mouche du melon, originaire d'Asie (Dhillon *et al.*, 2005), est aujourd'hui largement répandue en Asie, en Afrique et dans plusieurs îles de l'Océan Pacifique (White & Elson-Harris, 1992 ; Dhillon *et al.*, 2005) et de l'Océan Indien (La Réunion, Île Maurice, Les Seychelles) (Orian & Moutia, 1960 ; Etienne, 1972) (**Figure I-25**).

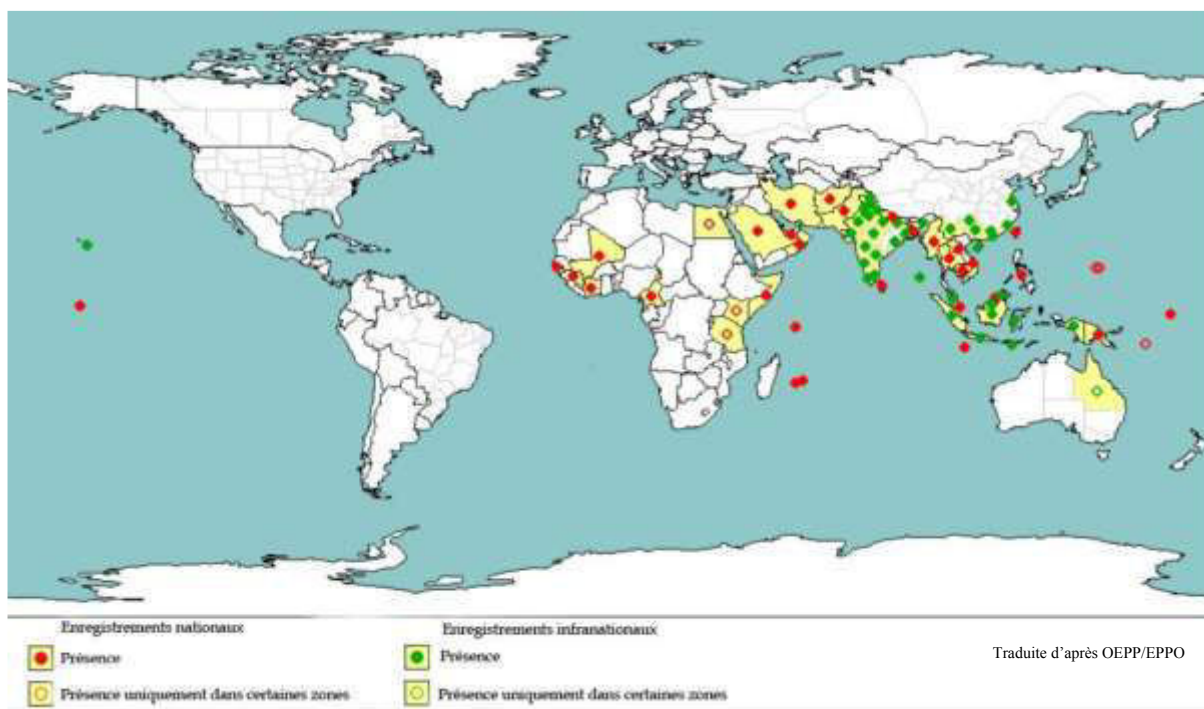


Figure I-25. Distribution mondiale de *Bactrocera cucurbitae* (OEPP/EPPO, 2006)

Cette espèce est l'un des Tephritidae ayant la plus grande importance économique au monde (Weems, 1964 ; White & Elson-Harris, 1992). Elle figure sur la liste de quarantaine A1 de l'OEPP au sein de la vaste catégorie des « Trypetidae non-européens » ; elle a aussi une importance de quarantaine pour l'APPPC (Asia and Pacific Plant Protection Commission), la COSAVE (Comité de Sanidad Vegetal del Cono Sur), la CPPC (Caribbean Plant Protection

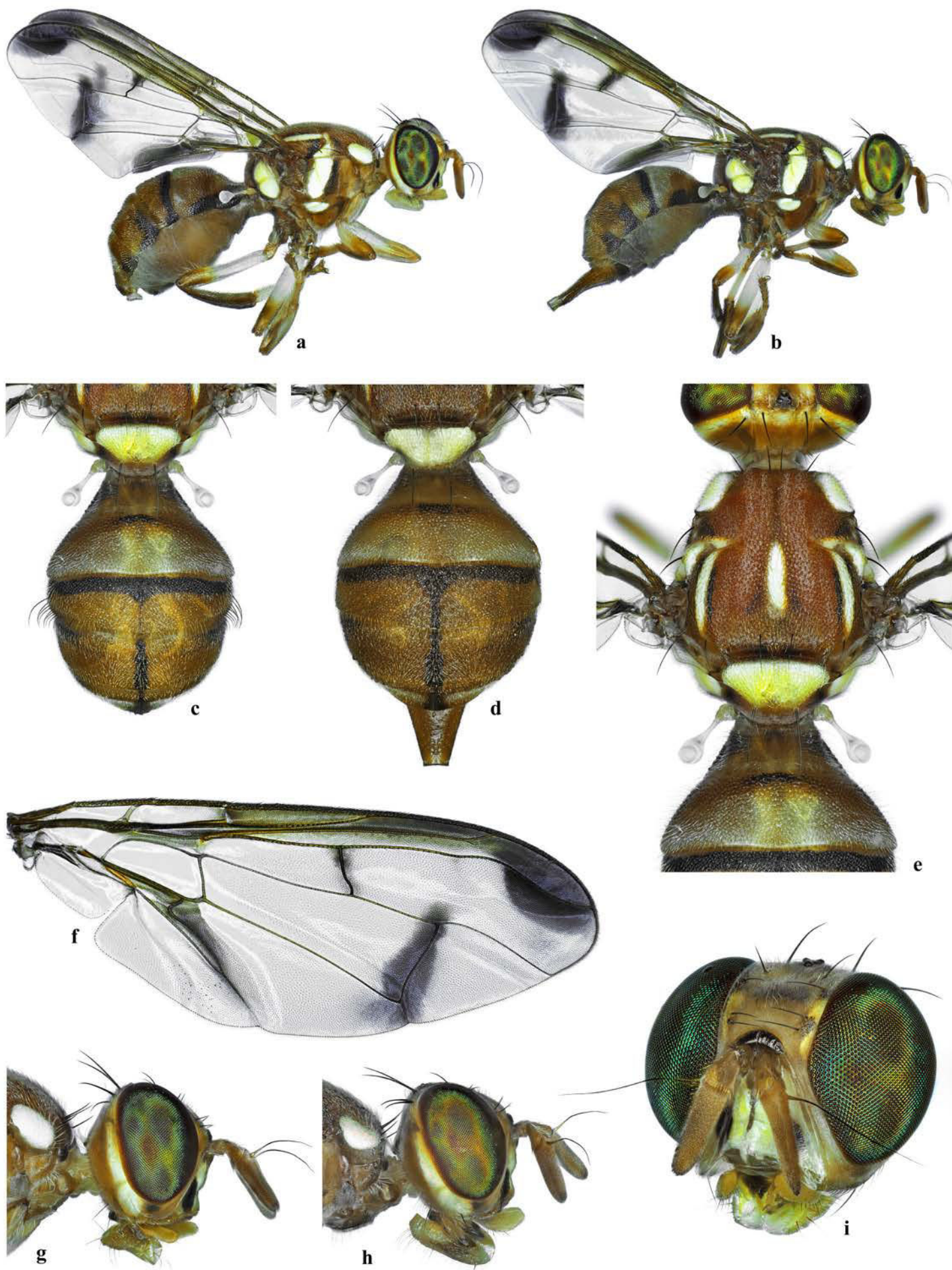


Planche 1: *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett)

a. mâle en vue latérale; **b.** femelle en vue latérale; **c.** abdomen du mâle en vue dorsale; **d.** abdomen de la femelle en vue dorsale; **e.** thorax et scutellum en vue dorsale; **f.** aile; **g.** tête du mâle en vue latérale; **h.** tête de la femelle en vue latérale; **i.** tête du mâle en vue frontale.

Commission), la JUNAC (JUNta del Acuerdo de Cartagena) et l'OIRSA (Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria) (OEPP/EPPO, 1983).

À La Réunion et à l'Île Maurice, *B. cucurbitae* constitue la principale nuisance sur les cultures de Cucurbitaceae (Vayssières *et al.*, 2008). Recensée à La Réunion en 1972, elle a sans doute été introduite à partir de l'Île Maurice, qu'elle avait probablement colonisée à partir de l'Inde en raison du grand nombre d'échanges commerciaux entre ces deux pays (Etienne, 1982). La distribution des adultes de *B. cucurbitae* est essentiellement liée à des facteurs climatiques notamment l'humidité et la température, ainsi qu'à la disponibilité en plantes-hôtes (Vayssières, 1999). Les facteurs abiotiques tels que la température, l'humidité et la lumière, jouent un rôle important sur l'abondance des mouches en intervenant directement ou indirectement sur les taux de développement, de mortalité et de fécondité (Bateman, 1972). Pour *B. cucurbitae*, des températures comprises entre 18 et 29 °C et une humidité entre 60 et 70% permettent un taux de reproduction optimal, alors que des températures trop basses réduisent au contraire les taux de survie et de reproduction (Vargas *et al.*, 2000 ; Dhillon *et al.*, 2005). Ainsi, à La Réunion, *B. cucurbitae* se retrouve essentiellement à des altitudes inférieures à 1200 mètres (en été austral) avec une forte abondance jusqu'à 600 m (Vayssières, 1999).

A travers le monde, *B. cucurbitae* est considérée comme une espèce à tendance polyphage recensée sur plus de 125 plantes hôtes réparties dans trois familles (Cucurbitaceae, Passifloraceae, Solanaceae) et 12 genres (Metcalf & Metcalf, 1992). Néanmoins, dans l'Océan indien, cette espèce multivoltine[□] a un régime oligophage puisqu'elle infeste principalement 16 espèces (cultivées ou sauvages) de la famille des Cucurbitaceae (Vayssières, 1999) (**Tableau I-2**).

Les espèces sauvages de Cucurbitaceae jouent un rôle de plantes réservoirs, permettant la reproduction de *B. cucurbitae* tout au long de l'année, particulièrement lorsque la production des plantes cultivées est moins dense. A La Réunion, quelques rares attaques de *B. cucurbitae* ont été recensées sur deux espèces de fruits de la passion *Passiflora foetida* L. (sauvage) et *Passiflora edulis* Sim. (Vayssières, 1999). De plus, dans cette île, il a été constaté que *B. cucurbitae* ne s'attaquait pas à la tomate et à la papaye (*Carica papaya* L.) (Quilici & Jeuffrault, 2001), alors qu'elle provoque des dégâts importants sur ces cultures dans d'autres parties du monde : Inde (Ranganath & Veenakumari, 1996), Cameroun (Fontem *et al.*, 1999), Hawaii (Vargas *et al.*, 1990) et Bénin (Vayssières *et al.*, 2007). Il a été suggéré que cette espèce a restreint son régime alimentaire suite à des pressions de compétition pour les

ressources avec *N. cyanescens* pour la tomate, et avec les nombreuses espèces de *Ceratitis* pour les autres fruits (Ryckewaert *et al.*, 2010).

Les Dacini sont des insectes diurnes (Vayssières, 1999). Durant la nuit, ils restent au repos sous les feuilles de plantes-hôtes ou d'autres plantes. Leur activité diurne se résume à se nourrir, à s'accoupler, à pondre, à se déplacer ou à rester à l'abri. Certaines activités sont liées à des moments spécifiques de la journée, en raison de l'interaction entre le rythme circadien et des facteurs abiotiques comme la température et l'intensité de la lumière (Fletcher, 1987). Le pic principal d'activité alimentaire se situe en général durant la matinée (Syed, 1969) ainsi que les comportements de ponte (Nishida & Bess, 1957). L'activité s'arrête en soirée quand l'intensité lumineuse devient le facteur limitant.

Chez les Dacini, l'accouplement et la prise de nourriture se réalisent essentiellement sur des plantes non-hôtes (Bateman, 1972 ; Matanmi, 1975), qui ne sont impliquées ni dans la ponte ni dans le développement des larves. L'activité sexuelle des Dacini débute généralement au crépuscule avec la décroissance de la luminosité (Bateman, 1972). Les mâles de *B. cucurbitae* forment alors des leks[☞] sur les plantes non-hôtes (Iwahashi & Majima, 1986) et courtisent les femelles en faisant vibrer leurs ailes et en émettant une phéromone sexuelle (Kuba & Koyama, 1985 ; Kuba & Sokei, 1988). La plupart des adultes de Dacini sont de bons voiliers et peuvent parcourir de très grandes distances (Christenson & Foote, 1960). Des études ont montré que les jeunes adultes de Dacini ont tendance à se déplacer vers la végétation sauvage en dehors du champ (Nishida & Bess, 1957).

Tableau I-2. Liste des plantes hôtes de *Bactrocera cucurbitae* à La Réunion (Vayssières, 1999).

Espèces	Noms vernaculaires	Cultivée (C) Sauvage (S)
<i>Citrullus colocynthis</i> L.	coloquinte	C
<i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.)	pastèque	C
<i>Coccinia grandis</i> (L.) Voigt.	calebasse lierre	S
<i>Cucumis anguria</i> L.	concombre sauvage	S
<i>Cucumis melo</i> L.	melon	C
<i>Cucumis sativus</i> L.	concombre	C
<i>Cucurbita maxima</i> Duchesne	potiron (citrouille)	C
<i>Cucurbita moschata</i> Duchesne	citrouille pays	C
<i>Cucurbita pepo</i> L.	courgette	C
<i>Cyclanthera pedata</i> (L.) Schrad.	margose lisse / de l'Inde	C
<i>Lagenaria siceraria</i> (Molina) Standl.	calebasse	C
<i>Lagenaria sphaerica</i> (Sond.) Naudin	calebasse sauvage	S
<i>Luffa acutangula</i> Mill.	pipangaille à côte	C
<i>Luffa cylindrica</i> Mill.	pipangaille lisse	C
<i>Momordica charantia</i> L.	margose cultivée	C
<i>Momordica charantia</i> L.	margose sauvage	S
<i>Sechium edule</i> (Jacq.) Sw.	chouchou	C/S
<i>Trichosanthes cucumerina</i> L.	patole	C

III.3.2.2 Ecologie chimique de l'espèce avec ses plantes-hôtes

La médiation chimique entre *B. cucurbitae* et ses plantes a été peu étudiée. L'attractivité des odeurs complètes de fruits broyés de plusieurs espèces a été mesurée dans des cages extérieures. L'odeur du concombre (*Cucumis sativus* L.) (pulpe et peau) et celle du melon *Cucumis melo* L. (pulpe) se sont avérées plus attractives que celle de la tomate *Lycopersicon esculentum* L. (pulpe et peau). L'odeur de courge Kabocha, *Cucurbita maxima* Duchesne, (pulpe) s'est avérée plus attractive que celle de la margose *Momordica charantia* L., mais pas plus attractive que celle de la courgette *Cucurbita pepo* L. (Miller *et al.*, 2004). Dans une

autre étude, en association avec des leurres colorés, l'odeur de concombre (*C. sativus*) s'est avérée plus attractive pour les femelles de *B. cucurbitae* que celle de la courgette (*C. pepo*), de la calebasse lierre (*Coccinia grandis* L.), de la papaye (*Carica papaya* L.) ou de la tomate (*L. esculentum*). L'ajout d'une odeur de concombre augmente fortement l'attractivité d'hémisphères jaunes, ce qui indique que les stimuli visuels et olfactifs sont synergiques dans la réponse de femelles de *B. cucurbitae* sexuellement matures (Piñero *et al.*, 2006).

D'autre part, peu d'études ont identifié au sein des fruits attractifs les composés volatils qui sont particulièrement impliqués dans l'attraction des femelles de *B. cucurbitae*. Jacobson *et al.* (1971), au cours d'une évaluation de l'attractivité pour les femelles de *B. cucurbitae* de différents dérivés de l'acétate de nonényle, ont montré que l'acétate de nonén-1-ol était attractif. Plus récemment, des études de CG-EAD utilisant des purées de concombre frais et fermenté ont permis d'identifier 31 composés déclenchant une réponse électroantennographique des femelles de cette espèce. Parmi différents mélanges testés en olfactomètre rotatif extérieur, un mélange à base de 9 composés s'est avéré très prometteur. Dans des tests au champ, ce mélange a montré une attractivité biaisée en faveur des femelles et deux fois supérieure à celle d'un mélange protéiné (Solulys) (Siderhurst & Jang, 2010).

Chapitre II

Réponses des femelles de *Bactrocera cucurbitae* aux effluves de fruits de Cucurbitaceae



Chapitre II - Réponse des femelles de *Bactrocera cucurbitae* aux odeurs de fruits de Cucurbitaceae

I. Réponses des femelles de *B. cucurbitae* aux odeurs de divers fruits-hôtes

A travers le monde, *B. cucurbitae* est considérée comme une espèce à tendance polyphage, recensée sur plus de 125 plantes hôtes réparties dans trois familles (Cucurbitaceae, Passifloraceae, Solanaceae) et 12 genres (Metcalf & Metcalf, 1992). Cependant, dans la majorité des pays de son aire de distribution et notamment dans les îles du sud-ouest de l'Océan indien, cette espèce montre une préférence très marquée pour la famille des Cucurbitaceae, avec par exemple 16 espèces de cette famille recensées comme hôtes à La Réunion (Vayssières, 1999). Cette préférence pour cette famille de plantes est conditionnée par le choix des femelles lors des processus de localisation du fruit-hôte en vue de l'oviposition. Les femelles sont ainsi capables de reconnaître ces plantes et particulièrement le fruit par le biais de stimuli olfactifs et visuels, afin de choisir le fruit-hôte dans lequel se développera sa progéniture. L'importance des stimuli olfactifs émis par les fruits-hôtes dans la localisation à distance a été montrée chez plusieurs espèces de Tephritidae: *R. pomonella* (Reissig *et al.*, 1985 ; Jones, 1988 ; Jones & Davis, 1989 ; Agnello *et al.*, 1990), *N. cyanescens* (Brévault & Quilici, 2010a), *C. capitata* (Prokopy & Vargas, 1996) ou encore *Anastrepha suspensa* (Nigg *et al.*, 1994). Concernant *B. cucurbitae*, peu d'études ont évalué l'importance de la nature des stimuli olfactifs dans le processus de localisation de sites de ponte par les femelles de cette espèce (Miller *et al.*, 2004 ; Piñero *et al.*, 2006). Ces études antérieures ont plutôt comparé en situation de choix l'attractivité de quelques fruits (maximum trois) (Miller *et al.*, 2004) à des appâts protéinés, ou comparé des odeurs de fruits associés à des stimuli visuels (Piñero *et al.*, 2006).

Dans ce chapitre, sera exposée l'étude de la réponse des femelles de *B. cucurbitae* à l'odeur d'une large gamme de fruits-hôtes de la famille des Cucurbitaceae. Cette gamme s'étend à 15 espèces différentes, certaines se déclinant en plusieurs variétés. Ainsi, un total de 27 types de fruits ont été testés.

Dans un premier temps, l'objectif a été de mettre au point une méthodologie et un dispositif de mesure de l'attractivité de l'odeur des fruits pour les femelles de *B. cucurbitae*, en conditions contrôlées. Cette méthodologie se propose de ne mettre en jeu que les stimuli

olfactifs, et doit aboutir à des mesures répétables et comparables pour les différents fruits testés.

Dans un deuxième temps, la réponse des femelles à l'odeur des 27 fruits-hôtes sélectionnés, à différents stades de leur maturation, a été évaluée.

Enfin, dans un troisième temps, l'attractivité des 27 fruits pour les femelles a été comparée, afin d'établir un classement des fruits selon leur niveau d'attractivité.

I.1 Matériel biologique

I.1.1 Les mouches

L'ensemble des expérimentations a été réalisé avec des femelles de *B. cucurbitae* adultes élevées dans des chambres climatiques en conditions contrôlées ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ d'humidité relative et photopériode de 12 h) pendant 47 générations au laboratoire d'Ecologie Terrestre et de lutte intégrée (CIRAD, Pôle de Protection des Plantes)

(Figure II-1). La souche de mouches utilisée était issue de citrouilles (*Cucurbita maxima* L.) infestées et collectées en juin 2000 sur



Figure II-1. Cage d'élevage de *Bactrocera cucurbitae* en chambre climatique

(Photo : K. Bouly, CIRAD)

trois localités à La Réunion (Petite Ile, Bassin Martin et Piton Saint Leu). Leur alimentation était constituée de sucre de canne cristallisé et d'hydrolysate enzymatique de levure de bière (ICN Biomedicals, Aurora, OH, USA), l'apport continu en eau étant assuré par des éponges dont la base est immergée dans un récipient. Cinq fois par semaine, une courgette (*Cucurbita pepo* L.), substrat de ponte, a été introduite pendant une heure dans la cage mère d'élevage (femelles pondeuses). La courgette contenant les œufs a ensuite été placée dans un récipient tapissé de fécule de pomme de terre qui absorbe l'excédent d'humidité. Les larves ont été régulièrement nourries avec de la citrouille et à la fin de leur cycle, sautaient pour s'empurger dans le sable placé sous le récipient. Les pupes ont été récoltées par tamisage du sable et placées dans des cages cubiques de 40 x 40 x 40 cm jusqu'à émergence des adultes, ce qui permettait d'obtenir pour les essais des cohortes d'adultes d'âges déterminés. La nouvelle cohorte d'adultes a disposé des mêmes conditions de nourriture et d'eau *ad libitum* que les

adultes de la cage mère, mais les femelles sont restées naïves c'est-à-dire qu'elles n'ont eu aucun contact avec des plantes hôtes et donc aucune expérience de ponte sur des fruits hôtes depuis leur émergence. Les femelles utilisées pour les tests étaient donc naïves et sexuellement matures (25 à 30 jours). Elles ont été prélevées par aspiration à partir des cages d'élevage plusieurs heures avant le début des essais et placées dans les dispositifs expérimentaux.

I.1.2 Le matériel végétal

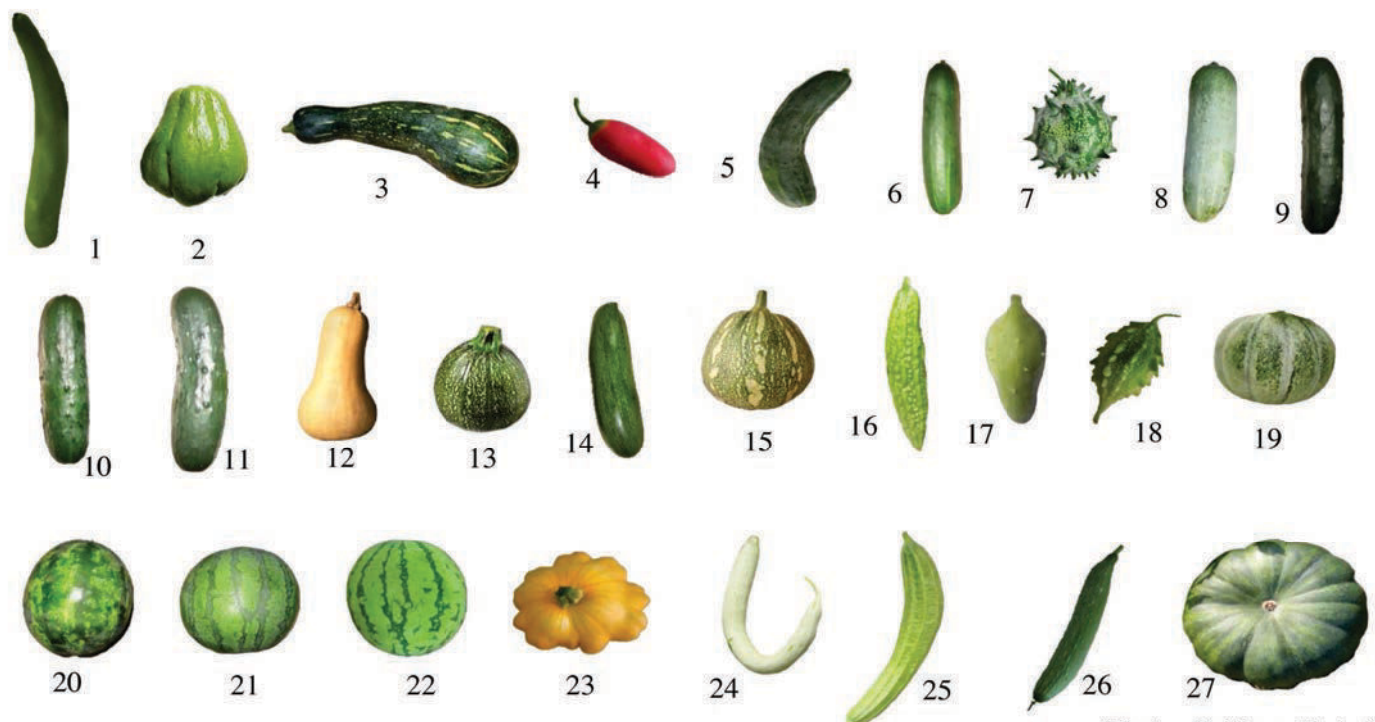
Les fruits de différentes espèces et variétés végétales (Cucurbitaceae) utilisés dans ce travail sont présentés dans la **planche 2**.

Le choix des espèces de Cucurbitaceae à étudier au cours de cette étude, a été réalisé en accord avec la liste des plantes-hôtes de *B. cucurbitae* établie par Vayssières (1999). De plus, pour certaines espèces, plusieurs des variétés ont été sélectionnées. Cette sélection a été réalisée dans le but de représenter au mieux la diversité des Cucurbitaceae présentes sur l'île tout en favorisant les variétés les plus communément cultivées.

Vingt-sept types de fruits différents, correspondant à 15 espèces, ont été sélectionnés :

- 6 variétés de *Cucumis sativus* (L.)
- 1 variété de *Cucumis metuliferus* E. Mey. ex Naudin
- 3 variétés de *Cucumis lanatus* (Thunb.) Matsun & Nakai
- 1 variété de *Cucumis melo* (L.)
- 2 variétés de *Cucurbita maxima* Duchesne ex Lam.
- 2 variétés de *Cucurbita moschata* Duchesne ex Poir.
- 2 variétés de *Cucurbita pepo* (L.)
- 2 variétés de *Momordica charantia* (L.)
- 1 variété de *Luffa cylindrica* M. Roemer
- 1 variété de *Luffa acutangula* (L.)
- 1 variété de *Trichosanthes cucumerina* (L.)
- 1 variété de *Lagenaria siceraria* (Molina) Standl.
- 1 variété de *Cyclanthera pedata* (L.) Schrader
- 1 variété de *Coccinia grandis* (L.)
- 1 variété de *Sechium edule* (Jacq.) Sw.

Planche 2: Fruits de Cucurbitaceae étudiés



(Photos: T Atiama-Nurbel)

Noms des variétés	Espèces	Noms génériques
1 calebasse longue	<i>Lagenaria siceraria</i>	calebasse
2 chouchou	<i>Sechium edule</i>	chouchou
3 citrouille pays	<i>Cucurbita moschata</i>	citrouille
4 calebasse lierre	<i>Coccinia grandis</i>	coccinia
5 concombre antilla F1	<i>Cucumis sativus</i>	concombre 'antilla'
6 concombre F1-L04	<i>Cucumis sativus</i>	concombre 'F1-L04'
7 concombre du Kenya	<i>Cucumis metuliferus</i>	concombre 'kenya'
8 concombre pays	<i>Cucumis sativus</i>	concombre 'pays'
9 concombre showy green	<i>Cucumis sativus</i>	concombre 'showy green'
10 concombre tropical F1	<i>Cucumis sativus</i>	concombre 'tropical'
11 concombre vantage	<i>Cucumis sativus</i>	concombre 'vantage'
12 courge musquée (Waltham butternut)	<i>Cucurbita moschata</i>	butternut
13 courgette hybride F1 luna	<i>Cucurbita pepo</i>	courgette 'luna'
14 courgette sofia F1	<i>Cucurbita pepo</i>	courgette 'sofia'
15 giraumon F1 martinica	<i>Cucurbita maxima</i>	giraumon
16 courge amère Naja	<i>Momordica charantia</i>	margose cultivée
17 margose lisse	<i>Cyclanthera pedata</i>	margose lisse
18 margose sauvage	<i>Momordica charantia</i>	margose sauvage
19 melon anasta F1	<i>Cucumis melo</i>	melon
20 pastèque baby doll F1	<i>Citrullus lanatus</i>	pastèque 'baby doll'
21 pastèque flower mountain F1	<i>Citrullus lanatus</i>	pastèque 'flower mountain'
22 pastèque longone F1	<i>Citrullus lanatus</i>	pastèque 'longone'
23 courgette patty jaune/ patisson jaune	<i>Cucurbita pepo</i>	patisson
24 patole	<i>Trichosanthes cucumerina</i>	patole
25 pipangaille à côte	<i>Luffa acutangula</i>	pipangaille à côte
26 pipangaille lisse	<i>Luffa cylindrica</i>	pipangaille lisse
27 potiron F1 black night	<i>Cucurbita maxima</i>	potiron

Tout au long des prochains chapitres, le terme « fruit » sera employé pour désigner l'un des 27 types de fruits. Afin de simplifier la compréhension, chaque fruit sera de plus désigné par un nom générique (Planche 2).

Tous les fruits de Cucurbitaceae ont été testés à trois stades de maturité distincts :

- **Fruit jeune** : stade précoce juste après la nouaison (quelques centimètres de longueur)
- **Fruit intermédiaire** : stade de maturation intermédiaire, en cours de croissance
- **Fruit mature** : stade de maturation avancé (fruit au stade de commercialisation)

Seuls deux stades de maturité (jeune et mature) ont pu être testés pour la margose sauvage et la calebasse lierre du fait de la maturation rapide des fruits chez ces deux espèces. La caractérisation des fruits selon leur stade de maturité a été réalisée par la mesure de plusieurs paramètres tels que le poids, la longueur et la largeur du fruit (**Annexe 2, tableau 2.1**).

Ces plantes ont été cultivées en serre « Insect proof » (**Figure II-2**) au CIRAD sur la station de Ligne Paradis avec un itinéraire technique contrôlé (absence de pesticides). La provenance des semences de chacun des fruits est détaillée en **Annexe 2**.



Figure II-2. Serre de culture « insect-proof » pour la production des différentes espèces de Cucurbitaceae.
(Photo: T. Atiama-Nurbel)

La culture des plantes-hôtes en serre sur le site expérimental offre plusieurs avantages :

- ① La cueillette des fruits au stade phénologique souhaité juste avant l'essai ;
- ② La possibilité d'avoir des fruits indemnes de toute attaque de phytophages ;

- ③ Les conditions de culture homogènes pour tous les fruits permettant de mieux comparer leurs émissions de composés volatils.

Le matériel végétal à tester, prélevé sur le plant juste avant les manipulations, a été conservé à température ambiante et a été découpé juste avant le début de l'essai.

Dans ces tests d'attractivité des fruits-hôtes, ont été utilisés des fruits découpés car il s'agit de la procédure classique dans l'étude des composés volatils impliqués dans l'attraction des Tephritidae. En effet, dans toutes les études publiées antérieurement, les fruits ont été soit découpés et soit encore broyés (Quilici *et al.*, 2014). Dans leur étude sur *N. cyanescens*, Brévault & Quilici (2010a) ont ainsi montré que la dénaturation et l'exposition à l'air de la chair des fruits augmentent leur attractivité pour les femelles de cette espèce.

I.2 Mise au point d'un dispositif de mesure de l'attractivité de fruits-hôtes

I.2.1 Matériel et méthode

I.2.1.1 Description du dispositif et procédure générale

Des petites cages de comportement (30 cm x 30 cm x 30 cm) en polyester blanc (largeur de maille : 680 μ m ; MegaView Science Co. Ltd, Taiwan) contenant 30 ou 40 femelles ont été utilisées pour les tests (**Figure II-3**) dans une chambre climatique aux conditions contrôlées ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ d'humidité relative et photopériode de 12 h).



Figure II-3. Petites cages de comportement
(Photo : K. Bouly, CIRAD)

A l'intérieur de ces cages ont été placées des boîtes en polypropylène (Sodico, Réunion) de 11 cm de diamètre et 8 cm de hauteur, qui ont été transformées en dispositifs de « piègeage » avec cinq ouvertures où sont placés des tubes (diamètre d'ouverture : 1 cm ; longueur : 2 cm) afin d'empêcher la sortie des mouches qui ont pénétré dans le piège (**Figure II-4, A**). Les ouvertures ont été percées dans le plastique à 2 cm du fond des boîtes de sorte que les mouches ne puissent pas voir le fruit lorsqu'elles sont à l'entrée d'un tube (**Figure II-4, C**).

Deux types de couvercles peuvent fermer le dispositif : un couvercle grillagé à mailles fines (1 mm²) permettant une diffusion plus importante de l'odeur (**Figure II-4, B1**) et un couvercle totalement étanche (**Figure II-4, B2**).

Dans chaque petite cage, deux boîtes ont été disposées, l'une contenant 30 g de fruit coupé (**Figure II-4, C**) et l'autre vide (témoin). Le nombre de femelles piégées dans les boîtes a été comptabilisé au bout d'un certain temps d'exposition (déterminé en II-2.5.) aux effluves des plantes hôtes.

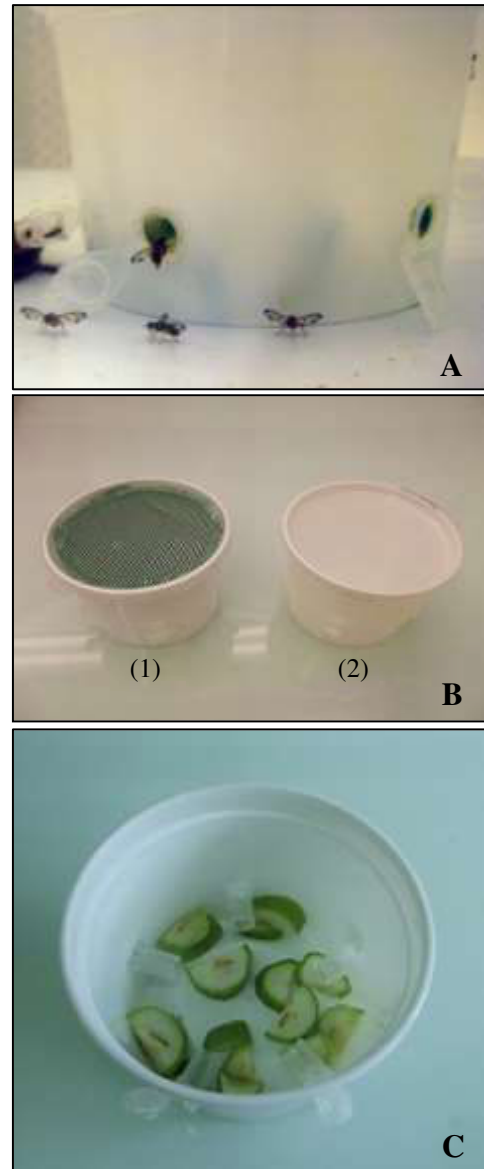


Figure II-4. Boîte de piègeage

A : vue de l'extérieur

B : (1) à couvercle grillagé ; (2) à couvercle étanche

C : remplie de morceaux de 30 g de fruits

(Photos : K. Bouly et T. Atiama-Nurbel, CIRAD)

La mesure de la réponse des femelles est exprimée en proportion, *i.e.* un pourcentage de réponse:

$$\text{Réponse des femelles (\%)} = \frac{Nb_{\text{♀}} \text{ boîte}}{Nb_{\text{♀}} \text{ total}} * 100$$

$Nb_{\text{♀}} \text{ par boîte}$ = nombre de femelles capturées dans la boîte de piègeage

$Nb_{\text{♀}} \text{ total}$ = nombre total de femelles dans la cage (30 ou 40)

Afin de mettre au point un dispositif expérimental optimisé pour la mesure de l'attractivité des femelles pour différents fruits-hôtes, il était nécessaire de déterminer :

- ① Le modèle de boîte de piégeage le plus adapté
- ② L'influence de l'emplacement des cages sur la réponse comportementale des femelles
- ③ La durée optimale des manipulations
- ④ La tranche horaire optimale des manipulations
- ⑤ L'existence éventuelle d'un phénomène de recrutement

I.2.1.2 Diffusion des effluves et choix du type de boîte de piégeage

Aucun flux d'air n'étant présent dans ce dispositif, une des questions qui se pose est de savoir si la diffusion des effluves à partir de la boîte est suffisante. C'est pourquoi deux types de couvercles (avec grillage ou étanche) ont été testés. Pour chacune des trois répétitions, huit cages contenant 50 femelles ont été utilisées selon un dispositif randomisé. Les deux types de boîtes ont été proposés en situation de non-choix, c'est-à-dire qu'au cours d'une répétition, quatre cages ont été utilisées pour chaque type de boîtes. Parmi ces quatre cages, trois contenaient une boîte de piégeage avec 30 g de concombre 'showy green' et une cage avec une boîte témoin (sans odeur). Le nombre de femelles piégées est relevé au bout de 3 heures d'exposition.

I.2.1.3 Existence d'un phénomène de recrutement

Comme pour les manipulations en olfactomètre, l'existence d'un effet de groupe a été testée. Les manipulations ont été répétées deux fois sans odeur de fruit sur 12 cages de 30 mouches. Dans chaque essai, 5 femelles ont été placées dans 6 boîtes et 10 dans 6 autres boîtes. Le nombre de mouches entrées dans la boîte a été comptabilisé après 2 heures pour déterminer si la présence de mouches attirait d'autres individus.

I.2.1.4 Influence de la position des petites cages de comportements

Dans la chambre climatique, deux rangées horizontales et superposées de 9 cages ont été placées. Contrairement à la rangée inférieure, la rangée supérieure était située à proximité immédiate d'un néon (**Figure II-5**). Deux types de dispositifs ont été testés, avec une seule répétition effectuée pour chacun d'eux. Le premier dispositif comprenait 18 petites cages sur deux rangées superposées (9 en position haute et 9 en position basse) et le second dispositif

comprenait 12 cages sur une seule rangée en position basse. Pour les deux dispositifs, chaque cage contenait 50 femelles matures (âgées de 25 à 30 jours) et deux boîtes (une boîte témoin et une boîte avec 30 g concombre ‘showy green’). L’intensité lumineuse à l’intérieur de chaque cage a été mesurée grâce à un luxmètre et le nombre de femelles piégées a été relevé après 3 heures d’exposition.



Figure II-5. Disposition des petites cages sur deux étages en chambre climatique
(Photo : K. Bouly, CIRAD)

I.2.1.5 Durée optimale des manipulations

La durée d’exposition aux odeurs nécessaire pour mettre en évidence l’attraction olfactive a été évaluée. Les essais ont été réalisés sur 12 cages placées sur une seule rangée (position basse) contenant 30 femelles avec 30 g de concombre ‘showy green’ dans chaque boîte. Le nombre de mouches piégées a été relevé toutes les heures pendant 5 h.

I.2.1.6 Tranche horaire optimale pour les manipulations

L’attraction des mouches par le concombre ‘vantage’ a été mesurée pendant 2 heures et ceci pour les quatre tranches horaires suivantes : de 8h00 à 10h00 ; de 10h00 à 12h00 ; de 12h00 à 14h00 et de 14h00 à 16h00. A chaque tranche horaire, 5 nouvelles cages, contenant une boîte renfermant le fruit et une boîte témoin, ont été disposées avec 30 femelles naïves par cage. A la fin de chaque tranche horaire, les femelles entrées dans les boîtes ont été comptées, les essais étant répétés 3 fois.

I.2.1.7 Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R (version 2.15.0, R Development Core Team, 2012, Vienna, Austria) avec un seuil d'erreur des tests fixé à 5%.

- ✓ Pour chacune des expérimentations, afin d'expliquer l'effet de ces différents facteurs sur la proportion de réponse des femelles, un modèle linéaire généralisé (GLM) avec une distribution binomiale des erreurs et la fonction de lien logistique a été construit. En cas de sur-dispersion des données, un GLM avec une distribution quasi binomiale des erreurs est appliqué. Le test de rapport de vraisemblance basé sur le test du Khi-Deux (χ^2) ou le test de Fischer-Snedecor (données sur-dispersées) a permis de tester la significativité des effets. Un test de comparaison de moyennes deux à deux, basé sur la méthode de Tukey HSD, a ensuite été réalisé, afin d'identifier quelle modalité diffère des autres.
- ✓ Afin de déterminer le nombre optimal de cages à tester pour obtenir une bonne répétabilité de la méthode, une approche statistique et théorique a été utilisée : la méthode des intervalles de confiance exacts. Les conditions expérimentales sont telles que, lors d'un essai, au maximum 12 cages sont testées avec au maximum 400 femelles. Il faut donc identifier le nombre de cages optimal pour avoir une variabilité des résultats acceptable et un intervalle de confiance le plus restreint possible et relativement constant pour tous les niveaux d'attractivité des fruits.

Méthodes des intervalles de confiance exacts :

Pour chaque pourcentage attendu de réponse des femelles (de 5 à 95% par pas de 5%), (entre 1 et 12 cages, effectif de 30 ou de 40 femelles par cage), l'intervalle de confiance théorique est calculé selon la méthode de Clopper & Pearson (1934), basée sur la relation entre la loi binomiale $B(n, p)$ et la loi bêta (fonction `binom.test`) :

$$\left\{ \theta \mid P[\text{Bin}(n; \theta) \leq X] \geq \alpha/2 \right\} \cap \left\{ \theta \mid P[\text{Bin}(n; \theta) \geq X] \geq \alpha/2 \right\}$$

X : nombre de succès observés dans l'échantillon

$\text{Bin}(n; \theta)$: distribution binomiale de n essais et de probabilité de succès θ

De manière théorique, la variation de l'intervalle de confiance est la plus large pour une probabilité attendue de 50% de femelles attirées. C'est à partir de 50% de réponse que le nombre de cages optimum est choisi, en comparant l'intervalle de confiance avec les populations de 30 et de 40 mouches afin de garantir des intervalles de confiance les plus fins possibles pour des fruits plus ou moins attractifs. La variabilité aux autres pourcentages de réponse possibles a également été vérifiée. A noter que sur le nombre de cages choisi, il fallait envisager la présence de cages où un problème inattendu pouvait survenir et donc prévoir une marge de cages à éliminer des résultats.

I.2.2 Résultats

I.2.2.1 Diffusion des effluves et choix du type de boîte

La réponse olfactive des femelles n'est pas significativement différente selon le type de couvercle utilisé ($X^2 = 0,29$, ddl = 1, $P = 0,59$) (**Tableau II-1**). Les boîtes à couvercle étanche et celles à couvercle grillagé permettent donc une diffusion d'effluves suffisante pour déclencher une réponse comportementale. A potentiel d'attraction égal, le modèle à couvercle étanche a été retenu car il permet de s'affranchir complètement d'une éventuelle attraction visuelle.

Tableau II-1. Pourcentage moyen (et écart-type) de femelles attirées dans les boîtes avec deux types de couvercle (grillagé et étanche).

La manipulation, répétée trois fois, est réalisée avec quatre cages contenant le modèle de boîtes à couvercle grillagé et quatre contenant le modèle de boîtes à couvercle étanche, toutes renfermant 50 femelles. Toutes les boîtes contiennent 30 g de concombre à l'exception de quatre boîtes témoins de chaque modèle. Les moyennes ayant les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (test du χ^2) selon le modèle GLM appliqué.

Modalité	Pourcentage moyen de réponse $\pm$ écart-type
Boîte à couvercle fermé	69,3 $\pm$ 5,5 ^a
Boîte à couvercle grillagé	71,3 $\pm$ 8,1 ^a

I.2.2.2 Existence d'un phénomène de recrutement

La présence de mouches dans la boîte de piégeage n'a attiré aucun autre individu. On considère donc qu'il n'existe pas de phénomène de recrutement avec ce dispositif.

I.2.2.3 Influence de la position des petites cages sur la variabilité des résultats

Selon le test de rapport de vraisemblance, la position (haute ou basse) des boîtes n'a pas d'influence sur le pourcentage moyen d'attraction ($X^2 = 0,1$; ddl = 1 ; $P = 0,7$). Néanmoins une différence importante d'écarts-types est observée entre les 2 échantillons (**Tableau II-2**), le pourcentage moyen de réponse en position haute ayant un écart-type 2 fois plus élevé (30,7%) que celui observé en position basse (12,2%). L'étendue des écarts-types théoriques est calculée pour les lois binomiales $B(9 ; 0,55)$ et $B(9 ; 0,56)$ respectivement pour les positions basse et haute. Les écarts-types observés se situent en dehors des intervalles de confiance théoriques, ce qui signifie qu'il existe une sur-dispersion des résultats dans les deux positions (**Tableau II-2**).

Tableau II-2. Pourcentage moyen de réponse olfactive en petites cages et écart-type en fonction de la position des cages et de la luminosité.

L'essai est répété une fois sur un total de neuf cages en position basse et neuf cages en position haute, contenant chacune 30 femelles et 30 g de concombre. Les moyennes ayant les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (test du χ^2).

Modalité	Luminosité moyenne (lux) $\pm$ écart-type	Pourcentage moyen de réponse $\pm$ écart-type	Etendue des écarts-types sur les pourcentages de réponse issus de 1000 simulations de 9 cages
Position haute	4005 $\pm$ 286	56,2 $\pm$ 30,7 ^a	3,7 à 10,2
Position basse	2336 $\pm$ 122	55,1 $\pm$ 12,2 ^a	3,8 à 10,2

Afin d'identifier les cages responsables de la sur-dispersion des données dans les 2 positions, la probabilité que chacune d'entre elles suive la même loi binomiale que la population a été testée (fonction rbinom). Le nombre de cages ne suivant pas la loi binomiale de chaque population est de 1 sur 9 en position basse (0,3% de probabilité d'appartenir à la loi binomiale de la population) contre 5 sur 9 en position haute (< 0,1% de probabilité d'appartenir à la loi binomiale de la population). Ainsi, la position basse permet d'avoir un nombre de cages à intégrer dans le modèle d'estimation de l'attraction olfactive deux fois plus important qu'en position haute. C'est pourquoi, pour la suite des essais en petites cages, ces dernières ont été placées en position basse. Néanmoins, l'existence d'une éventuelle sur-dispersion des données dans cette position implique la nécessité d'éliminer les répétitions aberrantes du jeu de données.

Afin d'expliquer la différence de variabilité des réponses selon la position, le facteur luminosité (mesurée en lux) a été considéré. En effet, la forte variabilité des résultats observée en position haute est en lien avec la luminosité. Dans cette position, l'intensité lumineuse est

en moyenne 2 fois plus importante qu'en position basse (1000 lux de variation en position haute contre 400 lux en position basse) (**Tableau II-2**), tout comme les écarts-types également 2 fois plus variables (**Figure II-6**). Néanmoins, ce facteur n'est pas le seul explicatif car pour une même intensité lumineuse des pourcentages de réponse très variables sont observés (**Figure II-6**).

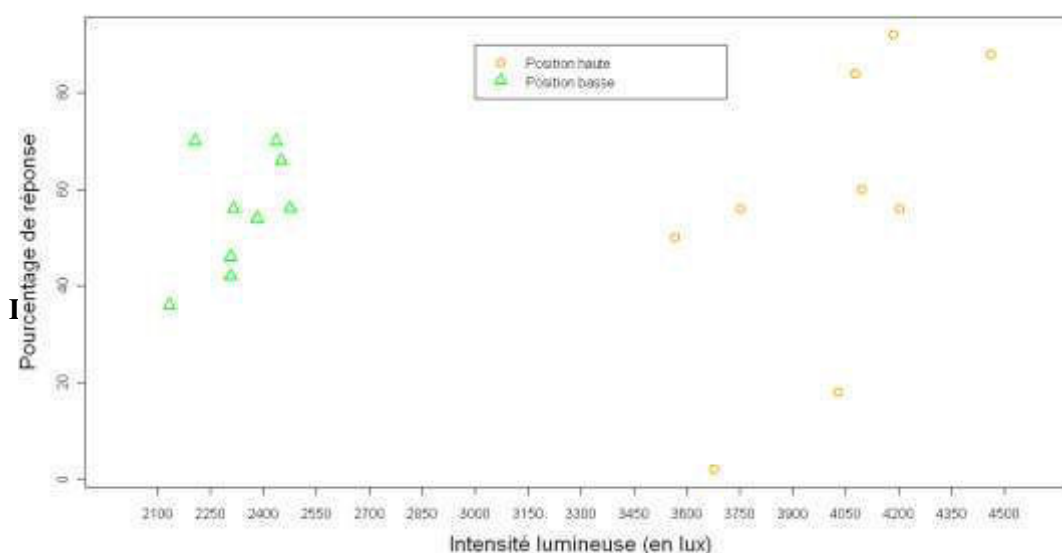


Figure II-6. Pourcentage de femelles attirées dans les boîtes par l'odeur de concombre, en fonction de l'intensité lumineuse et de la position haute ou basse des boîtes.

La manipulation est répétée une fois pour un total de neuf cages dans chaque position contenant chacune 30 femelles et 30 g de fruit dans chaque boîte.

I.2.2.4 Tranche horaire optimale pour les manipulations

La tranche horaire a une influence très significative sur l'attraction des femelles vers l'odeur de concombre ($F_{3,44} = 5,8$; $P < 0,01$). Les pourcentages de réponse entre 8h00 et 10h00, entre 10h00 et 12h00 et entre 12h00 et 14h00 ne diffèrent pas de manière significative ($P > 0,05$) (**Figure II-7**). De plus, ces trois tranches horaires présentent un taux d'attraction olfactive significativement supérieur à celui observé de 14h00 à 16h00 ($P < 0,05$). Les essais ultérieurs seront donc être mis en place entre 8h00 et 14h00, période où la réponse olfactive lors de la recherche d'un site de ponte est maximale.

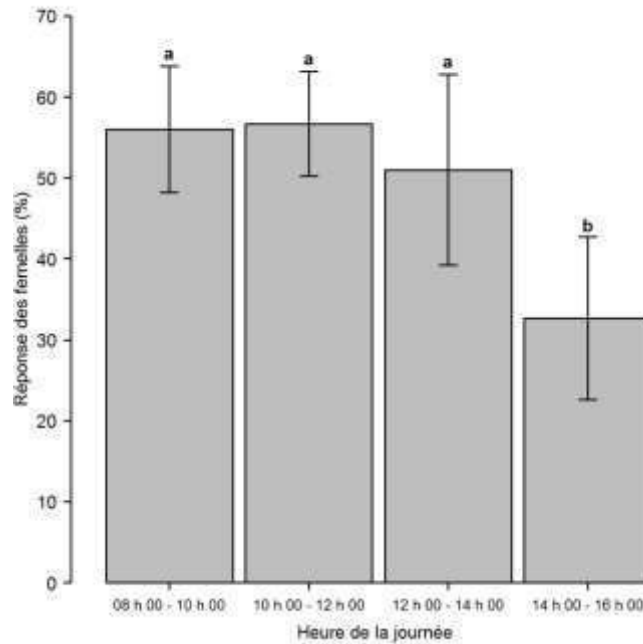


Figure II-7. Pourcentage moyen de femelles attirées par l'odeur de concombre dans le dispositif de petites cages en fonction de la tranche horaire de la journée et intervalle de confiance asymptotique.

La manipulation est répétée une fois pour un total de 30 femelles par cage. Par tranche horaire, cinq cages sont utilisées avec chacune une boîte contenant 30 g de concombre. Les moyennes ayant les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (test de Tukey).

I.2.2.5 Durée optimale des manipulations

La durée des manipulations n'a pas d'effet significatif sur la réponse olfactive des femelles ($X^2 = 3,8$; ddl = 4 ; $P = 0,4$). Néanmoins, une légère augmentation du nombre de femelles attirées dans les boîtes entre la première et la deuxième heure est observée (**Figure II-8**). Par mesure de précaution, une durée d'exposition aux odeurs de 2 heures a été choisie pour toutes les manipulations en petites cages.

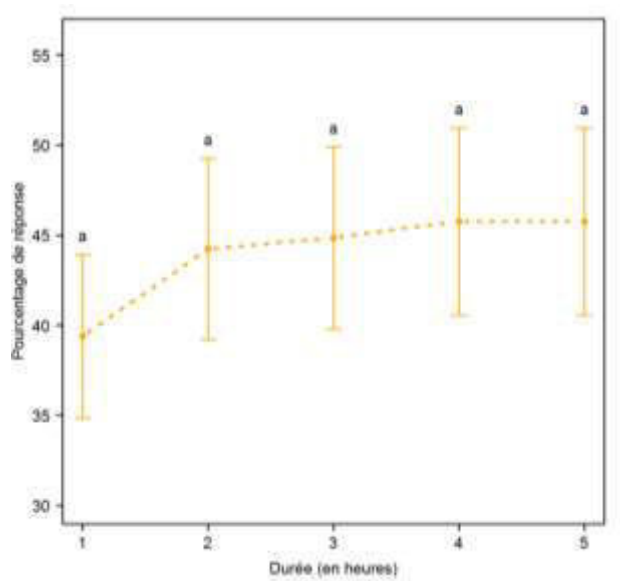


Figure II-8. Evolution du pourcentage moyen de femelles attirées par l'odeur de concombre, en fonction de la durée de la manipulation, et intervalle de confiance asymptotique écart-type associé.

L'essai est répété une fois sur un total de douze cages contenant 30 femelles et 30 g de fruit par boîte. Les moyennes ayant les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (test de Tukey).

I.2.2.6 Nombre optimal de cages pour une bonne répétabilité de la méthode

L'intervalle de confiance (IC) théorique du pourcentage de réponse (de 5% à 95% par pas de 5%), a été calculé pour toutes les combinaisons possibles entre le nombre de cages (de 1 à 12) et le nombre de femelles par cage (30 ou 40). Les résultats sont présentés pour un taux de réponse moyen attendu de 50%, car c'est à ce niveau de réponse que l'étendue de l'IC est la plus large, ce qui signifie que les résultats risquent d'être les plus variables. On se place donc à ce niveau de réponse pour sélectionner le nombre de cages permettant d'avoir une étendue de l'IC la plus faible possible pour un nombre de femelles de 30 et de 40 par cage. Compte tenu des restrictions dues à la production de mouches (400 mouches par essai), au maximum 10 cages contenant 40 mouches ou 12 cages contenant 30 mouches pouvaient être utilisées dans le dispositif. Pour 30 ou 40 mouches par cage, les nombres de cages dont les étendues de l'IC étaient les plus faibles, ont été retenus. Avec 40 mouches par cage, la variation de l'étendue de l'IC est faible entre un dispositif à 10 et à 9 cages (respectivement 10,0 et 10,6). La variation de l'étendue de l'IC est équivalente pour un dispositif à 12 et à 11 cages de 30 mouches (respectivement 10,6 et 11,1). Pour un nombre total de mouches utilisées de 360 et une étendue de l'IC de 10,57, deux types de dispositifs sont possibles : 9 cages de 40 mouches ou 12 cages de 30 mouches (**Tableau II-3**). Le dispositif à 12 cages de 30 femelles a donc été

retenu, car il permet d'effectuer trois répétitions (cages) de plus par rapport à l'autre dispositif. Ceci permet de conserver une étendue de l'IC correcte même dans le cas où des répétitions aberrantes sont éliminées.

Tableau II-3. Intervalle de confiance (IC) théorique calculé selon la méthode de Clopper et Pearson pour un pourcentage de réponse moyen attendu de 50%, pour sept à douze cages et pour 40 ou 30 femelles par cage.

Nombre de femelles par cage	Nombre de cage	Etendue de l'IC (%)	Nombre total de femelles pour la manipulation
40	10	10,0	400
	9	10,6	360
	8	11,2	320
	7	12,0	280
30	12	10,6	360
	11	11,1	330
	10	11,6	300
	9	12,2	270

En conclusion, le dispositif de petites cages de comportement retenu est le suivant :

- 12 cages alignées sur la rangée inférieure de la salle climatique ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ d'humidité relative et photopériode de 12h)
- Chaque cage contenant 30 femelles (naïves et âgées de 25 à 30 jours) et 2 boîtes de piégeage à couvercle étanche (1 boîte témoin et 1 boîte avec 30 g de fruit).
- Les essais se déroulant entre 8h00 et 14h00 avec une durée de chaque essai de 2h

I.3 Réponses des femelles aux odeurs de divers fruits-hôtes

I.3.1 Procédure générale

Il s'agit ici de mesurer l'attractivité de différents fruits hôtes à différents stades de maturité et de vérifier l'absence d'attraction d'un fruit non hôte. Les fruits hôtes testés sont listés dans la partie II-2 (**Planche 2 et Annexe 2**), et le fruit non hôte sélectionné est le raisin (*Vitis vinifera* L.) de variété 'red globe'. Tous les fruits de Cucurbitaceae ont été testés à trois stades de maturité distincts (jeune, intermédiaire et mature) sauf la margose sauvage et la calebasse lierre (testés à deux stades : jeune et mature) (**Annexe 2**).

La mesure de l'attractivité des fruits a été réalisée dans le dispositif de petites cages décrit dans la partie II-1.2. et, selon les modalités optimisées décrites dans l'encadré ci-dessus. La mesure de l'attractivité de chaque fruit a été répétée 12 fois.

I.3.2 Analyse statistique

Toutes les analyses statistiques sont réalisées avec le logiciel R (version 2.15.0, R Development Core Team, 2012, Vienna, Austria) et le seuil d'erreur des tests est fixé à 5%.

- ✓ Au terme des essais, certaines répétitions peuvent avoir des niveaux de réponse aberrants. Aussi, pour ne pas fausser la valeur d'attractivité moyenne calculée pour chaque fruit à chaque stade de maturité, il conviendra d'exclure des analyses ces répétitions aberrantes. Pour exclure ces valeurs, la modélisation des données par des modèles GLM (distribution quasibinomiale logistique) permet d'identifier les répétitions qui sont les plus mal expliquées par les modèles construits.

Etant donné que pour certains fruits étudiés, la réponse des femelles n'a pas été mesurée pour les trois stades de maturité, deux modèles GLM (complets) ont été construits :

- Modèle 1 : $Y \sim \text{variété} * \text{stade}$ (sans les variétés n'ayant pas les trois stades)

- Modèle 2 : $Y \sim \text{variété} * \text{stade}$ (sans le stade intermédiaire car non-représenté chez toutes les variétés)

$Y = \text{réponse des femelles}$; * interactions entre les facteurs

Sur ces modèles, les calculs de l'indice de DFFITS (Belsley *et al.*, 1980 ; Cook & Weisberg, 1982) pour chaque observation (répétition) permettent d'identifier les observations influençant l'estimation du modèle. Si pour les deux modèles, la répétition est considérée comme influente selon le calcul de DFFITS, elle est éliminée du jeu de données.

Tous les tests statistiques réalisés à partir des données de réponse des femelles ont été pratiqués sur ce nouveau jeu de données.

- ✓ Afin de comparer pour chaque fruit la réponse des femelles en fonction du stade de maturité et afin de comparer à un stade de maturité donné les réponses des femelles aux différents fruits, des tests de comparaisons multiples basés sur la fonction `pairwise.prop.test` avec la méthode d'ajustement « BY » (Benjamini & Yekutieli, 2001) du package « stats » du logiciel R ont été réalisés.

I.3.3 Résultats

I.3.3.1 Réponse des femelles au cours de maturation des fruits

L'évolution au cours de la maturation du pourcentage de réponse pour chacun des fruits est présenté en **Planche 3**. Parmi les 27 fruits testés, 26 ont montré, selon le stade de maturité considéré, des différences dans l'attraction des femelles (excepté le concombre 'antilla'). Aucune tendance commune d'attractivité selon le stade de maturité du fruit, entre les espèces hôtes, ne peut être dégagée. Pour certaines espèces hôtes, ce sont les fruits mûrs qui sont les plus attractifs, alors que pour d'autres ce sont les fruits jeunes et pour d'autres encore, les fruits en pleine croissance (intermédiaire). Dans certains cas, certains fruits possèdent deux stades sur trois avec des niveaux de réponse significativement équivalents.

Cependant, il est possible de constater que sur les 27 fruits testés, 19 d'entre eux voient leur stade jeune être plus attractif (**Figure II-9**).

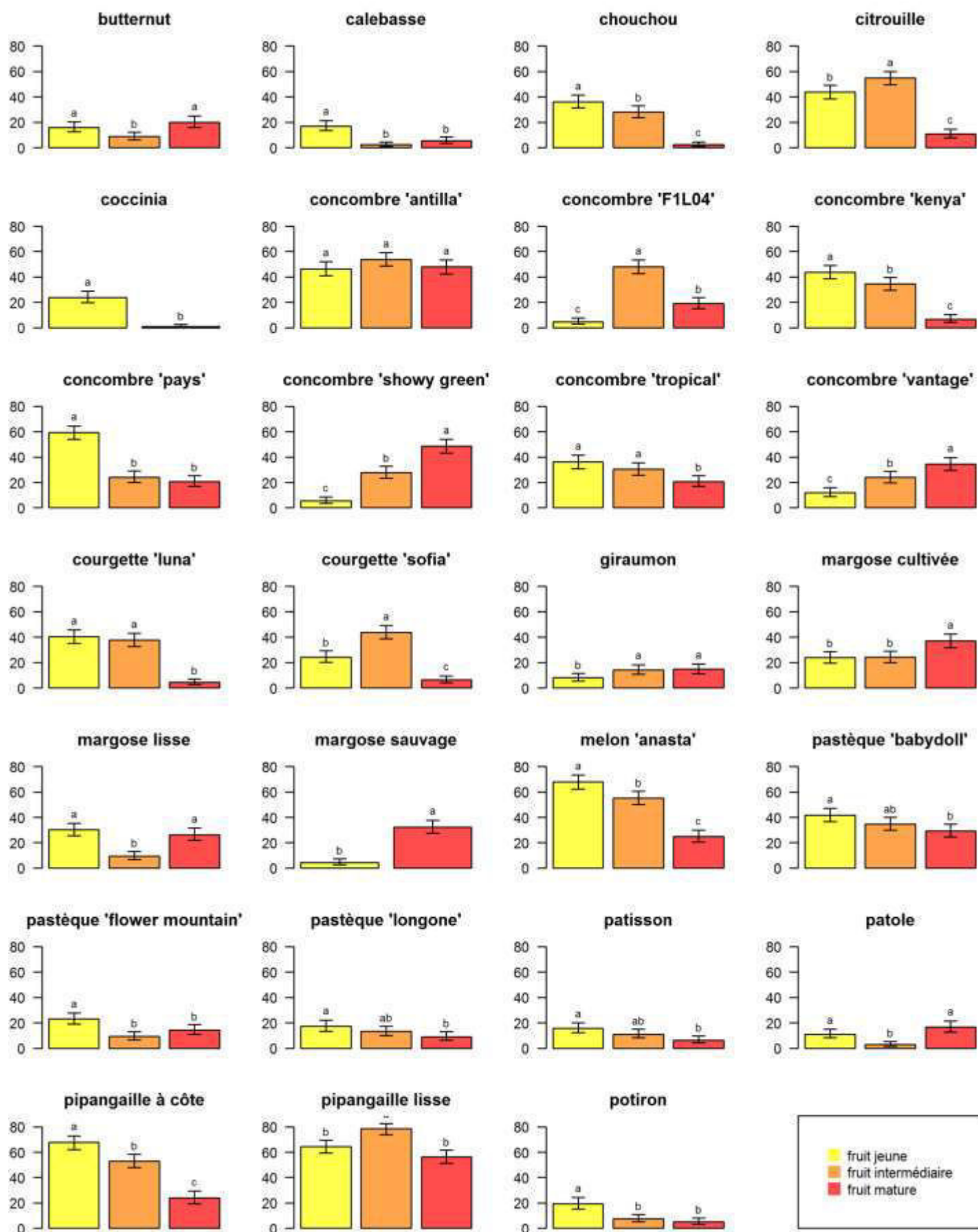


Planche 3. Réponses des femelles aux 27 fruits-hôtes de Cucurbitaceae, aux trois stades de maturité (jeune, intermédiaire et mature), en petites cages.

La réponse est exprimée en pourcentage moyen avec son intervalle de confiance asymptotique (à 95%), valeurs calculées sur 12 répétitions. Les moyennes ayant les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (test du pairwise.prop.test).

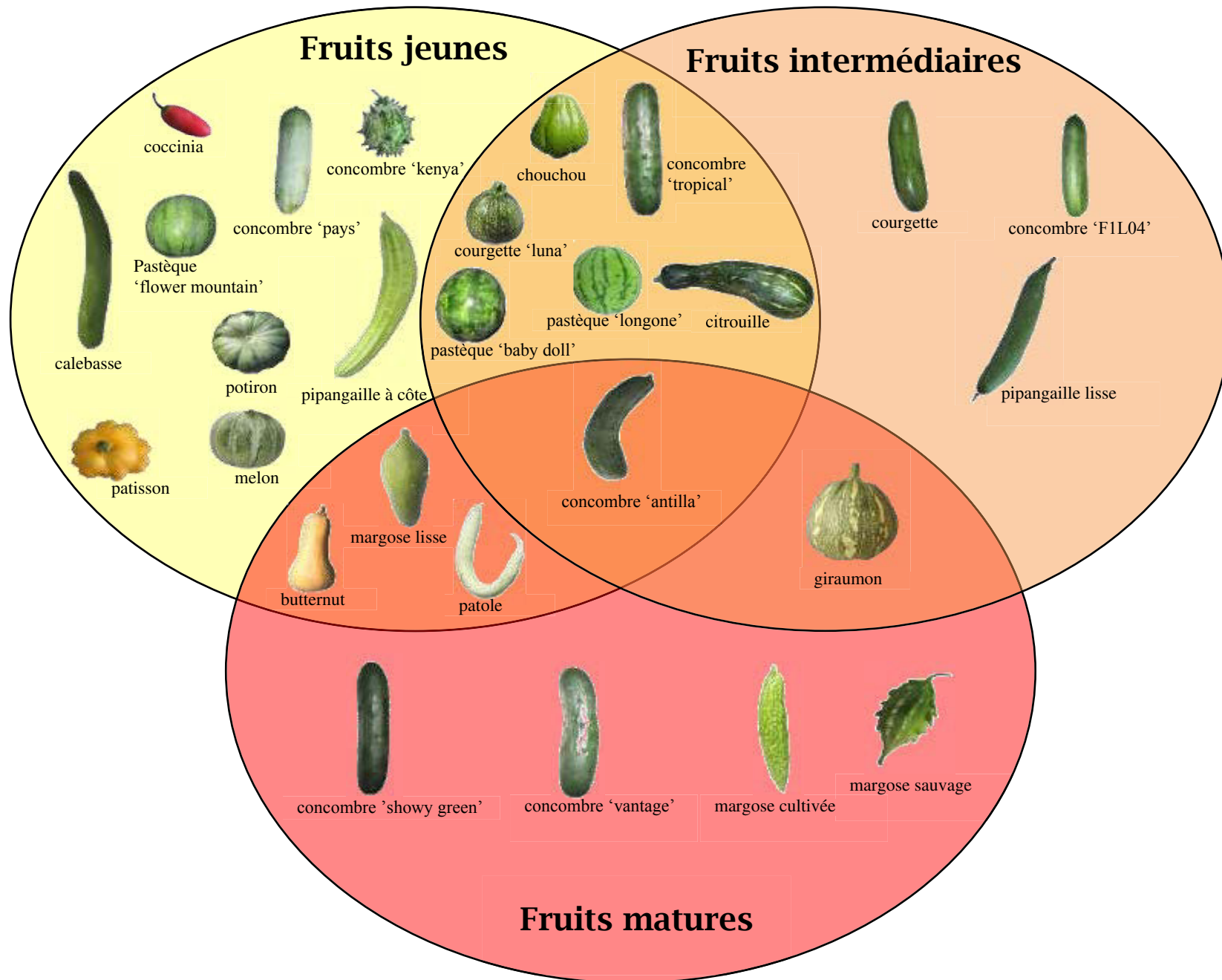


Figure II-9. Classement des fruits selon leurs stades de maturité les plus attractifs.

Pour chaque fruit, une comparaison (pairwise.prop.test) des niveaux de réponse des femelles de *Bactrocera cucurbitae* aux trois stades de maturité (fruit jeune, fruit intermédiaire, fruit mature) a été réalisée. Les fruits à la jonction des cercles, sont caractérisés par des niveaux de réponses significativement équivalents pour plusieurs stades.

I.3.3.2 Attractivité relative des différents fruits-hôtes

Les réponses des femelles aux odeurs des 27 fruits-hôtes ont été comparées deux à deux (pairwise.prop.test) pour chaque stade de maturité afin d'établir un classement des fruits selon leur attractivité. Pour les trois stades de maturité considérés, il existe certes une hiérarchie dans les niveaux de réponse aux odeurs de ces fruits, mais souvent avec des pourcentages de réponse très proches ne permettant pas de constituer des groupes de fruits distincts caractérisés par un niveau de réponse différent du groupe suivant.

Les fruits de stade jeune

Au stade jeune (**Figure II-10**), les odeurs de melon (68% de réponse), de pipangaille à côte (68%), de pipangaille lisse (64%) et de concombre 'pays' (59%) attirent significativement autant de femelles avec des niveaux de réponse compris entre 59 et 68%. La réponse des femelles à ces quatre fruits est significativement supérieure à celle des 23 autres fruits. Parmi tous les fruits jeunes testés, ces 4 fruits constituent ainsi le groupe produisant les odeurs les plus attractives pour les femelles de *B. cucurbitae*.

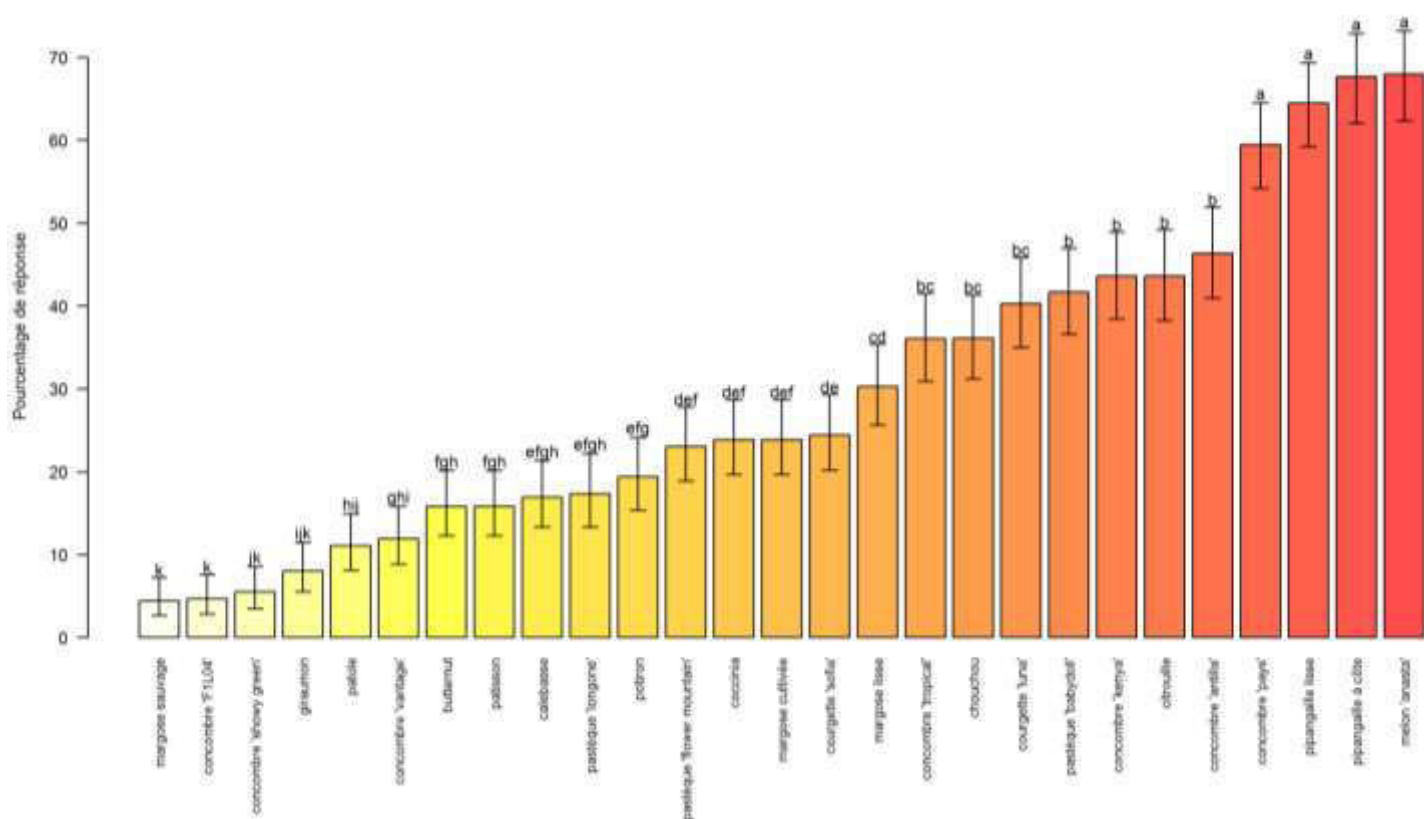


Figure II-10. Réponses des femelles aux 27 fruits-hôtes de Cucurbitaceae, au stade de maturité jeune, en petites cages.

La réponse est exprimée en pourcentage moyen et est calculée pour 12 répétitions. Les moyennes ayant les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (test du pairwise.prop.test).

En sachant que les 23 fruits restants sont significativement tous moins attractifs que les 4 meilleurs fruits, les niveaux de réponse entre ces 23 derniers fruits ont été comparés en les regroupant par classe d'attractivité.

Ainsi, avec des niveaux d'attractivité compris entre 36 et 46% de réponse, les odeurs de 7 fruits attirent significativement autant de femelles : concombre 'antilla' (46% de réponse), citrouille (44%), concombre 'kenya' (44%), pastèque 'baby doll' (42%), courgette 'luna' (40%), chouchou (36%) et concombre tropical (36%).

Puis, avec des niveaux d'attractivité compris entre 30 et 16%, se retrouvent 10 fruits, qui sont par ordre décroissant d'attractivité : la margose lisse, la courgette 'sofia', la margose cultivée, la coccinia (24% de réponse pour chacune), la pastèque 'flower mountain' (23%), le potiron (19%), la pastèque 'longone' (17%), la calebasse (17%), le patisson (16%) et le butternut (16%).

Enfin, avec des niveaux d'attractivité compris entre 12 et 4%, se retrouvent 6 fruits, qui sont par ordre décroissant d'attractivité : le concombre 'vantage' (12% de réponse), le patole (11%), le giraumon (8%), le concombre 'showy green' (6%), le concombre 'F1L04' (5%) et la margose sauvage (4%).

En conclusion, au stade jeune, les fruits les plus attractifs sont les suivants :

- Le melon (*Cucumis melo*) avec 68% de réponse,
- La pipangaille à côte (*Luffa acutangula*) avec 68% de réponse,
- La pipangaille lisse (*Luffa cylindrica*) avec 64% de réponse,
- Le concombre pays (*Cucumis sativus*) avec 59% de réponse

Les fruits de stade intermédiaire

Au stade intermédiaire (**Figure II-11**), l'odeur de la pipangaille lisse attire significativement plus (74% de réponse) que celle des 24 autres fruits.

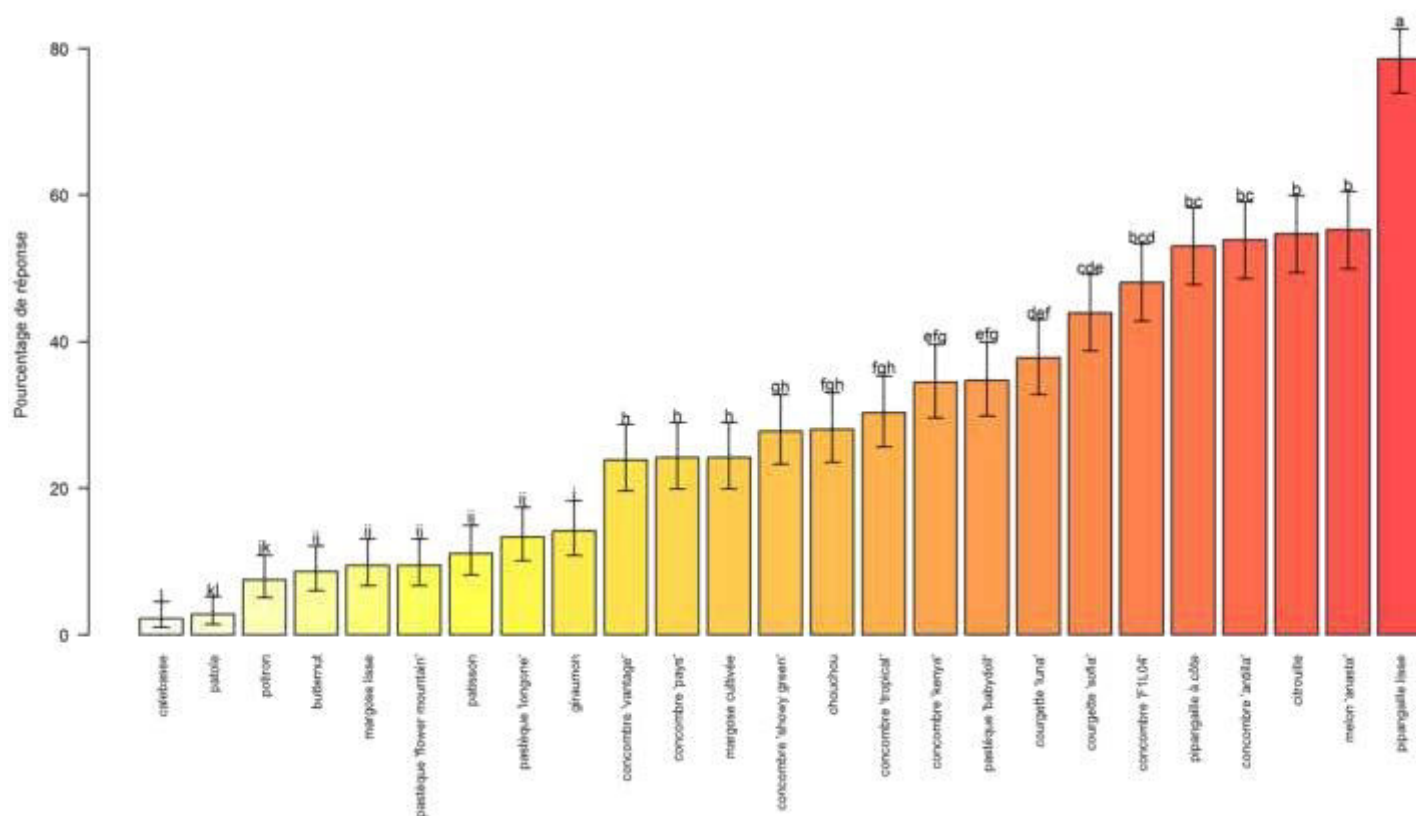


Figure II-11. Réponses des femelles aux 27 fruits-hôtes de Cucurbitaceae, au stade de maturité intermédiaire, en petites cages. La réponse est exprimée en pourcentage moyen et est calculée pour 12 répétitions. Les moyennes ayant les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (test du pairwise.prop.test).

En sachant que les 23 fruits restants sont significativement tous moins attractifs que la pipangaille lisse, les niveaux de réponse entre ces 23 derniers fruits ont été comparés en les regroupant par classe d'attractivité.

Ainsi, avec des niveaux d'attractivité compris entre 44 et 55%, se retrouvent 6 fruits, qui sont par ordre décroissant d'attractivité : la citrouille (55% de réponse), la pipangaille à côte (53%), le concombre 'F1L04' (48%), le concombre 'antilla' (47%), le melon (46%) et la courgette 'sofia' (44%).

Puis, avec des niveaux d'attractivité compris entre 23 et 35%, se retrouvent 9 fruits, qui sont par ordre décroissant d'attractivité : la courgette 'luna' (35% de réponse), le concombre 'kenya' (34%), le chouchou (31%), le concombre tropical (30%), le concombre 'showy green' (28%), la margose cultivée (24%), le concombre 'vantage' (24%) et le concombre 'pays' (23%).

Enfin, avec des niveaux d'attractivité compris entre 12 et 4%, se retrouvent 9 fruits, qui sont par ordre décroissant d'attractivité : le giraumon (14% de réponse), la pastèque 'longone' (13%), le patisson (11%), la pastèque 'flower mountain' (9%), la margose lisse (9%), le butternut (9%), le potiron (5%), le patole (3%) et la calebasse (2%).

En conclusion, au stade de maturité intermédiaire, le fruit le plus attractif est :

- La pipangaille lisse (*Luffa cylindrica*) avec 74% de réponse.

Les fruits de stade mature

Au stade mature (**Figure II-12**), les odeurs de pipangaille lisse et de concombre 'showy green' et de concombre 'antilla' sont les plus attractives (respectivement 56%, 49% et 48%).

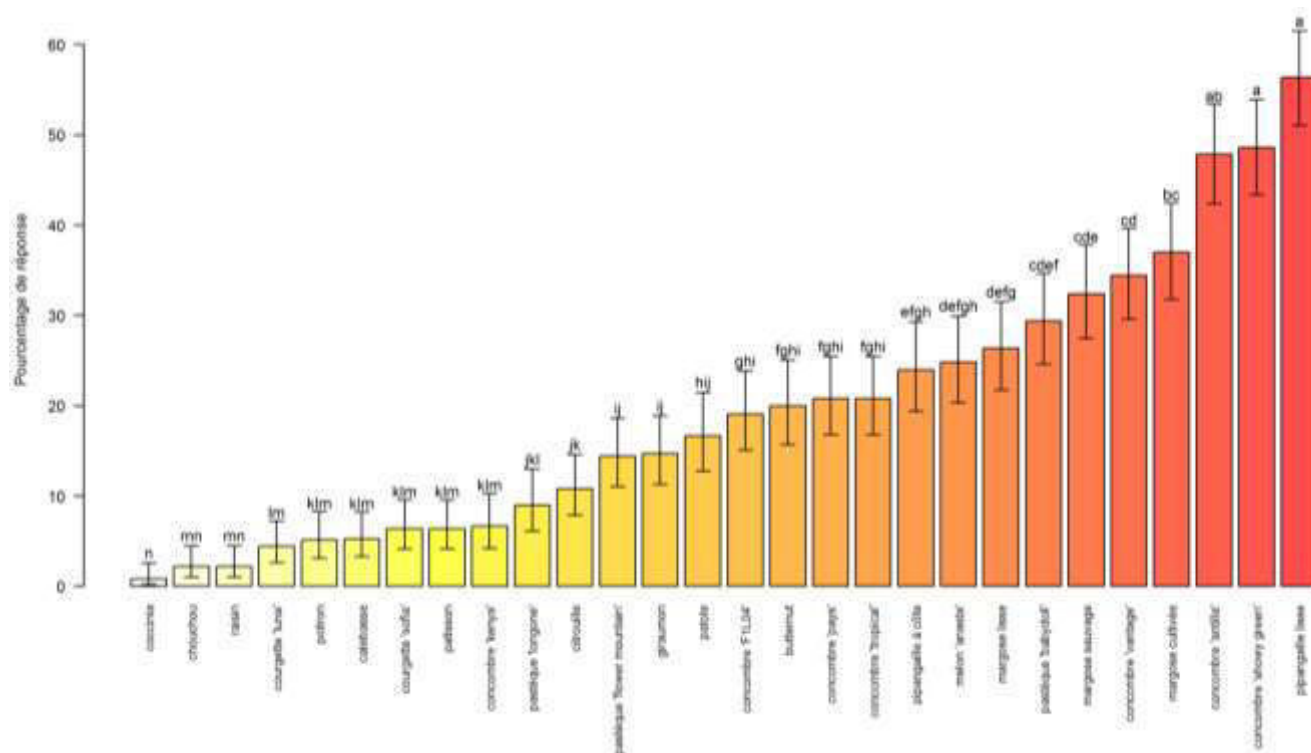


Figure II-12. Réponses des femelles aux 27 fruits-hôtes de Cucurbitaceae, au stade mature, en petites cages.

La réponse est exprimée en pourcentage moyen et est calculée sur 12 répétitions. Les moyennes ayant les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (test du pairwise.prop.test).

En sachant que les 25 fruits restants sont significativement tous moins attractifs que les 3 meilleurs fruits, les niveaux de réponse entre ces 25 derniers fruits ont été comparés en les regroupant par classe d'attractivité.

Ainsi, avec des niveaux d'attractivité compris entre 24 et 37%, se retrouvent 7 fruits, qui sont par ordre décroissant d'attractivité : la margose cultivée (37% de réponse), concombre 'vantage' (34%), la margose sauvage (32%), la pastèque 'baby doll' (29%), la margose lisse (26%), le melon (25%) et la pipangaille à côte (24%).

Puis, avec des niveaux d'attractivité compris entre 11 et 21%, se retrouvent 9 fruits, qui sont par ordre décroissant d'attractivité : le concombre 'tropical' (21% de réponse), le concombre 'pays' (21%), le butternut (20%), le concombre 'F1L04' (19%), la patole (17%), le giraumon (15%), la pastèque 'flower mountain' (14%), la citrouille (11%) et la pastèque 'longone' (9%).

Enfin, avec des niveaux d'attractivité compris entre 6 et 1%, se retrouvent 9 fruits, qui sont par ordre décroissant d'attractivité : le concombre 'kenya' (6% de réponse), le patisson (6%), la courgette (6%), la calebasse (5%), le potiron (5%), la courgette 'luna' (4%), le raisin (fruit non-hôte) (2%), le chou chou (2%) et la coccinia (1%).

En conclusion, au stade mature, les fruits les plus attractifs sont :

- La pipangaille lisse (*Luffa cylindrica*) avec 64% de réponse,
- Le concombre 'showy green' (*Cucumis sativus*) avec 49% de réponse
- Le concombre 'antilla' avec 48% de réponse

I.4 Discussion

Le profil de réponse des femelles de *B. cucurbitae* aux odeurs de fruits-hôtes est considérablement influencé par le type de fruit (espèce et variété) et par le stade de maturité de celui-ci. Parmi les 27 fruits testés, 26 ont montré, selon le stade de maturité considéré, des différences dans l'attraction des femelles (excepté le concombre 'antilla'). L'odeur des fruits jeunes, pour 19 des fruits testés (calebasse, coccinia, concombre 'kenya', concombre 'pays', melon, pastèque 'flower mountain', patisson, pipangaille à côte, potiron, chou chou, citrouille, concombre 'tropical', courgette 'luna', pastèque 'baby doll', pastèque 'longone', butternut,

margose lisse, patole) constitue le stimulus le plus performant pour attirer les femelles de *B. cucurbitae*. Une forte réponse des femelles aux effluves de jeunes fruits (verts) de bringellier (*Solanum mauritianum* Scop.) a été également montrée chez la mouche de la tomate, *N. cyaneus* (Brévault, 1999). Vayssières (1999) a recensé sur le terrain les stades de fruits attaqués par les femelles de *B. cucurbitae*. Ces données montrent notamment que dans une majorité de cas, les stades les plus attaqués sont les stades jeunes des fruits. Ainsi la corrélation entre la forte tendance des fruits jeunes à être attaqués sur le terrain (Vayssières, 1999) et la forte attractivité mise en évidence dans notre étude des effluves émises par ces fruits en laboratoire, semble indiquer que la part des stimuli olfactifs dans la sélection de l'hôte par la femelle de *B. cucurbitae* est prépondérante pour ces fruits. Cependant, pour d'autres fruits, un stade de maturation plus avancé est nécessaire à une meilleure réponse des femelles à leurs effluves. C'est le cas pour le concombre 'F1L04', de la courgette et de la pipangaille lisse qui attirent plus de femelles au stade intermédiaire, et également des concombres de variétés 'showy green' et 'vantage', de la margose cultivée et de la margose sauvage qui attirent eux, plus de femelles au stade mature. Ces fruits ont été également recensés dans l'étude de Vayssières (1999) comme des fruits attaqués à un stade de maturation légèrement plus avancé. Il est nécessaire tout de même de rappeler que la comparaison de telles données obtenues dans des conditions très différentes, n'est pas toujours évidente. Ainsi, afin de mieux comprendre l'importance des effluves de Cucurbitaceae dans le processus de sélection du fruit-hôte, les autres paramètres impliqués dans la localisation à distance (stimuli visuels) et l'acceptation de l'hôte (mécanoréception, influence de conspécifiques[Ⓜ], etc.) doivent être évalués, dans des conditions d'expérimentations similaires à notre étude. A terme, si ces mécanismes de préférence des femelles (localisation et acceptation des fruits-hôtes) sont élucidés, il serait intéressant d'étudier la corrélation entre cette préférence des femelles pour certains fruits-hôtes et la performance larvaire sur ces derniers. Ainsi, cette étude permettrait de vérifier si la femelle fait vraiment le choix d'hôte le plus approprié à la survie et à une meilleure *fitness*[Ⓜ] de sa descendance.

D'autres études sur des Tephritidae rapportent des réponses aux effluves de fruits mûrs plus importantes qu'à celles de fruits jeunes. Ainsi, pour les femelles de *C. capitata*, l'odeur de drupes mûres ou presque mûres de café est plus attractive que celle de drupes vertes (Prokopy & Vargas, 1996 ; Prokopy *et al.*, 1997). Chez *N. cyaneus*, les odeurs de fruits mûrs de deux variétés de tomate (*Lycopersicon esculentum* L.) induisent une réponse significativement plus forte que les fruits verts (Brévault, 1999). Pour *B. dorsalis*, les effluves

de fruits mûrs de mangue sont plus attractives que celle de fruits verts (Kamala Jayanthi et al., 2012) et les femelles de cette espèce sont retrouvées plus fréquemment dans les vergers en présence de fruits mûrs (Syed, 1969 ; Stark *et al.*, 1991 ; Alyokhin *et al.*, 2000). Cette réponse aux odeurs de fruits mûrs est particulièrement intéressante en termes de stratégie adaptative. Si ces fruits mûrs ne constituent pas toujours des fruits qui hébergeront les pontes, en revanche leurs effluves perçus à longue distance peuvent constituer un bon indicateur de la présence de l'hôte. Selon Vet *et al.* (1995), la valeur informationnelle de ces stimuli « indirects » dépend de deux facteurs : (i) leur fiabilité dans l'indication d'hôtes disponibles et (ii) leur facilité à être détectés. Dans les cultures de Cucurbitaceae, on peut trouver notamment des fruits à différents stades de maturité sur des plants voisins voire sur le même plant. En répondant à longue distance à des parfums de fruits mûrs, les femelles augmentent leurs chances de détecter des fruits à un stade de maturité favorable à la ponte et au développement des larves. De plus, les fruits mûrs constituent vraisemblablement de meilleurs messagers chimiques que les fruits jeunes, ces derniers étant notamment très peu odorants.

Pour chaque stade de maturité étudié, les odeurs de certains fruits se sont avérées très attractives avec des niveaux de réponse surpassant ceux d'autres fruits-hôtes de Cucurbitaceae. Si l'on considère l'ensemble des espèces et des stades de maturité, les fruits avec le plus fort potentiel d'attraction pour les femelles de *B. cucurbitae* sont la pipangaille lisse (*Luffa cylindrica*) au stade intermédiaire de maturité avec 74% de réponse, le melon (*Cucumis melo*) au stade jeune avec 68% de réponse, la pipangaille à côte (*Luffa acutangula*) au stade jeune avec 68% de réponse, la pipangaille lisse (*Luffa cylindrica*) au stade jeune avec 64% de réponse, la pipangaille lisse (*Luffa cylindrica*) au stade mature avec 64% de réponse, le concombre 'showy green' (*Cucumis sativus*) au stade mature avec 59% de réponse et le concombre pays (*Cucumis sativus*) au stade jeune avec 59% de réponse.

A notre connaissance, cette étude est la première à comparer l'attractivité d'une large gamme de fruits-hôtes de la famille des Cucurbitaceae pour les femelles de *B. cucurbitae*. Les études antérieures ont plutôt comparé en situation de choix l'attractivité de quelques fruits (maximum trois) (Miller *et al.*, 2004) ou comparé des odeurs de fruits associés à des stimuli visuels (Piñero *et al.*, 2006). Dans l'étude de Miller *et al.* (2004) l'attractivité des odeurs de plusieurs fruits broyés a été mesurée dans des cages extérieures. Celles du concombre (*Cucumis sativus* L.) (pulpe et peau) et du melon *Cucumis melo* L. (pulpe) se sont avérées plus attractives que celle de la tomate *Lycopersicon esculentum* L. (pulpe et peau). En revanche l'odeur de courge 'kabocha' *Cucurbita maxima* Duchesne (pulpe) s'est avérée plus

attractive que celle de la manguose *Momordica charantia* L., mais pas plus attractive que celle de la courgette (*Cucurbita pepo* L.) Dans une autre étude, en association avec des leurres colorés, l'odeur de concombre (*C. sativus*) s'est avérée plus attractive pour les femelles de *B. cucurbitae* que celle de la courgette (*C. pepo*), de la calebasse lierre (*Coccinia grandis* L.), de la papaye (*Carica papaya* L.) ou de la tomate (*L. esculentum*). L'ajout d'une odeur de concombre a fortement augmenté l'attractivité d'hémisphères jaunes, ce qui indique que les stimuli visuels et olfactifs sont synergiques dans la réponse de femelles de *B. cucurbitae* sexuellement matures (Piñero *et al.*, 2006).

La hiérarchie dans les niveaux de réponse aux différents fruits a été évaluée dans la présente étude avec des femelles sexuellement matures âgées de 25 à 30 jours. Il serait pertinent de vérifier si cette hiérarchie est conservée chez des individus d'âges différents. De plus, les adultes d'élevage utilisés étant issus de la ponte et du développement larvaire sur des fruits-hôtes (courgette et citrouille), on peut envisager que des mécanismes de conditionnement larvaire puissent survenir, et la vérification de la hiérarchie de réponse sur des femelles issues de développement sur milieu artificiel serait à envisager.

L'étude de l'attraction des odeurs de fruits-hôtes n'est pas aisée car elle met en jeu l'étude de composés volatils, dont l'émission est modulée par de nombreux facteurs biotiques et environnementaux (Dudareva *et al.*, 2004 ; Dudareva *et al.*, 2006). La mise au point d'une méthodologie répétable et sous l'influence d'un minimum de facteurs est donc nécessaire. Dans cette étude, la méthodologie de mesure de l'attractivité en petites cages utilisée, a permis d'obtenir des résultats répétables et comparables entre les fruits. Cette méthodologie est par ailleurs relativement facile à mettre en œuvre, elle requiert un nombre limité de femelles et s'effectue en un temps d'exécution rapide (2 h d'exposition aux odeurs). Les études d'écologie chimique font souvent appel à des dispositifs comme des olfactomètres ou des tunnels de vol qui proposent un flux d'air permettant le transport des composés odorants, reproduisant ainsi la diffusion des composés en milieu naturel, et permettent de mesurer la succession comportementale dans les processus d'orientation de l'insecte. Dans notre cas, l'utilisation de mêmes fruits en olfactomètre et en petites cages de comportement a permis d'obtenir des niveaux de réponse de femelles équivalents. Pour une efficacité équivalente, la méthode de petites cages a été retenue dans notre étude car elle permet de répondre à notre objectif de caractérisation des niveaux d'attractivité de fruits avec une mise en œuvre facile et rapide.

Cette hiérarchie dans les niveaux de réponse des femelles de *B. cucurbitae* en fonction des espèces, variétés et stades de maturité implique l'existence de variations qualitatives et/ou quantitatives des composés volatils constituant l'effluve global caractéristique d'un fruit (Bruce *et al.*, 2005 ; Bruce & Pickett, 2011). On pourrait penser que dans cette famille de plantes, des composés volatils communs permettent à la femelle de reconnaître ses fruits-hôtes. Toutefois, les faibles niveaux de réponse à certains fruits-hôtes de la famille, comparables à l'attraction d'un fruit non-hôte comme le raisin, indiquent que d'autres facteurs tels que des composés caractéristiques ou encore des variations dans les ratios de composés semblent être impliqués dans l'attraction. L'étude des profils d'émission de composés volatils des fruits-hôtes de cette famille en fonction de divers paramètres (espèces, variétés et maturité) devrait apporter des informations quant aux composés communs, majoritaires ou spécifiques de fruits très attractifs et également des informations sur la composition relative de chacun des composés dans le bouquet odorant perçu par l'insecte.

Dans une perspective plus appliquée, l'identification des fruits-hôtes à leur stade de maturité le plus attractif permet de cibler plus précisément les fruits à étudier en vue de l'identification de composés volatils pouvant attirer les femelles à l'aide de systèmes de piégeage.

II. Facteurs influençant la réponse des femelles aux odeurs de fruits-hôtes

Dans la partie précédente, la réponse des femelles de *B. cucurbitae* aux effluves de 27 fruits de Cucurbitaceae différents a été examinée à trois stades de maturité. Cette réponse aux odeurs de fruits-hôtes s'est avérée particulièrement influencée par l'espèce et la variété du fruit proposé mais également par le stade de maturité de celui-ci.

Bien que cette réponse soit modulée par la nature de l'effluve, dans un même contexte informationnel, d'autres paramètres externes mais aussi endogènes, peuvent modifier la réponse comportementale des femelles en présence des stimuli olfactifs de leurs plantes-hôtes (Bell, 1990 ; Browne, 1993). Un certain nombre de facteurs environnementaux de type abiotique (vent, température, lumière) ou biotique (ressource, compétiteurs) peuvent ainsi influencer la réponse à ces stimuli. Néanmoins, les mesures de niveaux de réponse ayant été réalisées en conditions contrôlées de laboratoire, l'impact de ces facteurs externes sur les essais a été considéré comme minime.

Les facteurs endogènes pouvant entraîner une variabilité de la réponse des femelles aux odeurs de fruits-hôtes, comme le rythme biologique, l'âge et la charge ovarienne, le statut d'accouplement et la durée de la période d'élevage ont également été pris en considération. Chez *Neoceratitis cyaneescens*, l'étude de l'influence de tels paramètres sur la réponse des femelles aux odeurs de fruits verts d'une espèce hôte a révélé une relation entre l'âge, la charge en œufs et le niveau de réponse aux odeurs du fruit mais aucune influence du statut d'accouplement (Brévault & Quilici, 1999). Peu d'informations issues de la littérature sont disponibles concernant l'influence de ces paramètres sur la réponse des femelles de *B. cucurbitae* aux odeurs de fruits hôtes. Seule une influence de l'alimentation a été démontrée : ainsi, un apport en protéines se traduit par une meilleure réponse (Miller *et al.*, 2004).

Dans ce chapitre, le premier objectif est d'évaluer l'influence sur le taux de réponse des femelles aux effluves de concombre de paramètres tels que le rythme biologique (heure de la journée), l'âge et la charge ovarienne, ainsi que le statut d'accouplement. Le second objectif est de savoir si une femelle issue de nombreuses générations d'élevage répond de la même façon à un stimulus olfactif qu'une femelle de première génération.

Pour cela, l'ensemble des essais a été standardisé et reproduit selon la même procédure expérimentale déjà décrite en partie I de ce même chapitre. Il a donc été proposé, dans des

petites cages de comportement, une odeur de concombre aux femelles de *B. cucurbitae*. Les paramètres cibles ont été modulés afin de déterminer leur impact sur un niveau de réponse « standard ». De plus, pour évaluer l'impact de la charge en œufs sur le niveau de réponse, les femelles ont été disséquées et le nombre d'œufs matures présent dans leurs ovaires a été comptabilisé.

Ces essais révèlent que certains des facteurs testés modulent le taux de réponse des femelles aux effluves de concombre. Ainsi, la réponse augmente significativement avec l'âge des femelles. De plus, le rythme circadien des femelles de la mouche du Melon influence leur motivation à répondre aux stimuli olfactifs de fruits hôtes puisque les meilleurs niveaux de réponse sont obtenus entre 8h00 et 14h00. Toutefois, la charge en œufs et le statut d'accouplement n'influencent pas significativement la réponse des femelles à l'odeur de concombre.

Concernant la durée des périodes d'élevage, l'étude relève que les femelles issues de 47 générations d'élevage répondent plus fortement aux stimuli olfactifs, en conditions de laboratoire, que des femelles d'une souche récemment mise en élevage. Des pressions de sélection au cours des générations d'élevage ont probablement favorisé le maintien et la multiplication de femelles les plus réceptives aux odeurs de fruit-hôte.

Les mécanismes sous-jacents à ces changements de comportements sont mal connus, mais les résultats obtenus soulignent l'importance de la prise en compte de ces paramètres physiologiques dans l'interprétation des résultats d'essais comportementaux.

Ce chapitre fait l'objet d'un article soumis dans la revue *Physiological Entomology* :

Atiama-Nurbel, T., Bouly, K., Deguine, J. P., Bialecki, A. & Quilici, S. Factors influencing the response of *Bactrocera cucurbitae* female to host fruit odors. *Physiological Entomology*.

Factors influencing the response of *Bactrocera cucurbitae* female to host fruit odours

Toulassi Atiama-Nurbel¹, Késia Bouly¹, Jean-Philippe Deguine¹, Anne Bialecki² and Serge Quilici¹

¹UMR « Peuplements Végétaux et Bioagresseurs en Milieu Tropical » (CIRAD- Université de La Réunion), 97410 Saint-Pierre, France

²Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et des Sciences des Aliments, Université de La Réunion, 97 744 Saint-Denis cedex 9, France

Correspondence : S. Quilici, CIRAD, UMR « Peuplements Végétaux et Bioagresseurs en Milieu Tropical » (CIRAD- Université de La Réunion), 7 Chemin de l'IRAT, 97410 Saint-Pierre, France. E-mail: serge.quilici@cirad.fr; Fax: 02-62-49-92-93

Running title: Response of Melon fly to host odours

Abstract

Knowledge of the factors regulating host finding behaviour in *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) (Diptera: Tephritidae) females - a serious pest of Cucurbitaceae - is essential for a future development of trapping systems based on host fruit odour. Responses of *B. cucurbitae* females to cucumber (*Cucumis sativus* L.) odour were studied under laboratory conditions. We determined the influence of age, egg load, mating status, time of day and rearing duration on their responses. The response of females to cucumber odour was significantly influenced by age, time of day and rearing duration. Female responses to cucumber odour were optimal during the morning and increased with age, but were not influenced by egg load. Responses to cucumber odour were similar for virgin and mated females. Furthermore, our results suggest that long-term rearing conditions may enhance the responsiveness of females to host fruit odour. The roles of these factors on host location process and their implication for pest management are discussed.

Key words: age, egg load, host location behaviour, kairomone, melon fly, physiological state, circadian rhythm, rearing duration

Introduction

Host plant localization for oviposition is a key behaviour for herbivorous insects as it has direct consequences on offspring fitness. To find a host, an insect must forage, encounter cues from the host, and then respond appropriately to these cues (Jones, 1991). However, during the host finding process, a large number of variables may shape the manner in which an insect searches and assesses the value of an egg-laying site. These variables include genetic characteristics of the insect, at species or population level, that affect its perception of the environmental information and its locomotory pattern, non-genetic factors that affect the internal state of the insect with respect to its propensity to respond to information from resource stimuli and environmental factors that determine the availability of resources (Miller & Strickler, 1984 ; Courtney *et al.*, 1989 ; Bell, 1990 ; Jaenike, 1990). Tephritid fruit flies are proving to be useful organisms for investigating how genetic, non-genetic and environmental variables influence the resource foraging behaviour of individuals (Prokopy *et al.*, 1991). Although several studies have investigated the role of fruit volatiles during host finding for different species in the family Tephritidae (Robacker *et al.*, 1992 ; Nigg *et al.*, 1994 ; Cornelius *et al.*, 2000 ; Liu & Hwang, 2000 ; Linn *et al.*, 2005 ; Alagarmalai *et al.*, 2009 ; Siderhurst & Jang, 2010), more information is needed on the physiological factors that affect their behavioural response to olfactory stimuli. Of these factors, five in particular can play a critical role when conducting artificial, laboratory tests: (a) ovarian dynamics and oviposition drive (i.e., motivation), (b) learning, (c) age, (d) social context, and (e) genetic and rearing background (i.e., wild versus lab-reared flies) (Aluja & Mangan, 2008). Most studies focus on whether attraction to host fruit odour was greater or lesser than to aqueous protein (food) odour among flies of differing physiological states (age) and protein deprivation status. For *Ceratitis capitata* (Wiedemann), *Anastrepha ludens* (Loew) and *Bactrocera dorsalis* (Hendel) it was shown that immature females (1-5 days-old) were more responsive to proteinaceous odour than mature ones and that protein deprivation enhanced the propensity of females to respond to protein odour (Robacker, 1991 ; Prokopy & Vargas, 1996 ; Cornelius *et al.*, 2000). However, for *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) (Diptera, Tephritidae), only the effect of protein deprivation on female response to host fruit odour and to protein odour has been evaluated (Miller *et al.*, 2004). In fact, protein-fed *B. cucurbitae* females likewise were significantly more attracted to odour of host fruit (cucumber) than to odour of proteinaceous food, while protein-deprived females were equally attracted to host fruit and protein odours. The melon fly, *B. cucurbitae*, is a serious pest of tropical agricultural crops, whose current distribution ranges from South Asia, from where it originates, to many Pacific Islands

(including Hawaii) (Dhillon et al., 2005), some Indian Ocean islands (including Mauritius and Seychelles) (White et al., 2000) and many African countries (Vayssières et al., 2007). This pest is causing damage to at least 81 host species worldwide (Dhillon et al., 2005) with however a strong host association with most species of the Cucurbitaceae family (Allwood et al., 1999). In La Réunion, damage may sometimes affect the totality of a cucurbit crop when no control method is applied (Ryckewaert et al., 2010). Thus much research is devoted to looking for potential sources of attractants among host fruit odour, which may be used for trapping females. The attractiveness of several host fruit odours has been investigated, among which freshly sliced cucumber (*Cucumis sativus* L.) was especially attractive (Miller *et al.*, 2004 ; Piñero *et al.*, 2006). It has been utilized to investigate melon fly behaviour in field situations (Prokopy et al., 2004) and also for identifying attractive volatile components potentially useful for future applications in trapping systems for detection, monitoring, control or eradication of the Melon fly (Siderhurst & Jang, 2010). A better understanding of factors that modulate the response of *B. cucurbitae* females to host fruit odour may contribute to the development of effective trapping systems for females based on host fruit odours. In the present study, we investigated the effects of age, mating status, time of day and rearing duration on the response of *B. cucurbitae* females to host fruit volatiles in controlled laboratory conditions.

Materials and methods

Flies

Strains of *B. cucurbitae* were collected from infested pumpkins, *Cucurbita maxima* cv. Duchesne in June 2000 at three localizations in La Réunion (Petite Ile, Bassin Martin and Piton Saint-Leu). Adult flies obtained from these samples were reared under controlled conditions for 47 generations ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ RH and a photoperiod of 12:12 (L/D) h). Adult flies were fed with granulated sugar, enzymatic yeast hydrolysate (ICN Biomedicals, Aurora, OH) and water. Zucchini (*Cucurbita pepo* L.) were used as an egg-laying substrate for the females and the larvae were fed with pumpkin additionned with potato flakes. New cohorts of adult flies were reared in the same conditions but females were naive (*i.e.*, they had no prior ovipositional experience on host plant until the beginning of the experiment).

Plant material

In all experiments, cucumber (*Cucumis sativus*) variety “F1-L04” was used as source of host fruit odour. All cucumbers used had been cultivated in an “insect proof” greenhouse at the CIRAD experimental station of Saint-Pierre under the same conditions, (without any pesticide application). Fresh cucumber fruits were harvested just before the beginning of each experiment. Fruits were sliced in small pieces (1cm*1cm), and presented to the flies in an amount of 30g per replicate.

Experimental procedures

The experiments were conducted in cages (30*30*30 cm) made of white polyester (mesh: 680µm, MegaView Science Co. Ltd, Taiwan), each cage containing 30 females. The experimental set up was composed by 12 cages positioned one beside the other under the same conditions of temperature ($25 \pm 1^{\circ}\text{C}$), luminosity (2000 lux) and relative humidity ($70 \pm 10\%$). In each cage, 2 small boxes (height = 8 cm ; diameter = 11cm) made of white polypropylene (Sodico, France) were placed and transformed into a trapping set up: 5 holes were made 2cm above the bottom and small plastic tubes (1cm diameter, 2cm long) were placed in the holes in order to prevent fly escape. One box contained 30 g of fruit (cucumber cut in pieces) and the other one was empty and used as a control. The use of these trap boxes enabled us to evaluate only the olfactory response of females to host fruit, eliminating all visual stimuli. A cohort of 30 females (age and mating status depending of the experiment) was placed in each cage with water and food the day before the experiment, to get them used to the experimental device.

The number of females caught in each trap box was counted after 2 hours of exposure to the fruit odour. Four different experiments were carried out with the same experimental procedure just by varying some specific factors: i) the time of day, ii) the age of females, iii) the mating status of females and iv) the number of reared generations of the strain.

Time of the day

To determine whether the propensity of female to respond to host fruit odour varied during the day, the response of 25-30 days-old females was assessed at 4 different periods of the day: 8.00-10.00 am, 10.00-12.00 am, 12.00-14.00 pm and 14.00-16.00 pm (local time) with 12 replicates. The photoperiod followed a LD 12:12h cycle with photophase 6.00-18.00 hours

(local time). The following experiments were conducted during the period of the day with the highest female response.

Age of females

The influence of female age on its response to host fruit odour was determined by measuring the response of groups of females of known ages: 5, 15, 25, 35 days after emergence. The experiment was repeated 3 times with, for each replicate, 3 cages of females of each age placed at random in the experimental set up (9 replicates per age). After each trial, all the females were collected in alcohol and dissected to determine the number of mature eggs in their ovaries.

Mating status

On the day of adult emergence, females were divided in two batches, one kept in contact with males and one without males, to obtain 2 groups of females differing in their mating status: virgin or mated. The response to host fruit odour was assessed with virgin and mated 25-30 days-old females. The experiment was repeated 2 times with, for each replicate, 6 cages of females of each mating status placed at random in the experimental set up (12 replicates per mating status). After each trial, all the females were collected in alcohol and dissected to determine the number of mature eggs in their ovaries.

Number of lab-reared generations

To determine the influence of rearing duration on female response to fruit odour, we compared the response of females from a strain reared for 47 generations (F47) with that of from a strain reared for 1 generation (F1). F47 females came from the same strains of females used in experiments 1 to 3, but strains of F1 females were obtained from infested pumpkins, *Cucurbita maxima* Duchesne ex Lam. collected in June 2013 (Saint-Paul, La Réunion). The rearing conditions of the F1 females were the same as for the F47 females. The experiment was repeated 3 times with, for each replicate, 3 cages of females of each generation (F1 and F47) placed at random in the experimental set up (18 replicates per generation).

Statistical analysis

All statistical analyses were done with R software (version 2.15.0, R Development Core Team, 2012, Vienna, Austria). For all tests statistical significance was set at 5%.

To assess the influence of time of day and number of lab-reared generations, on the response of female to host fruit odour, we fitted for each of these factors a Generalized Linear Model with binomial error (or quasi binomial error when overdispersion was detected) and with logit link function. As data for age and mating status were correlated with egg load, we fitted for each association of factors (age and egg load; mating status and egg load) (i) Generalized Linear Models with binomial error (or quasi binomial error when overdispersion was detected) and with logit link function to assess the influence of these single or combinations of factors on female response to host fruit odours; (ii) Generalized Linear Models with Poisson error (or quasiPoisson error when overdispersion was detected) and with log link function to assess the influence of age and mating status on the number of mature eggs per female (responding and non-responding). For each model, a likelihood ratio test based on a Chi-squared test (or on a Fisher Snedecor test in case of overdispersed data) was performed to identify the significant factors. When a factor was significant, a Tukey's honestly significant difference (HSD) test was used and the probability of significance (P) was given.

Results

For all experiments, no flies were captured in control boxes.

Time of the day

The time of day had a very significant effect ($F_{3, 44} = 5.8$; $P < 0.01$) on *B. cucurbitae* female response to host fruit odour. The highest levels of response were recorded during the first three periods of the day (8.00-10.00, 10.00-12.00 and 12.00-14.00), with no significant difference between these 3 periods (Tukey HSD, $p > 0.05$). By contrast, a significant lower rate of female response (Tukey HSD, $p < 0.05$) was measured when experiment was conducted between 14.00 - 16.00 (**Fig. II-13**).

To insure the best conditions for measuring female response, all the following experiments were carried out between 8.00 am and 14.00 pm.

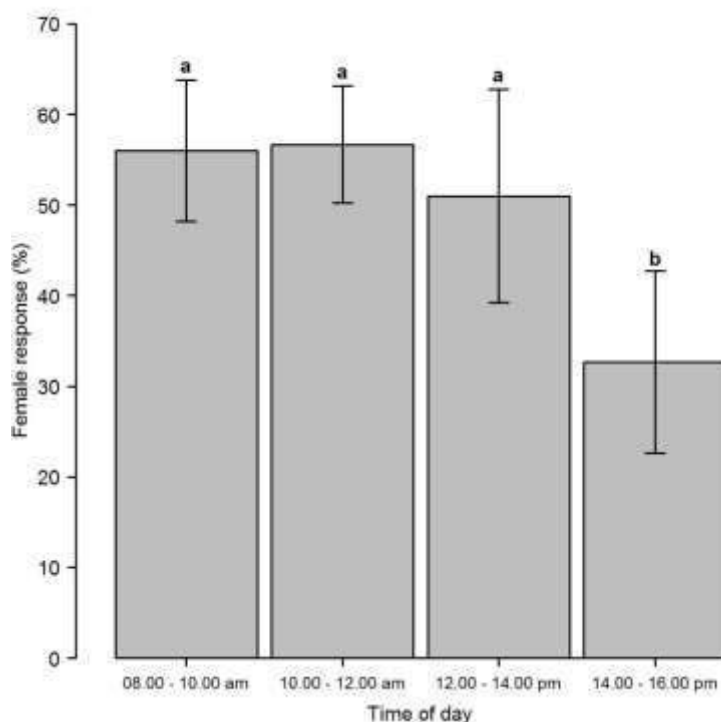


Figure II-13. Mean response ($\pm$ confidence interval) (%) of *Bactrocera cucurbitae* female to cucumber odor for 4 different times of the day (8:00-10:00, 10:00-12:00, 12:00-14:00, 14:00-16:00).

Age

Age of female had a significant effect ($\chi^2 = 172.4$; $df = 2$; $P < 0.001$) on *B. cucurbitae* female response to host fruit odour. The level of response increased significantly with age (**Fig. II-14**). The level of response of each age differed significantly from those of all other ages tested (Tukey HSD, $p < 0.05$).

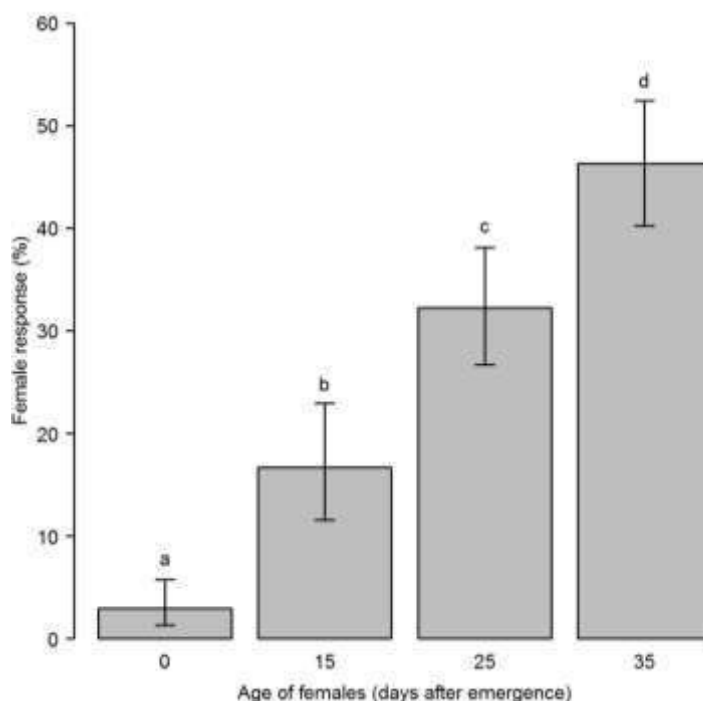


Figure II-14. Mean response ($\pm$ confidence interval) (%) of *Bactrocera cucurbitae* female to cucumber odor for 4 different ages (0, 15, 25, 35 days-old females).

The mean number of eggs per female varied with their age (**Fig. II-15**). All 5 days-old females had no eggs in their ovaries and had thus a number of eggs significantly different from other ages (Tukey HSD, $p < 0.05$). From 15 to 35 days-old, the mean numbers of eggs per female were no significantly different between the different ages (Tukey HSD, $p < 0.05$) and were close to 25 eggs per female.

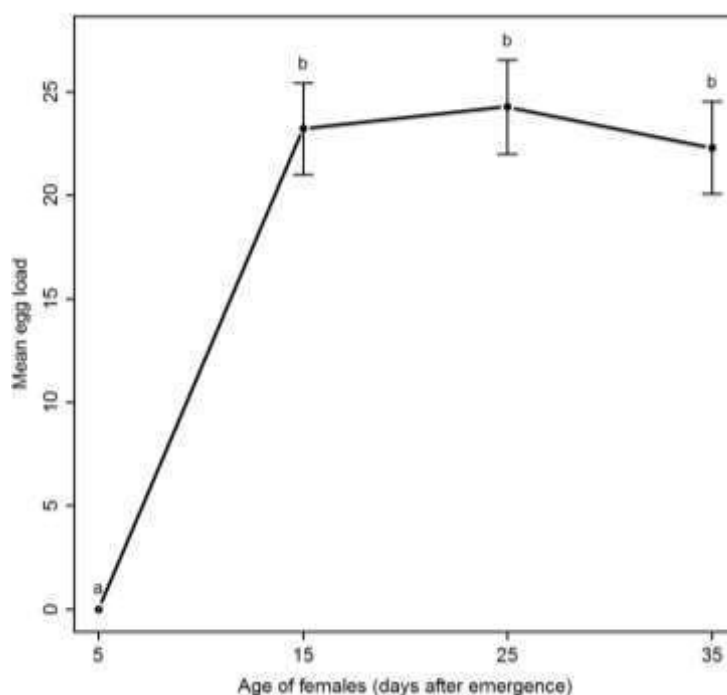


Figure II-15. Mean number ($\pm$ confidence interval) of mature eggs per female (egg load) upon dissection ovaries of *Bactrocera cucurbitae* females of different ages (0, 15, 25, 35 days-old).

To consider the combined effects of age and egg load on female response, we fitted the model only on data for 15, 25 and 35 days-old females, because all 5 days-old females had a null egg load. For this model, the likelihood ratio indicated a significant effect of age ($\chi^2 = 40.5$; $df = 2$, $p < 0.001$), no effect of egg load ($\chi^2 = 1.4$; $df = 1$, $p = 0.24$) on *B. cucurbitae* female response to host fruit odour.

Mating status

The likelihood ratio based on Chi-Squared test indicated no significant effect of mating status ($\chi^2 = 0.3$; $df = 1$, $p = 0.56$), no effect of egg load ($\chi^2 = 0.4$; $df = 1$, $p = 0.53$) on female response to host fruit odour. Indeed, virgin females had an average of 33.9 ± 0.9 eggs in their ovaries versus 31.7 ± 0.9 in mated ones.

Number of lab-reared generations

The likelihood ratio based on Chi-Squared test indicated a significant effect of the number of lab-reared generations ($\chi^2 = 51.2$; $df = 1$, $p < 0.001$) on female response to host fruit odour. Females of the 47th generation (F47) responded significantly more ($81.1 \pm 2.5\%$) to cucumber odour than did females of the 1st generation (F1) ($43.6 \pm 2.3\%$).

Discussion

The strong response of *B. cucurbitae* females to cucumber odour emphasizes the importance of host fruit volatiles in host plant location in this species. This response to host fruit volatiles is modulated by age and by the time of day, while egg load and mating status had no influence on the level of response.

Very few 5 days-old *B. cucurbitae* females (3%) responded to cucumber odour. Cornelius et al. (2000) also noticed a very low response of 2-3 days-old protein-fed females of *B. dorsalis* to orange odour. The residual response of young females to host fruit odour could be associated with their hunger for sugar (Robacker, 1991). In many insect species, adults need a specific period after emergence before entering the reproductive phase and becoming receptive to host plant stimuli. In our study, females became significantly responsive to host fruit odour at 15 days post-emergence, but could maybe have responded sooner if more ages had been tested. As under rearing conditions (25°C), the sexual maturity of *B. cucurbitae* females is acquired some 7.4 days (Vargas et al., 1984) or 11.2 days (Miyatake, 1996) post-emergence, 15 days-old females and older ones can thus be considered as sexually mature. The acquisition of sexual maturity is a determinant factor in the receptivity to olfactory stimuli as it was shown for mature females of *C. capitata* which are more attracted to the odour of ripe coffee fruit than are immature females (Prokopy & Vargas, 1996).

Up to 15 days post-emergence, the level of response gradually increases and reaches 46% for 35 days-old females. Hence, age is directly related to readiness to respond to stimuli and is a major factor contributing to variation in behaviour over time (Browne, 1993). An increase of female response to visual stimuli with age has been also demonstrated for *Neoceratitis cyaneescens* (Bezzi) (Brévault and Quilici, 1999). It is assumed that age is linked with physiological changes such as ovarian development and number of mature oocytes (egg load). Egg load has been hypothesized to modify for instance the alighting behaviour of butterflies (Jones, 1977 ; Root & Kareiva, 1984), the response to prior fruit infestations in fruit flies (Papaj & Prokopy, 1989) the response to visual stimuli in *N. cyaneescens* and *Rhagoletis pomonella* (Walsh) (Duan & Prokopy, 1994 ; Brévault & Quilici, 1999), as well as clutch size and host acceptance (breadth host range) in many insects species (Godfray, 1987 ; Minkenberg et al., 1992 ; Singer, 2000 ; Aluja & Mangan, 2008). In our study, from 5 days to 15 days post-emergence there are significantly more eggs in females' ovaries. The apparition of mature eggs could explain the better response of *B. cucurbitae* females to host odour as it has been shown for other species of Diptera, *Calliphora vomitoria* (L.) and *Cochliomyia*

hominivorax (Coquerel) (Campan, 1977 ; Hammack *et al.*, 1987). However, in the present study where all females have been dissected, it was demonstrate that egg load has no significant effect on female response to cucumber odour. More arguments can support this result: first the level of female response continues to increase with age but not the mean egg-load and next, some mature females without any mature eggs responded to fruit odour. However, the “egg-laying” history of the females is not precisely known: it is possible that some females (without egg-laying in fruit) dumped their eggs in the rearing cages before the experiment.

Though age appeared to be directly linked with *B. cucurbitae* female response to host fruit odour, the effect of insect age on host location and particularly the physiological mechanisms involved have received little attention in previous studies. Some hypotheses about the mechanisms can be emitted, principally linked to ovarian development. Physiological age-grading tools have been developed on females of *B. dorsalis*, based on description of the reproductive system over time, which revealed that accumulated follicular relics (corpora lutea) and the calyx becoming swollen with increasing age and ovary length are reliable indicators to determine the age structure (Chou *et al.*, 2012) and so potential factors influencing the response to olfactory stimuli. Another hypothesis is that maturation of the ovary initiates a chain of neural and hormonal events rendering females responsive to stimuli associated with oviposition sites as shown for *Aedes aegypti* L. (Klowden, 1990). Unfortunately, detailed studies on hormonal regulation of receptiveness to host odour in Tephritidae are scarce (Stoffolano *et al.*, 1993). Earlier studies focused mainly on the influence of ovarian development on sexual receptivity in some tephritid species. Flies in the genera *Ceratitis*, *Bactrocera* and *Anastrepha* can become sexually receptive despite the fact that their ovaries are atrophied by high doses of gamma irradiation used in sterile insect technique programs (Klassen *et al.*, 1994). The higher response of *B. cucurbitae* females with age could be associated with some life history traits of stenophagous tephritids. This species could be considered to belong to the ‘time-limited’ type, increasing its motivation to find hosts with ageing (Papaj, 2000).

Our result did not reveal any behavioural difference between virgin and mated females in their response to cucumber odour. It seems that the absence of egg fertilization did not modify the host foraging behaviour of *B. cucurbitae* females, as it was shown for *Anastrepha ludens* (Loew) and *Anastrepha obliqua* (Macquart) (Aluja *et al.*, 2001) as well as for *N. cyanescens* (Brévault & Quilici, 1999).

Many insects show a temporal separation of specific resource-orientated behaviours within a diel cycle (Browne, 1993). In the case of *B. cucurbitae*, a peak of oviposition activity was for instance observed during the morning in field conditions (Nishida & Bess, 1957). The better response of female to host fruit odour before 14:00 pm therefore constitutes one more element to support the hypothesis that female recognizes host volatiles as olfactory stimuli in finding a host.

Do behavioural modifications occur when females are kept under several generations in the laboratory? Regarding their response to host fruit odour, our study showed a better response of females from a strain lab-reared for many generations, compared to females of a first lab-reared generation. In Okinawa (Japan), a loss of genetic variability has been reported in the strain of *B. cucurbitae* mass reared for use in SIT (Sterile Insect Technique) compared to the wild strain (Miyatake, 1993 ; Haymer, 1995 ; Miyatake, 1996). Various life-history traits of *B. cucurbitae* adults showed phenotypic variation, such as pre-oviposition period, total number of eggs laid per female, rate of oviposition and frequency of mating (Nakamori et al., 1988). In our study, the change in olfactory response to host volatiles for laboratory-reared flies may be explained by the selection pressure exerted through mass rearing that allowed selection of individuals with a best ability of host recognition. Indeed, during the lab-rearing process, females were proposed zucchinis as egg-laying sites, and it is possible that an increased response to the odour of this host-fruit is selected with time. During our study, the tested odour was that of cucumber. We may hypothesize that the volatile blends emitted by the fruits of these two cucurbit species would be somewhat similar. However, recent chemical analysis of volatile emissions of both species showed important differences between them (Atiama-Nurbel et al., unpubl. data).

Many environmental factors, as well as physiological state of the insect, interact with the basic mechanisms of host-plant selection (Bernays & Chapman, 1994). The influence of endogenous factors on the readiness of insects to engage in any particular behaviour is the basis of their ability to order their resource-orientated behaviour throughout their lives and over the diel cycle and to integrate it with behaviours concerned with avoidance of environmental hazards (Browne, 1993). Physiological factors need to be considered when interpreting insect response to host odour stimuli, and particularly physiological age in the case of *B. cucurbitae* females. In addition, our study underlines the importance of qualifying the conclusions of experiments conducted with lab-reared flies and the importance of regularly refreshing lab-reared strains with wild flies. From an applied point of view, our study confirms the interest of host-fruits attractants, for developing trapping systems for *B.*

cucurbitae females (Siderhurst & Jang, 2010), particularly for catching mature females than are generally less attracted to proteinaceous attractants.

Acknowledgments

We thank Marie-Ludders Moutoussamy, Cédric Ajaguin-Soleyen, Jim Payet, Serge Glénac and Antoine Franck for rearing the flies and for their assistance during the experiments. We also thank Frédéric Chiroleu and Sandrine Le Squin for statistical counseling and Pierre-François Duyck for his help in reading and correcting the manuscript. This research was supported by CIRAD, by Regional council of La Réunion and The French Ministry of Agriculture and Fisheries.

Chapitre III

Composition chimique des effluves de fruits de Cucurbitaceae



Chapitre III - Composition chimique des effluves de fruits de Cucurbitaceae

I. Analyse des composés volatils de 27 fruits de Cucurbitaceae

Un nez humain est capable de reconnaître que l'effluve d'un concombre est différent de celui d'un melon mûr. Ces différences aromatiques perceptibles pour l'Homme, le sont systématiquement d'un point de vue chimique par un assemblage de composés volatils différents d'un fruit à l'autre. L'étude des composés volatils émis par les fruits de Cucurbitaceae est un champ d'étude pour l'instant peu investi, mis à part pour quelques espèces comme le melon (*Cucumis melo*) et le concombre (*Cucumis sativus*). Les études sur le melon restent tout de même plus complètes car elles font l'état de caractérisation précise de variétés et des changements aromatiques au cours de la maturation du fruit (Schieberle *et al.*, 1990 ; Beaulieu & Grimm, 2001 ; Shalit *et al.*, 2001 ; Hayata *et al.*, 2003 ; Aubert & Pitrat, 2006 ; Beaulieu, 2006 ; Beaulieu & Lea, 2006 ; Obando-Ulloa *et al.*, 2008 ; Obando-Ulloa *et al.*, 2010). En revanche, pour le concombre il s'agit plutôt de l'identification des composés caractérisant l'odeur dite « de concombre » et du développement de techniques permettant de détecter ces composés cibles (Kemp *et al.*, 1974 ; Schieberle *et al.*, 1990 ; Buescher & Buescher, 2001 ; Palma-Harris *et al.*, 2001). Dans le cadre de la thèse, la connaissance de la composition totale des effluves des fruits de Cucurbitaceae constitue un enjeu majeur pour l'identification des composés caractéristiques de la famille et des composés spécifiques aux espèces et variétés.

Ainsi, les composés volatils des 27 Cucurbitaceae ont été tout d'abord extraits par SPME au moyen d'une fibre triphasique (DVB/Carboxen/PDMS), démontrée plus efficace que les fibres mono- ou biphasiques pour l'extraction d'un mélange complexe de composés volatils (Paolini *et al.*, 2008 ; Ferreira *et al.*, 2009). Ces composés ont ensuite été analysés par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM). Les expériences ont été réalisées au minimum trois fois, avec des conditions opératoires identiques pour chaque Cucurbitaceae afin de vérifier la reproductibilité des résultats et de permettre la comparaison des profils d'émission entre fruits. Cette étude s'est déroulée en deux temps :

Dans un premier temps, la composition chimique des espaces de tête des 27 fruits de Cucurbitaceae a été étudiée. Deux stades extrêmes de maturation (stade jeune et stade mature) ont été systématiquement considérés.

Dans un deuxième temps, les espèces et les variétés de cette famille ont été hiérarchisées selon leur profil d'émission en composés volatils par des méthodes statistiques de classification. Ceci afin de mettre en lumière la chimiodiversité inter- et intra-spécifique de ce taxon.

I.1 Matériels et méthodes

I.1.1 Matériel végétal

L'analyse chimique des composés volatils a été réalisée sur les 27 fruits-hôtes précédemment décrits dans le chapitre II (*cf.* partie I.1) et dans l'annexe 2, pour deux stades de maturité : jeune et mature. Ainsi, 54 modalités différentes ont été testées, combinant à la fois le type de fruit (27 types) et le stade de maturité (2 stades).

I.1.2 Extraction des composés volatils par SPME

L'extraction des composés volatils émis par les 27 fruits jeunes et matures étudiés a été réalisée par microextraction sur phase solide au moyen d'une fibre grise du type DVB-Carboxen-PDMS dont l'épaisseur de phase est de 50-80 μm (Supelco Co, Bellefonte, PA, USA).

Cette extraction a été réalisée selon deux modes de présentation des fruits : découpés en morceaux et entiers. Les odeurs des fruits jeunes et matures découpés ont été extraites en conditions de laboratoire alors que celles des fruits entiers, l'ont été directement sur leur plant d'origine, *in situ*.

Le choix de collecter les composés émis par les fruits découpés a été effectué car il s'agit d'une méthodologie couramment utilisée dans les études des composés aromatiques de fruits et également dans les études d'écologie chimique. Dans la majorité des études sur l'émission de composés volatils des fruits de Cucurbitaceae, tels que le concombre et le melon, des processus de dénaturation plus destructifs comme des mixtures, ont été réalisés pour exhausser les composés en présence (Beaulieu & Grimm, 2001 ; Buescher & Buescher, 2001 ;

Aubert & Pitrat, 2006 ; Alagarmalai *et al.*, 2009 ; Siderhurst & Jang, 2010). Pour l'étude des effluves des 27 Cucurbitaceae sélectionnées, il a été jugé préférable de ne réaliser aucune mixture, car le processus trop destructif pourrait provoquer la production de composés volatils nouveaux et différents de ceux émis « au naturel ». L'utilisation de ces données pour l'interprétation des relations insecte phytophage-plante pourrait alors s'avérer inexacte. Il a plutôt été décidé, en complément des extractions de fruits découpés, d'extraire les composés volatils émis par des fruits en conditions naturelles (entier sur leur plant d'origine).

I.1.2.1 Fruits découpés en morceaux

Préparation de l'extraction

100 g de fruits découpés en petits dés (environ 1 cm²) ont été placés dans un erlenmeyer à vis muni d'un bouchon percé, afin de laisser passer l'aiguille du dispositif SPME (**Figure III-1**). Après 15 minutes de saturation de l'espace de tête, la fibre a alors été poussée hors de l'aiguille.

Deux températures d'extraction ont été testées :

- T = 25 ± 1°C (Température ambiante)
- T = 37°C (Température atteinte par immersion des erlenmeyers dans un bain-marie)

Des températures plus élevées n'ont pas été testées, afin de ne pas trop s'éloigner des conditions naturelles et de ne pas provoquer un début de cuisson du fruit modifiant la nature des composés volatils émis.

Au bout de trois heures de pause, la fibre est rétractée dans l'aiguille, retirée du dispositif puis désorbée dans l'injecteur du chromatographe. Des durées d'extraction ne dépassant pas quatre heures ont été délibérément sélectionnées, car des observations préliminaires ont montré qu'au-delà de cette durée le fruit découpé commençait à fermenter.

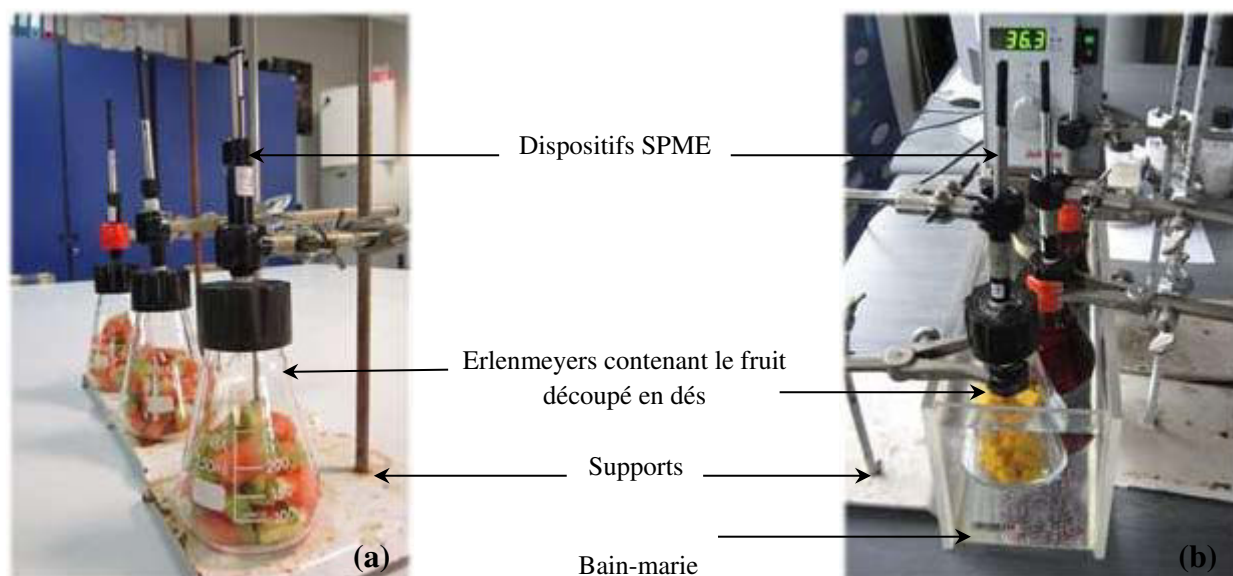


Figure III-1. Dispositifs expérimentaux pour l'extraction par SPME des composés volatils émis par les fruits découpés.
a : Extraction à température ambiante,
b : Extraction à 37°C (chauffage au bain-marie).
(Photos : T. Atiama-Nurbel (CIRAD))

I.1.2.2 Entier, *in situ*

Les extractions ont été réalisées au CIRAD sur les plants de Cucurbitaceae cultivés en serre. Toutes les extractions réalisées *in situ* se sont déroulées entre 8h00 et 12h00 sous des conditions météorologiques favorables (ni vent, ni pluie).

Une cloche en verre a été placée sur le fruit. L'extrémité inférieure (la plus large) de la cloche permettant l'introduction du fruit, a été fermée à l'aide de coton, afin d'obtenir un espace de tête le plus saturé possible (**Figure III-2**). La seringue SPME, support de la fibre, est introduite par l'extrémité supérieure (la plus étroite).

La fibre est ensuite poussée hors de l'aiguille après 15 minutes, le temps que l'espace de tête soit saturé. Après quatre heures de pause, la fibre est rétractée dans l'aiguille, retirée du dispositif puis désorbée dans l'injecteur du chromatographe. Une durée d'extraction de quatre heures a été fixée en raison de la très faible émission de composés volatils du fruit entier. Cette durée permettait d'extraire au maximum les composés volatils.

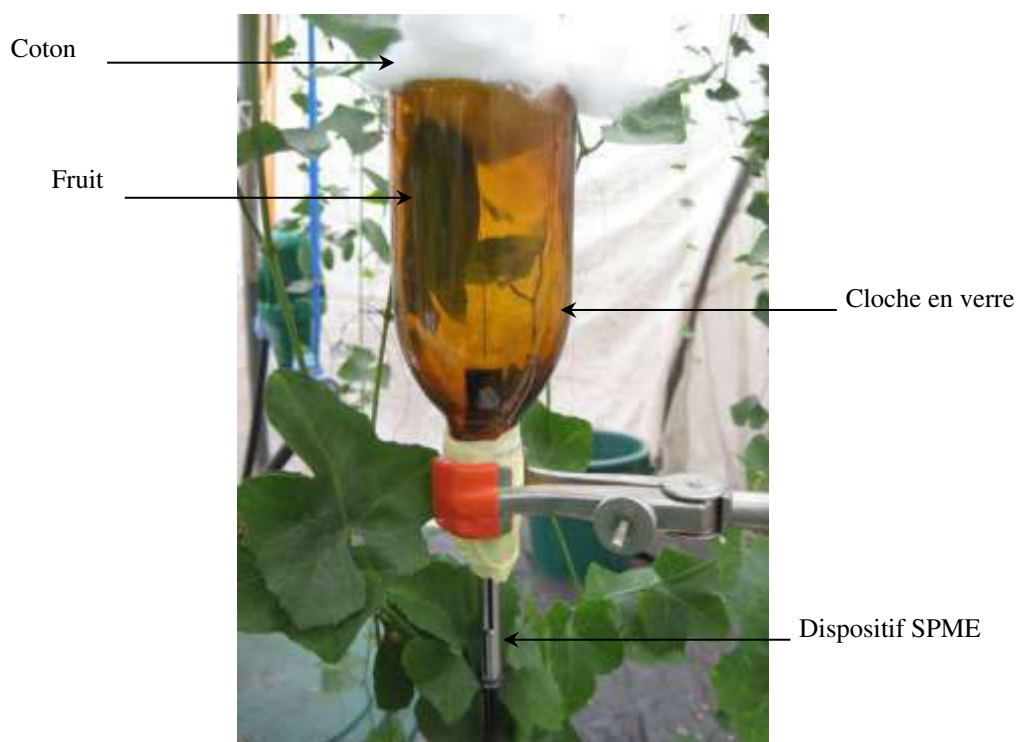


Figure III-2. Dispositif expérimental pour l'extraction par SPME des composés volatils émis par les fruits en conditions *in situ*.

Photo : T. Atiama-Nurbel (CIRAD)

I.1.3 Analyse chromatographique

Les analyses par CG-SM des composés volatils ont été réalisées par un chromatographe Agilent Technologies 5973N et équipé d'une colonne capillaire apolaire SPB-5. Les conditions d'analyse des composés volatils extraits par SPME, sont présentées dans le **tableau III-1**.

Tableau III-1. Conditions d'analyse par CG-SM.

Chromatographe : Agilent Technologies 5973N	
Colonne	
Phase stationnaire	SPB-5
Longueur	60 m
Diamètre interne	0,32 mm
Épaisseur de film	0,25 µm
Injecteur	
Mode	<i>splitless</i>
Température	250°C
Four	
Température du four	230°C
Pas de programmation	4°C/min
Température finale	230°C
Gaz vecteur	
Gaz	Hélium
Débit de la colonne	0,7 mL/min
Spectromètre de masse : Agilent Technologies 5973N	
Vide	37 mtorr
Source	Impact
Courant d'ionisation	70°C
Température de la source	230°C
Mode de détection	Scan
Gamme de masse	30 à 550 uma
Délai de solvant	0 minute

Parallèlement à ces analyses par CG-SM, les indices de rétention relatifs (IRR) propres à chacun des composés ont été calculés à partir d'une table de *n*-alcane de C₈ à C₂₂.

L'identification des composés a ensuite été réalisée par comparaison :

- ① Des spectres de masse expérimentaux à ceux de la littérature (Adams, 2007) de données informatisées NIST 02 et Wiley7n, et de standards injectés dans les mêmes conditions.
- ② Des IRR calculés à ceux de la littérature (Adams, 2007), de banques de données (NIST 02), et de standards injectés dans les mêmes conditions.

Pour chacun des fruits (jeunes et matures) et chacune des modalités d'extraction, trois fibres (trois répétitions) ont été utilisées simultanément dans les mêmes conditions, afin de vérifier

la répétabilité des résultats. Dans le cas de trop grandes différences entre les chromatogrammes obtenus, les mesures ont été renouvelées.

I.1.4 Analyse statistique

Les analyses statistiques et l'ensemble des figures de synthèse des résultats ont été réalisées à l'aide du logiciel R (version 2.15.0, R Development Core Team, 2012, Vienna, Austria).

Pour les trois méthodes d'extraction (3 h à température ambiante, 3h à 37°C et 4h *in situ*), la visualisation des chromatogrammes de chaque fruit jeune et mature a révélé des répétitions très stables, avec des variations minimales des aires des pics des composés. Suite à ces comparaisons, le chromatogramme le mieux défini avec le minimum de bruit au niveau de la ligne de base, a été sélectionné.

Dans un premier temps, pour chaque fruit étudié, une analyse descriptive du profil-type d'émission a été réalisée en considérant l'ensemble des composés volatils émis et détectés dans l'espace de tête du dispositif de collecte. Cette analyse a pour objectif (i) de comparer les profils d'émission en composés volatils des fruits jeunes et matures afin d'identifier les changements s'opérant au cours de la maturation ; (ii) de caractériser l'influence des méthodes d'extraction sur ces profils d'émission.

Dans un deuxième temps, afin de comparer les fruits entre eux, selon leur profil d'émission en composés volatils pour une méthode d'extraction donnée, une sélection d'un nombre plus restreint de composés a été réalisée. Etant donné, le nombre important de composés identifiés dans l'ensemble des profils (281 composés), ce choix était nécessaire afin de simplifier le jeu de données. Seuls les composés identifiés appartenant à cinq familles chimiques ont été conservés (alcools, aldéhydes, esters, terpènes et composés aromatiques). Ces familles de composés ont été sélectionnées en raison de leur rôle reconnu dans les relations insecte-plante (Das *et al.*, 2013). De plus, un deuxième criblage des données a été réalisé pour ne retenir parmi cette première sélection, que les composés émis dans au moins deux profils parmi les 54 étudiés. Sur ce jeu de données, constitué d'un nombre de composés volatils identifiés plus restreint, la variable considérée pour la suite des analyses est la présence ou l'absence de ces composés dans l'émission des différents fruits en considérant leur stade de maturité. Pour chaque méthode d'extraction, une Analyse en Composante Multiple (ACM) a été réalisée afin de caractériser les fruits du point de vue de l'ensemble des composés sélectionnés par la fonction *MCA* du package « FactoMineR » (Husson *et al.*, 2010). L'ACM permet de

déterminer un sous-espace de dimension réduite, « compréhensible » par l'œil, sur lequel est projeté un nuage de variables. Pour obtenir un tel sous-espace, la méthode consiste à chercher, dans un premier temps, l'axe qui restitue la part la plus importante de l'inertie totale du nuage, autrement dit, de l'information qu'il contient. Dans un deuxième temps, une fois ce premier axe déterminé, il s'agit alors de chercher le second axe sur lequel le nuage se déforme le moins, tout en étant orthogonal au premier. Il suffira ensuite de réitérer le processus jusqu'à restituer l'intégralité de l'inertie du nuage. L'analyse des correspondances multiples permet de constituer de nouveaux axes factoriels sur lesquels sont projetés les variables.

Dans notre cas, cette ACM nous permet de récupérer les coordonnées des fruits sur un nombre d'axes factoriels choisi selon qu'ils restituent 95 % de l'inertie. Ces coordonnées sont utilisées comme base pour réaliser une Classification Ascendante Hiérarchique (CAH). Les objectifs de la classification sont donc de regrouper les fruits décrits par un ensemble de composés volatils, et d'interpréter ces regroupements. L'intérêt de regrouper les fruits est de les classer en conservant leur caractère multidimensionnel, et d'établir une typologie des classes de fruits constituées. La CAH est réalisée par la fonction *agnes* du package « Cluster » (Kaufman & Rousseeuw, 2009) considérant les distances euclidiennes calculées à partir des coordonnées des fruits sur les axes factoriels de l'ACM et par la méthode d'agrégation de « Ward ». C'est une méthode ascendante, partant d'un nombre de classes égal au nombre des individus et regroupant à chaque itération un (ou plusieurs) individus ou classes en fonction de la diminution de l'inertie inter-classes. Un dendrogramme issu de la méthode de CAH pour chaque méthode d'extraction aide à visualiser la hiérarchie des partitions obtenues. Le choix du niveau de coupure du dendrogramme c'est-à-dire du nombre de classes de la partition est facilitée par l'examen de l'histogramme des indices croissants de niveau. Chaque barre de cet histogramme indique la valeur d'une agrégation c'est-à-dire la perte d'inertie obtenue en passant d'une partition en s classes à la partition en $s-1$ classes. La coupure se fait au un niveau pour lequel l'histogramme marque un palier important, cette coupure est ensuite représentée sur le dendrogramme. Chaque classe est ensuite caractérisée par la présence ou l'absence de composés volatils selon leur poids dans la constitution de la classe.

I.2 Résultats

I.2.1 Caractérisation des profils d'émission des fruits au cours de la maturation

Pour chaque fruit, il est proposé en annexes des tableaux et graphiques synthétisant l'ensemble des données obtenues. Les tableaux (**Annexe 3, Tableaux 3.1 à 3.27**) révèlent la composition (aires sous les pics et abondances relatives) des espaces de tête de chaque fruit aux stades jeune et mature, pour les trois méthodes d'extractions. Les graphiques synthétisent, pour chaque fruit, l'évolution des émissions au cours de la maturation pour les trois méthodes d'extractions (**Annexe 3, Figures 3.1 à 3.27**).

Dans cette partie, la description des profils de deux fruits est détaillée. Ces deux fruits ont été choisis, car ils présentent des comportements distincts au cours de la maturation : le melon voit son profil d'émission totalement modifié alors que le chou chou présente un profil assez constant.

La description s'articule autour de comparaisons :

- entre les fruits jeunes et matures pour chaque méthode d'extraction (fruits découpés à température ambiante et à 37°C et fruits entiers *in situ*)
- entre les méthodes d'extraction, avec entre autre l'identification des composés communs aux trois méthodes d'extraction.

Pour les autres fruits, le lecteur peut se référer aux graphiques en annexe (**Annexe 3, Figures 3.1 à 3.27**) qui, ont pour but de synthétiser au mieux l'impact de la maturation sur la composition de l'espace de tête des fruits.

▪ **Le chouhou (*Sechium edule*) (Annexe 3, Tableau 3.3 et Figure 3.3)**



Photos : T.Atiama-Nurbel

○ *Extraction des fruits découpés, 3 heures, à température ambiante*

L'espace de tête du **fruit jeune**, est caractérisé par 15 composés identifiés, représentant 98,6% de la composition totale en composés volatils. Le composé majoritairement émis est l'oct-1-én-3-ol (34,4%). L'émission du fruit jeune est en outre caractérisée par 65,1% d'alcools, 19,3% d'hydrocarbures, 5,9% de monoterpènes hydrocarbonés, 4,3 % de cétones et 4,0 % d'aldéhydes.

L'espace de tête du **fruit mature** est caractérisé par 8 composés identifiés représentant 100% de la composition totale en composés volatils. Le composé majoritairement émis est l'oct-1-én-3-ol (53,3%). De plus, l'émission du fruit mature est caractérisée par 70,4% d'alcools, 16,3% de monoterpènes hydrocarbonés, 5,1% d'hydrocarbures, 4,3% d'aldéhydes et 3,9% de cétones.

►► **Comparaison :** Pour une extraction de 3 h à température ambiante des fruits découpés, le fruit jeune émet plus de composés que le fruit mature et en plus grande abondance. Le passage du fruit jeune au fruit mature est marqué par la disparition de 7 composés (le 2,4-diméthylheptane, l'undécane, le dodécane, le tridécane, l'éthanol, l'octanol et le cymène) et par l'apparition de 2 nouveaux composés (l'octan-3-ol et le (Z)- β -ocimène).

○ *Extraction des fruits découpés, 3 heures, à 37°C*

L'espace de tête du **fruit jeune** est caractérisé par 10 composés identifiés représentant 100% de la composition totale en composés volatils. Le composé majoritairement émis est l'oct-1-én-3-ol (49,8%). L'émission du fruit jeune est par ailleurs caractérisée par 68,3% d'alcools, 23,5% de monoterpènes hydrocarbonés, 6,2% d'hydrocarbures et 2,0% de cétones.

L'espace de tête du **fruit mature** est caractérisé par 12 composés identifiés représentant 97,3% de la composition totale en composés volatils. Le composé majoritairement émis est, comme pour le fruit jeune, l'oct-1-én-3-ol (53,3%). L'émission du fruit mature est en outre caractérisée par 69,2% d'alcools, 11,9% de monoterpènes hydrocarbonés, 7,3% de cétones, 5,0% d'hydrocarbures, 2,1 % d'esters et 1,6 % d'aldéhydes.

►► **Comparaison** : Pour une extraction de 3 h à 37°C de fruits découpés, le fruit mature émet plus de composés que le fruit jeune et en plus grande abondance. Le passage du jeune fruit au fruit mature est marqué par la disparition de 4 composés (le tridécane, l'octan-1-ol, l' α -terpinène, le γ -terpinène) et par l'apparition de 6 nouveaux composés (l'octan-3-ol, l'hexanal, le 2-éthylhexanoate de méthyle, le limonène, le (Z)- β -ocimène et le δ -3 carène).

○ *Extraction des fruits entiers, 4 heures, in situ*

L'espace de tête du **fruit jeune** est caractérisé par 3 composés identifiés représentant 56,3 % de la composition totale en composés volatils. Il s'agit d'un aldéhyde, le nonanal (24,8 %), et de deux hydrocarbures, le 2,4-diméthylheptane (21,5 %) et le 4-méthylheptane (10,1 %).

L'espace de tête du **fruit mature** est caractérisé par 4 composés identifiés représentant 82,4 % de la composition totale en composés volatils : deux aldéhydes, le nonanal (43,6%) et le décanal (4,2 %), et deux hydrocarbures, le 2,4-diméthylheptane (24,7 %) et le 4-méthylheptane (9,8 %).

►► **Comparaison** : pour une extraction de 4 h *in situ* de fruits entiers, le fruit mature émet plus de composés que le fruit jeune et en plus grande abondance. Au cours de la maturation, on peut noter en particulier l'apparition d'un composé identifié supplémentaire (le décanal).

○ *Comparaison des méthodes d'extractions*

Pour le **fruit jeune** découpé, plus de composés sont extraits à température ambiante qu'à 37°C, avec la disparition des aldéhydes après chauffage. L'oct-1-én-3-ol apparaît comme un composé caractéristique et majoritaire de l'espace de tête des fruits découpés quelle que soit la température d'extraction. L'émission du fruit jeune *in situ* est moins riche que l'émission de fruits découpés et est caractérisée par une part importante d'aldéhydes.

Pour le **fruit mature** découpé, plus de composés sont extraits à 37°C qu'à température ambiante, avec l'apparition de 2 composés (2-éthylhexanoate de méthyle et cymène) après

chauffage. L'émission du fruit jeune *in situ* est moins riche que l'émission de fruits découpés et est caractérisée par une part importante de nonanal.

▪ **Le melon (*Cucumis melo*) (Annexe 3, Tableau 3.19 et Figure 3.19)**



Photos : T.Atiama-Nurbel

○ *Extraction des fruits découpés, 3 heures, à température ambiante*

L'espace de tête du **fruit jeune** est caractérisé par 4 composés identifiés représentant 100% de la composition totale en composés volatils. Il s'agit de l'éthanol (63,1%), de l'acétate d'éthyle (16,7%), du 2-méthylpentane (17,9 %) et de l'hexane (2,3 %).

L'espace de tête du **fruit mature** est caractérisé par 53 composés identifiés représentant 98,6% de la composition totale en composés volatils. Le composé majoritairement émis est l'acétate d'hexyle (15,4%). Par ailleurs, l'émission du fruit mature est caractérisée par un pourcentage élevé d'esters (96.5%) et de traces d'alcools (0,8%), de composés aromatiques (0,7%), d'hydrocarbures (0,3%), de monoterpènes hydrocarbonés (0,2%) et d'aldéhydes (0,1,%).

►► **Comparaison :** Pour une extraction de 3 h à température ambiante de fruits découpés, le fruit mature émet plus de composés que le fruit jeune et en plus grande abondance. Au cours de la maturation, les profils d'émission des fruits changent. Le passage du fruit jeune au fruit mature est marqué par la disparition de 2 composés (le 2-méthylpentane et l'hexane) et par l'apparition de 52 nouveaux composés (42 esters, 4 alcools, 2 composés aromatiques, 2 hydrocarbures, 1 monoterpène oxygéné et 1 aldéhyde).

○ *Extraction des fruits découpés, 3 heures, à 37°C*

L'espace de tête du **fruit jeune** est caractérisé par 9 composés identifiés représentant 100% de la composition totale en composés volatils. Le composé majoritairement émis est l'éthanol

(34,2%). L'émission du fruit jeune est de plus caractérisée par 34,2% d'alcools, 21,8% d'hydrocarbures et 14,0% d'esters.

L'espace de tête du **fruit mature** découpé, pour une extraction de 3h à 37°C, est caractérisé par 55 composés identifiés représentant 89,1% de la composition totale en composés volatils. Le composé majoritairement émis est l'acétate d'hexyle (11,8%). De façon globale, l'émission du fruit mature est caractérisée par 81,8% d'esters, 5,6% d'hydrocarbures, 0,7 % de monoterpènes hydrocarbonés et oxygénés et 0,2% de composés aromatiques.

►► **Comparaison** : Pour une extraction de 3 h à 37°C de fruits découpés, le fruit mature émet un plus grand nombre de composés et en plus grande abondance que le jeune fruit. Au cours de la maturation, les profils d'émission des fruits changent. Le passage du fruit jeune au fruit mature est marqué par la disparition de 4 hydrocarbures (le 2-méthylpentane, l'octane, l'octadécane et le nonadécane) et par l'apparition de 52 nouveaux composés principalement des esters (40 d'entre eux ont été identifiés).

○ *Extraction des fruits entiers, 4 heures, in situ*

L'espace de tête du **fruit jeune** est caractérisé par 11 composés identifiés représentant 45,6% de la composition totale en composés volatils. Le composé majoritairement émis est le β -pinène (27,9%). L'émission du jeune fruit comprend également 16,1% d'hydrocarbures et 1,1% d'aldéhydes.

L'espace de tête du **fruit mature** entier est caractérisé par 37 composés identifiés représentant 99,8% de la composition totale en composés volatils. Il s'agit principalement d'esters (96,7% dont l'acétate de 2-méthylbutyle à hauteur de 21,5%), mais aussi d'hydrocarbures (2,1%), de composés aromatiques (0,7%) et d'alcools (0,3%).

►► **Comparaison** : Lors d'une extraction de 4 h *in situ* de fruits entiers, le fruit mature émet plus de composés et en plus grande abondance que le fruit jeune. Le passage du fruit jeune au fruit mature est marqué par la disparition de 10 composés (le 2,4-diméthylheptane, le 4-méthylheptane, le décane, le 2-méthylbutylidène cyclopentane, l'undécane, le dodécane, le décanal, l' α -pinène, le β -pinène et le limonène) et par l'apparition de 37 nouveaux composés (32 esters, 3 hydrocarbures, 1 alcool, et 1 composé aromatique).

○ Comparaison des méthodes d'extractions

Pour le **fruit jeune** découpé, l'extraction à 37°C permet de détecter plus de composés qu'à température ambiante. Le chauffage entraîne une augmentation du nombre d'hydrocarbures et l'apparition d'un ester supplémentaire (le 2-méthylbutanoate de méthyle). L'émission du fruit jeune *in situ* est moins riche en nombre de composés et en abondance que celle des fruits jeunes découpés.

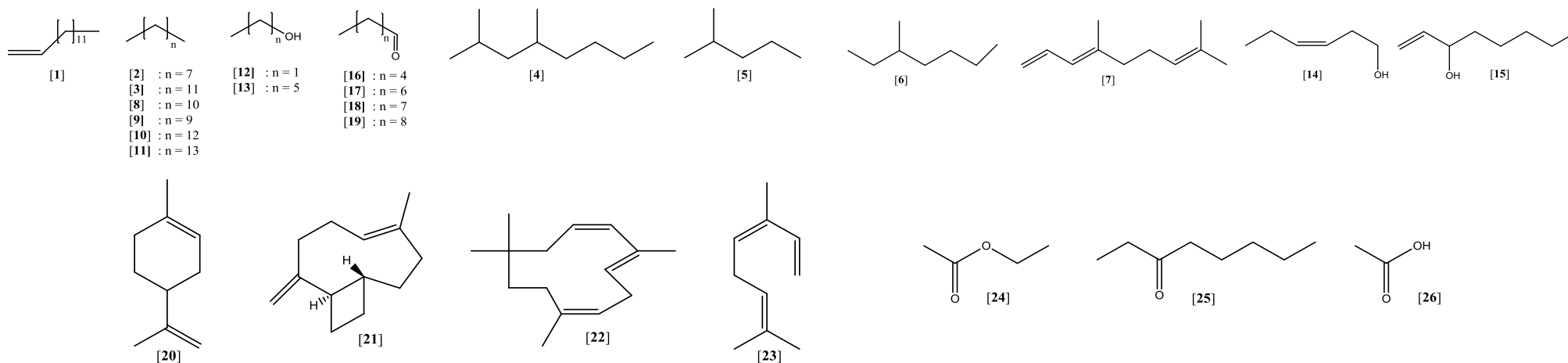
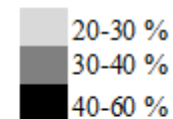
Pour le **fruit mature** découpé, l'extraction à température ambiante permet d'extraire plus de composés qu'à 37°C. Le chauffage entraîne une diminution du nombre d'hydrocarbures, de terpènes et d'esters émis. L'émission du fruit jeune *in situ* est moins riche en nombre de composés et en abondance que celle des fruits matures découpés.

Quinze composés (le benzaldéhyde, l'acétate de méthyle, le propanoate d'éthyle, le butanoate de méthyle, le butanoate d'éthyle, l'acétate de butyle, le 2-méthylbutanoate d'éthyle, l'acétate de 2-méthylbutyle, l'acétate de 3-méthylbut-2-ényle, l'hexanoate de méthyle, le butanoate de 2-méthylpropyle, le 2-(méthylthio) acétate d'éthyle, l'hexanoate d'éthyle, l'acétate d'hex-(3E)-ényle, l'acétate d'hexyle) se retrouvent dans les profils d'émission des fruits matures pour les trois méthodes d'extraction.

Trois composés (l'acétate d'éthyle, le 2-méthylpropanoate d'éthyle et le 2-méthylbutanoate de méthyle) se retrouvent dans les profils d'émission des fruits jeune et mature à 37°C et également dans les fruits matures à température ambiante et *in situ*.

Tableau III-2. Composés volatils les plus courants dans les profils d'émission des fruits jeunes et matures pour les trois méthodes d'extraction.
(Seuls les composés dont la fréquence d'apparition dans les profils d'émission est supérieure à 20%, sont présentés)

Stades de maturité		Méthodes d'extraction																									
		tétradécène (1)	nonane (2)	tridécano (3)	2,4-diméthyl-octane (4)	2-méthyl-pentane (5)	4-méthyl-octane (6)	4,8-diméthyl-nona-1,3,7-trène (7)	dodécane (8)	undécane (9)	tétradécane (10)	pentadécane (11)	éthanol (12)	hexanol (13)	(3Z)-hex-3-én-1-ol (14)	oct-1-én-3-ol (15)	hexanal (16)	octanal (17)	nonanal (18)	décanal (19)	limonène (20)	(E)-caryophyllène (21)	α -humulène (22)	(Z)- β -ocimène (23)	acétate d'éthyle (24)	octan-3-one (25)	acide acétique (26)
jeune	3h, 37°C																										
	3 h, 25±1°C																										
	4 h, <i>in situ</i>																										
mature	3h, 37°C																										
	3 h, 25±1°C																										
	4 h, <i>in situ</i>																										



I.2.2 Comparaison des profils d'émission des fruits

I.2.2.1 Occurrence des composés volatils

La fréquence d'apparition (occurrence) (en %) des composés volatils dans les profils d'émission des fruits, en fonction de leur stade de maturité et de la méthode d'extraction, sont présentées dans le **tableau III-2**. Seuls les composés dont l'occurrence est supérieure à 20% ont été retenus.

Sur 280 composés identifiés pour l'ensemble des analyses, seuls 26 ont une fréquence d'apparition supérieure à 20%. Ce qui montre que les profils sont très différents et ne comportent pas les mêmes composés. Aucun composé par exemple, n'a été retrouvé comme commun à tous les profils d'émission.

Quel que soit le stade de maturité et la méthode d'extraction, l'hexanal et le limonène sont présents dans les espaces de tête d'une majeure partie des fruits testés.

Les profils d'émission des fruits découpés (à température ambiante et à 37°C) sont particulièrement caractérisés par la présence d'hexanol, d'éthanol, de (3Z)-hex-3-énol et de (E)-caryophyllène. L'acétate d'éthyle est quant à lui, présent dans plus de 30% des profils d'émission des fruits jeunes découpés et se retrouve aussi dans 20 à 30% des profils des fruits matures à 37°C et *in situ*.

Les profils de fruits *in situ* sont quant à eux plus largement caractérisés par le 2,4-diméthyl-octane, le 4-méthyl-octane, le dodécane, le nonanal, l'octanal et le décanal. Le 2,4-diméthyl-octane est également présent dans 30 à 40% des profils des fruits jeunes à température ambiante.

I.2.2.2 Classification ascendante hiérarchique des fruits selon leur profil d'émission en composés volatils

Pour chacune des trois méthodes d'extraction, une classification ascendante hiérarchique a été réalisée afin de regrouper les 54 modalités de fruits testés (croisement entre les 27 fruits et les deux stades de maturité) selon leur profil d'émission en composés volatils dans des classes les plus homogènes possibles. Dans cette partie, les 54 modalités seront désignées par la dénomination « fruit-stade » pour ne pas entraîner de confusion avec le terme de « fruits » employé dans l'ensemble du manuscrit pour désigner le type de fruit testé et ne renseignant pas sur le stade de maturité.

Ces classifications sont présentées sous forme de dendrogrammes (**Figures III-3 à III-5**) sur lesquels apparaissent des cadres pour délimiter les classes regroupant les fruits-stades les plus proches. Les classes sont indépendamment énumérées pour chaque méthode d'extraction par des lettres dont l'ordre alphabétique renseigne sur la proximité des classes. La coupure du dendrogramme déterminant la zone de lecture des classes est matérialisée sur le dendrogramme par une ligne rouge. En complément des dendrogrammes, l'appartenance des fruits-stades aux différentes classes est présentée pour chacune des méthodes d'extraction dans le **tableau III-3**.

Tableau III-3. Appartenance des fruits aux classes des classifications ascendantes hiérarchiques

Espèces	Noms génériques	Conditions opératoires					
		3 h, T = 37°C		3 h, T = 25±1°C		4 h, <i>in situ</i>	
		Fruits découpés		Fruits découpés		Fruits entiers	
		Fruit jeune	Fruit mature	Fruit jeune	Fruit mature	Fruit jeune	Fruit mature
<i>Citrullus lanatus</i>	pastèque ‘baby doll’	A	I	A	F	C	C
	Pastèque ‘flower mountain’	A	I	A	F	A	D
	pastèque longone	A	J	A	H	A	J
<i>Coccinia grandis</i>	coccinia	A	A	A	A	G	A
<i>Cucumis melo</i>	melon	A	K	A	I	E	L
<i>Cucumis metuliferus</i>	concombre ‘kenya’	G	B	D	D	A	A
<i>Cucumis sativus</i>	concombre ‘antilla’	E	E	A	E	A	A
	concombre ‘F1-L04’	E	E	A	E	A	A
	concombre ‘pays’	E	E	B	E	A	A
	concombre ‘showy green’	E	E	A	A	E	E
	concombre ‘tropical’	F	F	E	E	A	E
	concombre ‘vantage’	A	E	A	E	F	A
<i>Cucurbita maxima</i>	giraumon	A	A	A	A	A	G
	potiron	A	A	A	A	B	A
<i>Cucurbita moschata</i>	butternut	A	A	A	A	A	A
	citrouille	A	B	A	A	A	E
<i>Cucurbita pepo</i>	courgette luna	C	A	A	A	A	A
	courgette sofia	A	A	A	A	B	A
	patisson	C	A	C	A	B	A
<i>Cyclanthera pedata</i>	margose lisse	H	H	H	G	E	G
<i>Lagenaria siceraria</i>	calebasse	A	A	A	A	A	A
<i>Luffa acutangula</i>	pipangaille à côte	A	B	A	A	H	A
<i>Luffa cylindrica</i>	pipangaille lisse	B	B	A	A	A	E
<i>Momordica charantia</i>	margose cultivée	A	D	A	A	A	A
	margose sauvage	A	A	A	A	B	I
<i>Sechium edule</i>	chouchou	A	A	B	B	A	A
<i>Trichosanthes cucumerina</i>	patole	A	B	A	A	A	K

Classification hiérarchique des fruits-stades découpés extraits à 37°C

La classification a été réalisée à partir des coordonnées des fruits sur 29 axes factoriels de l'ACM. Les fruits-stades découpés à 37°C peuvent être regroupés en 11 classes selon la composition qualitative de leur émission en composés volatils (**Tableau III-3, Figure III-3**).

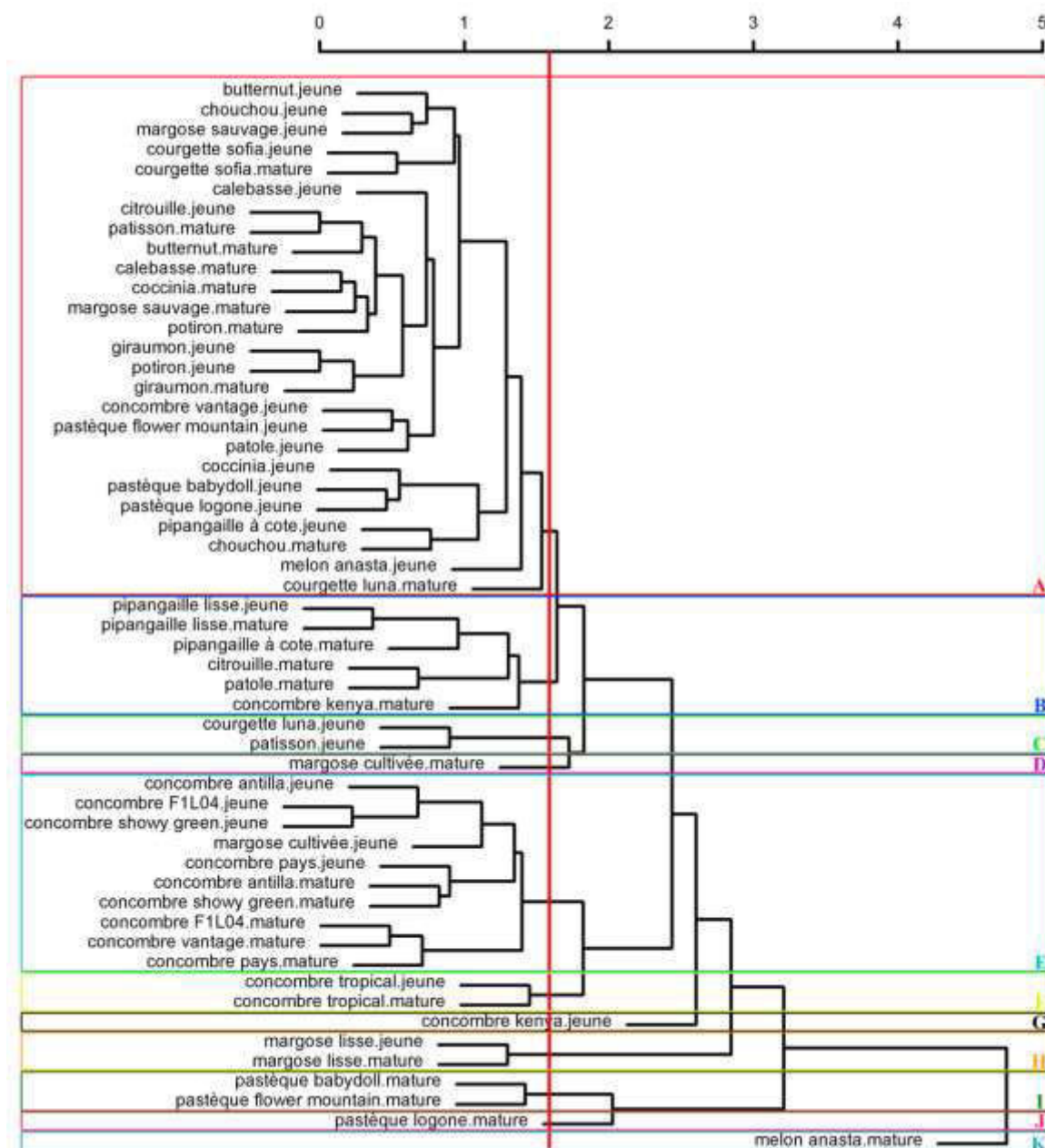


Figure III-3. Dendrogramme des fruits selon leur profil d'émission en composés volatils pour l'extraction des fruits découpés, 3 h à 37°C.

Classification ascendante hiérarchique (distance euclidienne, méthode d'agrégation de Ward) - Distances calculées à partir des coordonnées des fruits sur les axes factoriels de l'analyse en composante multiple.

La caractérisation de chaque classe est déterminée par la présence ou l'absence de composés volatils à l'origine des regroupements observés (**Tableau III-4**).

Tableau III- 4. Caractérisation des classes de la classification ascendante hiérarchique des fruits découpés jeunes et matures pour l'extraction de 3 h à 37°C.

Classes 3 h, 37°C		Caractéristiques des classes	
		Présence de composés	Absence de composés
Classe A			nonanol
			tétradécanal
			nonanal
			pentadécanal
			β -pinène
Classe B	(E)- β -ocimène	alcool isopentylique	(2E)-non-2-éнал
	camphène		(E)-caryophyllène
			α -humulène
Classe C	α -gurjunène	germacrène-D	(3Z)-hex-3-én-1-ol
	δ -cadinène	bicyclogermacrène	
Classe D	pent-1-én-3-ol		
Classe E	tridécanal	(2E)-non-2-éнал	(3Z)-hex-3-én-1-ol
	α -humulène	(E)-caryophyllène	
	tétradécanal	(2E,6Z)-nona-2,6-diéнал	
	pentadécanal		
Classe F	δ -cadinène	(Z)- β -bisabolène	
	décanol		
Classe G	mésitylène		
Classe H	octanol	butanoate d'hexyle	
	α -pinène	butanoate de (3Z)-hex-3-ényle	
	octan-3-ol	isovalérate de (3Z)-hex-3-ényle	
	hexanoate d'hexyle		
Classe I	nonanol	δ -cadinène	
	β -élémyène	germacrène-D	
	β -sélinène	(3Z)-non-3-én-1-ol	
	γ -cadinène	(3E,6Z)-nona-3,6-diéнал-1-ol	
	α -gurjunène		
Classe J	épi- α -muurolol		
	spathuléanol		
Classe K	eucalyptol	acétate de méthyle	
	acétate de butyle	hexanoate d'isopentyle	
	acétate de benzyle	butanoate d'isopentyle	
	propanoate d'éthyle	acétate de 3-méthylbutyle	
	hexanoate d'éthyle	acétate de 2-méthylbutyle	
	butanoate d'éthyle	2-méthylbutanoate d'éthyle	
	butanoate de méthyle	butanoate de 2-méthylpropyle	
	hexanoate de méthyle	(2-méthylthio) acétate d'éthyle	

Parmi les 27 fruits, 14 possèdent des profils d'émission suffisamment proches entre les stades jeunes et matures pour que leurs deux stades soient regroupés dans une même classe. Les 13 autres fruits restants, possèdent des profils d'émission plus distants entre les stades jeune et mature et sont ainsi placés selon le stade, dans des classes différentes. Cependant pour ces 13 derniers fruits, leurs stades jeune et mature se retrouvent dans des classes proches (**A-B** : citrouille, patole, pipangaille à côte ; **A-C** : courgette 'luna' et patisson ; **E-D** : margose cultivée) et d'autres dans des classes distantes (**B-G** : concombre 'kenya' ; **A-E** : concombre 'vantage' ; **A-K** : melon ; **A-I** : pastèque 'baby doll' et 'flower mountain' ; **A-J** : pastèque 'longone').

En ce qui concerne les fruits dont les stades jeunes et matures sont regroupés dans les mêmes classes, 8 sont dans la classe A (butternut, calebasse, chouchou, coccinia, courgette 'sofia', giraumon, margose sauvage et potiron), 1 dans la classe B (pipangaille lisse), 4 dans la classe E (concombre 'antilla', concombre 'F1-L04', concombre pays et concombre 'showy green') et 1 dans la classe F (concombre 'tropical').

Parmi les fruits dont les stades sont placés dans des classes différentes, une majorité d'entre eux ont leur stade jeune placés dans la classe A et ce sont leurs stades matures qui diffèrent suffisamment pour être placés dans d'autres classes (citrouille, patole, pipangaille à côte, courgette 'luna', patisson, concombre 'vantage', pastèque 'baby doll' et 'flower mountain'). Ils peuvent aussi constituer à eux seuls, une classe (melon, pastèque 'longone'). Au contraire, pour le patisson et la courgette 'luna', le stade mature se situe dans la classe A, alors que le stade jeune est dans la classe C. Dans ces cas, les profils d'émission des fruits à un stade donné sont plus proches de ceux d'un autre fruit que de ceux d'un même fruit à un stade différent.

Globalement, avec cette méthode d'extraction, les fruits sont fortement regroupés dans la classe A qui rassemble 48% des fruits-stades testés, puis dans la classe E (19% des fruits-stades) et dans la classe B (11% des fruits-stades). Les classes restantes rassemblent chacune un ou deux fruits-stades.

Classification hiérarchique des fruits-stades découpés extraits à température ambiante

La classification a été réalisée à partir des coordonnées des fruits sur 26 axes factoriels de l'ACM. Les fruits-stades découpés à température ambiante peuvent être regroupés en 9

classes, selon la composition qualitative de leur émission en composés volatils (**Tableau III-3, Figure III-4**).

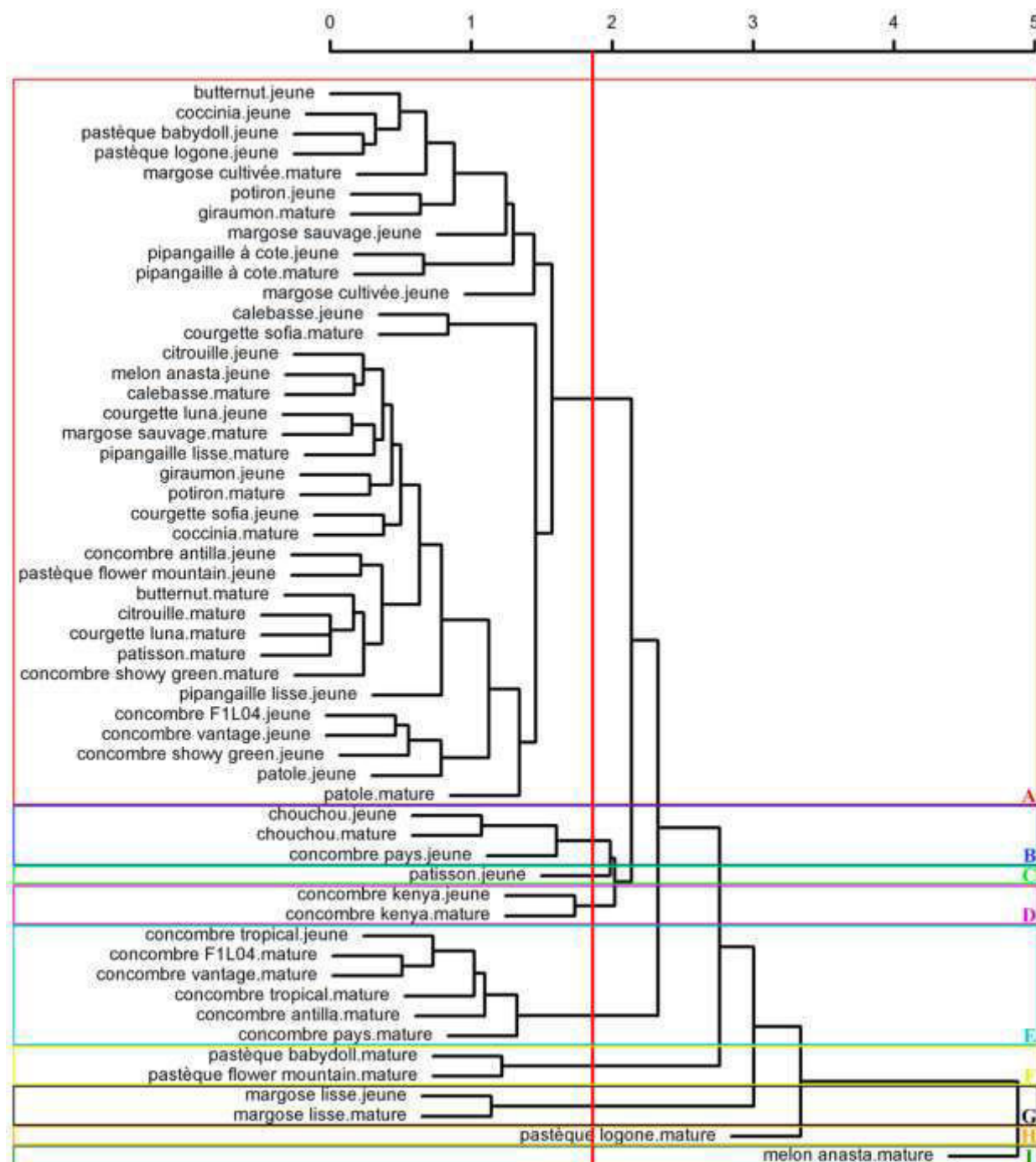


Figure III-4. Dendrogramme des fruits selon leur profil d'émission en composés volatils pour l'extraction des fruits découpés 3 h à température ambiante.

Classification ascendante hiérarchique (distance euclidienne, méthode d'agrégation de Ward) - Distances calculées à partir des coordonnées des fruits sur les axes factoriels de l'analyse en composante multiple.

La caractérisation de chaque classe est déterminée par la présence ou l'absence de composés volatils à l'origine des regroupements observés (**Tableau III-5**).

Tableau III- 5. Caractérisation des classes de la classification ascendante hiérarchique des fruits découpés jeunes et matures pour l'extraction de 3 h à température ambiante.

Classes 3 h, 25±1 °C	Caractéristiques des classes	
	Présence de composés	Absence de composés
Classe A		hexanal (2E)-non-2-éanal
		hexanol (E)-caryophyllène
		nonanal (6Z)-non-6-én-1-ol
		α -gurjunène (3Z)-hex-3-én-1-ol
		tétradécanal (2E,6Z)-nona-2,6-diéanal
		acétate (2E,6Z)-nona-2,6-diénil- d'hexyle 1-ol
Classe B	δ -3-carène octan-3-ol	oct-1-én-3-ol cymène (<i>o</i> ou <i>p</i>)
Classe C	linalol	
Classe D	(E)- α -bergamotène sabinène	
Classe E	nonanal	(E)-caryophyllène
	α -humulène	(6Z)-non-6-én-1-ol
	tétradécanal	(2E,6Z)-nona-2,6-diénil-1-ol
	pentadécanal	(2E,6Z)-nona-2,6-diéanal
	(2E)-non-2-éanal	
Classe F	nonanol	(3Z)-non-3-én-1-ol
	β -élémyène	acétate d'hex-(3Z)-ényle
	α -gurjunène	(3E,6Z)-nona-3,6-diénil-1-ol
	(2E)-non-2-éanal	
Classe G	décanal	butanoate d'hexyle
	β -pinène	butanoate de (3Z)-hex-3-ényle
	camphène	isovalérate de (3Z)-hex-3-ényle
	acétate d'hexyle	propanoate de (3Z)-hex-3-ényle
	(2E)-non-2-éanal	
Classe H	β -sélénène	spathulénilol
	γ -cadinène	épi- α -muurolol
	α -cubébène	aromadendrène
Classe I	eucalyptol	butanoate d'isopentyle
	acétate de butyle	acétate de 2-méthylbutyle
	acétate de benzyle	2-méthylbutanoate d'éthyle
	butanoate d'éthyle	2-méthylpropanoate d'éthyle
	acétate de méthyle	2-méthylbutanoate de méthyle
	hexanoate d'éthyle	butanoate de 2-méthylpropyle
	propanoate d'éthyle	(2-méthylthio) acétate d'éthyle
	hexanoate de méthyle	acétate de 3-méthylbut-2-ényle
	butanoate de méthyle	
	hexanoate d'isopentyle	

Parmi les 27 fruits, 17 possèdent des profils d'émission suffisamment proches entre les stades jeunes et matures pour que leurs deux stades soient regroupés dans une même classe. Les 10 autres fruits restants, possèdent des profils d'émission plus distants entre les stades jeune et mature et sont ainsi placés, selon le stade, dans des classes différentes. Cependant pour ces 10

derniers fruits, leurs stades jeune et mature se retrouvent dans des classes proches (**G-H** : margose lisse ; **A-C** : patisson) et d'autres dans des classes distantes (**A-E** : concombre 'antilla', concombre 'F1L04', concombre 'vantage' ; **B-E** : concombre 'pays' ; **A-I** : melon ; **A-F** : pastèque 'baby doll' et 'flower mountain' ; **A-H** : pastèque 'longone').

En ce qui concerne les fruits dont les stades jeunes et matures sont regroupés dans les mêmes classes, 14 sont dans la classe A (butternut, calebasse, citrouille, coccinia, concombre 'showy green', courgette 'luna', courgette 'sofia', giraumon, margose cultivée, margose sauvage, patole, pipangaille à côte, pipangaille lisse et potiron), 1 dans la classe B (chouchou), 1 dans la classe D (concombre 'kenya'), et 1 dans la classe E (concombre 'tropical').

Parmi les fruits dont les stades sont placés dans des classes différentes, une majorité d'entre eux ont leurs stades jeunes placés dans la classe A et ce sont leurs stades matures qui diffèrent suffisamment pour être placés dans d'autres classes (concombre 'antilla', concombre 'F1-L04', concombre 'vantage', pastèque 'baby doll' et 'flower mountain'). Ils peuvent également constituer à eux seuls, une classe (melon, pastèque 'longone'). Au contraire, pour le patisson, le stade mature se situe dans la classe A. Le stade jeune quant à lui, est en classe C. Dans ces cas, les profils d'émission des fruits à un stade donné sont plus proches de ceux d'un autre fruit que de ceux d'un même fruit à un stade différent.

Globalement, avec cette méthode d'extraction les fruits sont fortement regroupés dans la classe A qui rassemble 67% des fruits-stades testés, puis dans la classe E (11% des fruits-stades) et dans la classe B (6% des fruits-stades). Les classes restantes rassemblent chacune un ou deux fruits-stades.

Classification hiérarchique des fruits-stades entiers extraits in situ

La classification a été réalisée à partir des coordonnées des fruits sur 19 axes factoriels de l'ACM. Les fruits-stades entiers *in situ* peuvent être regroupés en 12 classes selon la composition qualitative de leur émission en composés volatils (**Tableau III-3, Figure III-5**).

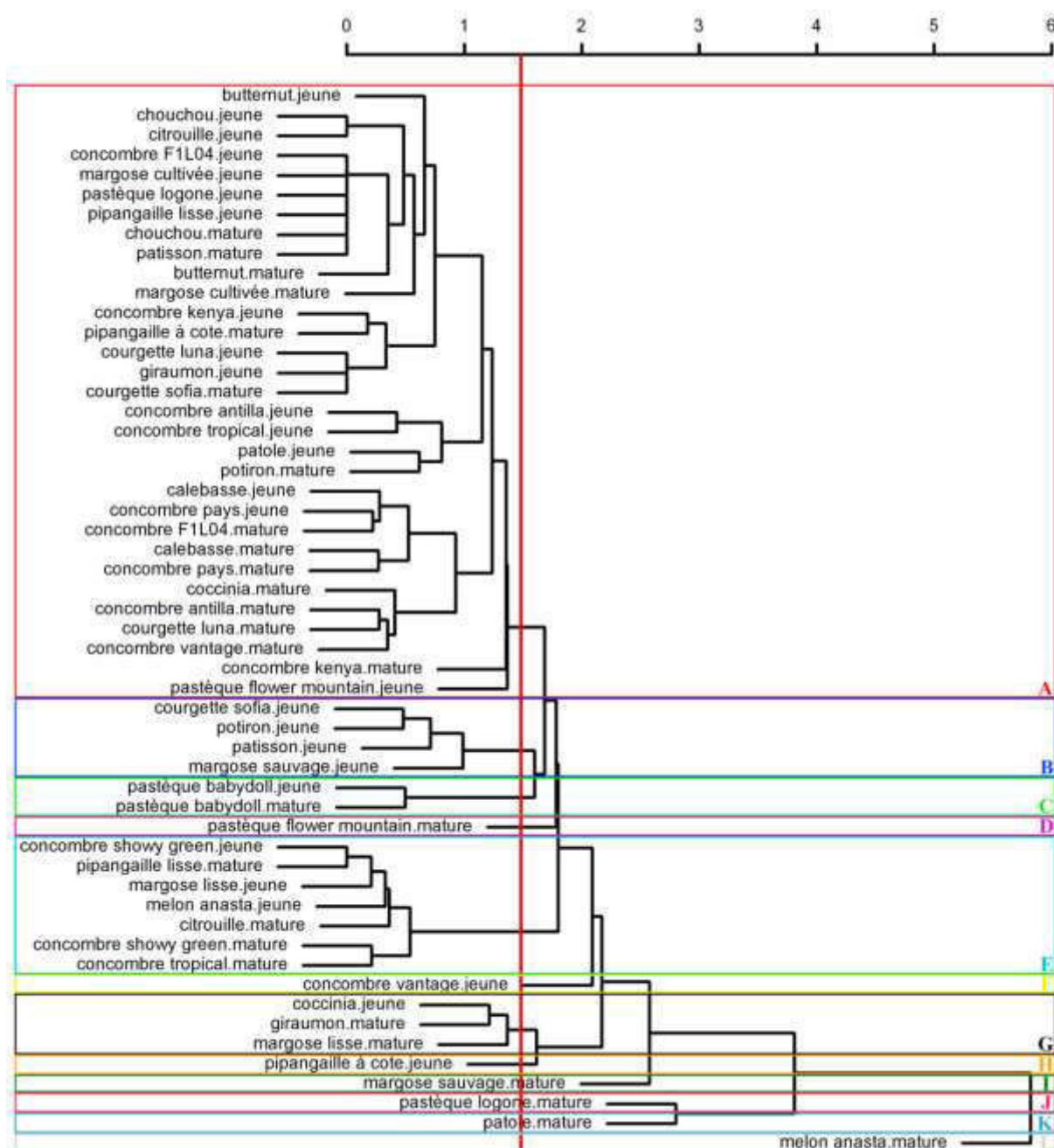


Figure III-5. Dendrogramme des fruits selon leur profil d'émission en composés volatils pour l'extraction des fruits entiers 4 h *in situ*.

Classification ascendante hiérarchique (distance euclidienne, méthode d'agrégation de Ward) - Distances calculées à partir des coordonnées des fruits sur les axes factoriels de l'analyse en composante multiple.

La caractérisation de chaque classe est déterminée par la présence ou l'absence de composés volatils à l'origine des regroupements observés (**Tableau III-6**).

Tableau III- 6. Caractérisation des classes de la classification ascendante hiérarchique des fruits entiers jeunes et matures pour l'extraction de 4 h, *in situ*.

Classes 4 h <i>in situ</i>	Caractéristiques des classes	
	Présence de composés	Absence de composés
Classe A		octanal β-pinène limonène dodécanal α-pinène
Classe B	mésitylène octanal	oct-1-én-3-ol
Classe C	octanol	(2E)-déc-2-énal
Classe D	aromadendrène	
Classe E	β-pinène limonène α-pinène	dodécanal octanal
Classe F	(Z)-γ-bisabolène	(E)-β-farnesène
Classe G	toluène heptanal	dodécanal
Classe H	(6Z)-non-6-én-1-ol	
Classe I	tétradécanal	tridécanal
Classe J	α-gurjunène spathulénol épi-α-murolol	germacrène-D bicyclogermacrène
Classe K	α-terpinène	α-cubebène
Classe L	toluène benzaldéhyde acétate de butyle hexanoate d'éthyle acétate de méthyle butanoate d'éthyle propanoate d'éthyle butanoate de méthyle hexanoate de méthyle hexanoate d'isopentyle	butanoate d'isopentyle acétate d'hex-(3E)-ényle acétate de 2-méthylbutyle 2-méthylbutanoate d'éthyle 2-méthylpropanoate d'éthyle 2-méthylbutanoate de méthyle butanoate de 2-méthylpropyle (2-méthylthio) acétate d'éthyle acétate de 3-méthylbut-2-ényle

Parmi les 27 fruits, 11 possèdent des profils d'émission suffisamment proches entre les stades jeune et mature pour que leurs deux stades soient regroupés dans une même classe. Les 16 autres fruits restants possèdent des profils d'émission plus distants entre les stades jeune et mature et sont ainsi placés, selon le stade, dans des classes différentes. Cependant pour ces 16

derniers fruits, leurs stades jeune et mature se retrouvent dans des classes proches (**A-B** : courgette ‘sofia’, patisson et potiron ; **E-G** : margose lisse, **A-D** : pastèque ‘flower mountain’) et d’autres dans des classes distantes (**A-E** : citrouille, concombre ‘tropical’ et pipangaille lisse ; **A-G** : coccinia, giraumon ; **A-F** : concombre ‘vantage’ ; **B-I** : margose sauvage ; **E-L** : melon ; **A-J** : pastèque ‘longone’ ; **A-K** : patole ; **A-H** : pipangaille à côte).

En ce qui concerne les fruits dont les stades jeunes et matures sont regroupés dans les mêmes classes, 9 sont dans la classe A (butternut, calebasse, chouchou, concombre ‘antilla’, concombre ‘F1-L04’, concombre ‘kenya’, concombre ‘pays’, courgette ‘luna’ et margose cultivée), 1 dans la classe C (pastèque ‘baby doll’), 1 dans la classe E (concombre ‘showy green’).

Parmi les fruits dont les stades sont placés dans des classes différentes, une majorité d’entre eux, ont leur stade jeune placés dans la classe A et ce sont leurs stades matures qui diffèrent suffisamment pour être placés dans d’autres classes (citrouille, concombre ‘tropical’ et pipangaille lisse) ou ils peuvent même constituer à eux seuls une classe (pastèque ‘flower mountain’, pastèque ‘longone’ et patole). Au contraire, pour le coccinia, le concombre ‘vantage’, la courgette ‘sofia’, le patisson, la pipangaille à côte et le potiron, le stade mature se situe dans la classe A. Le stade jeune quant à lui est retrouvé dans d’autres classes. Dans ces cas, les profils d’émission des fruits à un stade donné sont plus proches de ceux d’un autre fruit que de ceux d’un même fruit à un stade différent.

Globalement, avec cette méthode d’extraction les fruits sont fortement regroupés dans la classe A qui rassemble 57% des fruits-stades testés, puis dans la classe E (13% des fruits-stades), dans la classe B (7% des fruits-stades) et dans la classe G (6% des fruits-stades). Les classes restantes rassemblent chacune un ou deux fruits-stades.

Pour les trois méthodes d’extraction, les classifications obtenues sont proches car elles sont basées sur des partitions incluant un groupe majoritaire d’une trentaine de fruits. La composition de ce groupe majoritaire est sensiblement la même pour les fruits découpés (aux deux températures) mais quelque peu différente pour le fruit entier.

Pour les fruits découpés, la partition est plus importante à 37°C, c’est-à-dire qu’un plus grand nombre de composés permettent de discriminer les fruits entre eux. Dans ces deux classifications construites à partir des fruits découpés, des tendances restent communes quant à l’isolement dans des classes distinctes des stades matures du melon et de la pastèque ‘longone’ et au regroupement de plusieurs concombres dans une même classe. Le melon est

particulièrement caractérisé par la présence d'esters et la pastèque 'longone' par des terpènes et des composés aromatiques.

Pour le fruit entier, ces tendances quant à l'isolement des stades matures du melon et de la pastèque 'longone' sont également arborées et avec d'autres fruits-stades seuls dans des classes. Le regroupement des concombres dans une même classe est moins évident dans cette méthode.

I.3 Discussion

L'analyse chimique des effluves de 27 fruits de Cucurbitaceae révèle une grande diversité des profils d'émission en composés volatils dans cette famille de plantes. Au cours de ce travail, il a été observé une variabilité des profils d'émission à plusieurs échelles : interspécifique et intraspécifique (entre les variétés et entre les stades de maturité).

- ***A l'échelle intraspécifique***

Il a été montré que pour un fruit donné, le profil d'émission en composés volatils peut subir des modifications au cours du processus de maturation, allant de la disparition et/ou de l'apparition de quelques composés, à un changement complet de la composition des effluves du fruit. Cette régulation de l'émission des composés volatils tout au long de la croissance et de la vie des organes et des fruits est connue (Bouwmeester *et al.*, 1998 ; Dudareva & Pichersky, 2000 ; Gershenzon *et al.*, 2000). Les classifications ascendantes hiérarchiques réalisées pour les différentes méthodes d'extraction illustrent notamment l'importance des changements en composés volatils au cours de la maturation. Des fruits dont les stades jeune et mature se retrouvent dans la même classe possèdent ainsi des profils d'émission en composés volatils plus proches entre eux que de ceux d'autres fruits. C'est l'exemple du butternut, de la calebasse, du chouchou et du concombre 'showy green'. Ceci signifie, non pas que le profil d'émission de ces fruits reste inchangé au cours de la maturation mais que ces changements ne sont pas suffisants pour que les stades soient placés dans des classes séparées. Par contre, des fruits comme le melon et les trois variétés de pastèque possédant après maturation un profil totalement atypique, se retrouvent dans des classes extrêmement distantes de leur homologue jeune, cela signifie que la composition de leur profil d'émission les rapproche plus d'espèces différentes que de

leur propre stade jeune. En effet, la caractérisation de l'émission des fruits de différentes variétés de melon a été particulièrement étudiée et a mis en exergue l'apparition de nombreux esters au cours de la maturation des différentes variétés étudiées (Beaulieu & Grimm, 2001 ; Beaulieu, 2006).

Toujours à l'échelle intraspécifique, pour six espèces de Cucurbitaceae, plusieurs variétés ont pu être caractérisées : *Cucurbita moschata* (deux variétés), *Cucumis sativus* (six variétés), *Cucurbita pepo* (trois variétés), *Cucurbita maxima* (deux variétés), *Citrullus lanatus* (trois variétés) et *Momordica charantia* (deux variétés).

Les conclusions des classifications ne sont pas toujours exactement les mêmes selon la méthode d'extraction utilisée. Cependant, on observe globalement pour chacune des espèces de la variabilité intraspécifique. Pour chacune d'entre elles en effet, toutes les variétés ne sont pas regroupées dans une même classe. En revanche, il existe tout de même des éléments favorisant leur rapprochement, car pour chacune de ces espèces, il existe au moins des regroupements entre certaines variétés (pour les deux ou pour un seul des deux stades). Par exemple :

- Pour les fruits découpés de *Cucumis sativus*, si l'on ne s'attache qu'à l'extraction à 37°C, 5 variétés (deux stades) se retrouvent dans une même classe (sauf le concombre 'tropical' (2 stades) qui constitue une classe à part mais proche de celle des autres variétés de concombre et le concombre avantage jeune qui est classé dans un autre groupe).
- Pour les fruits découpés des variétés de *Cucumis lanatus*, les trois variétés sont regroupées dans une même classe au stade jeune et au stade mature. Ce sont les variétés 'flower mountain' et 'baby doll' qui sont les plus proches.

- ***A l'échelle interspécifique***

Les classifications permettent de faire des partitions assez semblables entre les méthodes d'extraction avec un groupe majoritaire comprenant une trentaine de fruits jeunes et matures. Ce groupe est principalement composé des stades jeunes de nombreux fruits, avec quelques fruits au stade mature. Les fruits appartenant à ce groupe se distinguent des autres fruits par l'absence de certains composés comme le nonanol, le nonanal, le (*E*)-caryophyllène, le tétradécanal, etc.

Les autres classes formées sont, quant à elles, représentatives d'espèces ou de stade de maturité atypiques par rapport à ce groupe majoritaire. Tout d'abord, se détache le groupe qui renferme une grande partie des fruits-stades de concombre exceptés les concombres 'tropical', 'showy green' et 'vantage' jeunes qui sont, quelle que soit la méthode d'extraction, différents des autres concombres. Cette classe homogène de concombres est caractérisée notamment par la présence de certains composés comme le (2*E*,6*Z*)-nona-2,6-diéнал, le (2*E*)-non-2-éнал, le (2*E*,6*Z*)-nona-2,6-diéanol et l' α -humulène.

Par ailleurs, des espèces comme la margose lisse (*Cyclanthera pedata*) et le concombre 'kenya' (*Cucumis metuliferus*) se distinguent des autres espèces étudiées pour les deux méthodes d'extraction sur fruits découpés. La margose lisse est notamment caractérisée par la présence de butanoate d'hexyle, de butanoate de (3*Z*)-hex-3-ényle, d'isovalérate de (3*Z*)-hex-3-ényle ; le concombre 'kenya' est caractérisé par la présence du mésitylène, du (*E*)- α -bergamotène et du sabinène.

Enfin, certaines espèces sous leur forme mature se différencient fortement de l'ensemble des fruits testés. C'est le cas du melon (*Cucumis melo*) et de la pastèque 'longone' (*Cucumis lanatus*), qui émettent des composés volatils très différents du reste des Cucurbitaceae et particulièrement caractéristiques (comme un grand nombre d'esters pour le melon et des composés sesquiterpéniques pour la pastèque 'longone' (épi- α -muurolol et spathuléanol). Les deux autres variétés de pastèques au stade mature, possèdent des profils d'émission proches entre elles mais différents de ceux des autres Cucurbitaceae testés. La pastèque 'baby doll' et la pastèque 'flower mountain' se caractérisent en particulier par l'émission du (3*E*,6*Z*)-nona-3,6-diéanol, du (3*Z*)-non-3-éanol, du β -élémane, et de l' α -gurjunène.

Cette étude comparative des composés volatils de fruits, menée au sein des Cucurbitaceae, a été particulièrement délicate. La difficulté majeure réside dans la richesse importante en composés volatils : plus de 280 composés différents ont été identifiés avec des occurrences tellement variables qu'il a été extrêmement difficile de réaliser des regroupements entre les fruits. Sur cette base de 280 composés, quasiment chaque fruit à chaque stade pourrait constituer un groupe différent d'un point de vue de son émission chimique. Le but étant de hiérarchiser ces fruits, une sélection des composés était la solution la plus appropriée : de

telles sélections sont courantes dans les études de chimiométrie[□] (Aparicio & Aparicio-Ruiz, 2002 ; Varmuza & Filzmoser, 2009). Dans ce contexte, le choix s'est porté sur les familles chimiques connues pour leur rôle dans les relations insecte-plante (Das *et al.*, 2013). Les classifications réalisées ici ont particulièrement un sens pour des études d'écologie chimique.

Parmi les travaux menés sur les Cucurbitaceae, les espèces les plus étudiées sont le melon (Schieberle *et al.*, 1990 ; Beaulieu & Grimm, 2001 ; Shalit *et al.*, 2001 ; Hayata *et al.*, 2003 ; Aubert & Pitrat, 2006 ; Beaulieu, 2006 ; Beaulieu & Lea, 2006 ; Obando-Ulloa *et al.*, 2008 ; Obando-Ulloa *et al.*, 2010) et le concombre (Kemp *et al.*, 1974 ; Schieberle *et al.*, 1990 ; Buescher & Buescher, 2001 ; Palma-Harris *et al.*, 2001). Seuls quelques travaux ont été répertoriés sur la citrouille, le concombre, la margose, la pastèque et la courgette (Hurtrel, 2000) et sur *Momordica charantia* (Binder *et al.*, 1989).

Le melon et le concombre, essentiellement étudiés dans le but de déterminer les composés responsables des propriétés aromatiques de leurs fruits à des fins agroalimentaires, sont caractérisés par des profils d'émission très riches, et dont la typicité de l'odeur est due à des composés à 9 carbones (aldéhydes et alcools) dérivés de réactions enzymatiques de transformation des acides gras en C18, saturés, mono- et bi-saturés, lorsque les tissus du fruit sont rompus (Fleming *et al.*, 1968). Ainsi, l'odeur dite de « melon » est associée principalement à la présence du 2-méthylbutanoate de méthyle, du (3Z)-hex-3-énal, du (2E)-hex-2-énal et du 2-méthylpropanoate d'éthyle (Schieberle *et al.*, 1990). Les composés responsables des odeurs dites de « concombre » sont le (2E, 6Z)-2,6-nonadiénal, suivi du (Z)-2-nonénal et du (E)-2-nonénal.

Ces composés, cités comme caractéristiques des fruits de concombre et de melon, ont été retrouvés dans plusieurs des profils d'émission des Cucurbitaceae étudiées. D'autres composés en C9, tels que le nonanol et le nonanal, ont également été identifiés et sont largement présents dans les espaces de tête des fruits sélectionnés. Ces résultats confortent donc l'importance des composés en C9 dans la caractérisation aromatique de ce taxon.

Par ailleurs, des composés en C6 ont été retrouvés dans les profils d'émission des fruits découpés tels que le l'hexanal, l'hexanol, le (3Z)-hex-3-énal, l'acétate de (3Z)-hex-3-ényle. Ces composés sont connus comme étant à l'origine de l'odeur verte (GLV, Green Leaf Volatiles) des végétaux. Ce sont des aldéhydes, des alcools et des esters en C6 qui se retrouvent largement dans le règne végétal et dont l'émission est accrue lors de stimuli abiotiques (Hatanaka, 1993 ; Loreto *et al.*, 2006) ou d'attaques par des herbivores (Paré &

Tumlinson, 1999) ou par des pathogènes (Croft *et al.*, 1993). Les GLVs sont décrits comme des messagers importants dans les interactions tritrophiques et dans la communication plante-plante, intervenant comme (i) un mécanisme de défense indirecte signalant la présence de phytophages aux ennemis naturels, ou (ii) un signal d'information pour les plantes voisines, ou même (iii) un inhibiteur de croissance de phytopathogènes (Scala *et al.*, 2013).

La comparaison des profils d'émission obtenus dans cette étude avec ceux d'études antérieures n'est pas toujours aisée compte tenu des méthodologies différentes utilisées. Même si dans un grand nombre d'études antérieures la technique de la SPME est la plus utilisée, elle l'est souvent sur des broyats de fruits, pouvant détruire ou altérer des composés volatils notamment par oxydation (Gardner, 1989). C'est pourquoi l'extraction sur fruits découpés des 27 Cucurbitaceae a permis de mettre en évidence non seulement des composés caractéristiques déjà connus, mais aussi des composés moins dégradés à chaînes carbonées plus longues qui n'ont été pas détectés suite aux broyages. De plus, l'originalité de la présente étude repose sur l'extraction des composés volatils émis par les fruits entiers en conditions *in situ*, procédé qui nous renseigne sur l'émission naturelle de ces fruits lorsqu'ils restent reliés à leur plant-mère. La connaissance de ces profils d'émission est particulièrement intéressante d'un point de vue écologique car les composés volatils identifiés sont des composés impliqués directement dans les relations tritrophiques et allélopathiques.

L'émission en composés volatils des fruits est influencée par des facteurs environnementaux comme la lumière, la température, l'humidité et les conditions culturales (nutriments) (Staudt & Bertin, 1998 ; Gershenzon *et al.*, 2000), modulant la quantité et la composition des effluves émis. L'étude de fruits cultivés selon un même itinéraire technique est une mesure prise dans la présente étude pour pallier aux variations qui auraient pu intervenir suite à un approvisionnement chez différents producteurs. L'extraction des fruits découpés est soumise à l'influence de moins de facteurs dans les conditions de laboratoire que celle en conditions *in situ*. Ainsi pour ces extractions *in situ*, des précautions ont été prises en collectant les composés le matin avec des conditions climatiques favorables. Lors des extractions *in situ*, des variations des profils d'émission en composés volatils peuvent être envisagées, compte tenu des facteurs environnementaux fluctuant au cours des périodes d'exposition de la fibre. Cette modulation des émissions est également une perspective de recherche intéressante. En effet, il serait particulièrement intéressant de caractériser l'émission en composés volatils des fruits au cours de la journée afin de vérifier l'existence ou non d'un rythme circadien des émissions. L'existence de tels rythmes a déjà été montrée pour les fleurs de diverses espèces

végétales, coïncidant généralement avec les activités des pollinisateurs (Jakobsen & Olsen, 1994 ; Helsper *et al.*, 1998).

II. Cas particulier des effluves de cinq variétés de concombre

Le concombre (*Cucumis sativus*) est une plante cultivée dans de nombreuses régions du monde pour son fruit. Dans le cadre de cette thèse, il est apparu pertinent de s'intéresser aux composés volatils de ce fruit, car il présente une diversité intraspécifique considérable, avec plus d'une centaine de variétés connues. Ces variétés produisent des fruits de différentes tailles, formes et couleurs, allant de fruits courts et épais (10 - 12 cm de long) à des fruits long et fins (jusqu'à 50 cm de long). Les composés responsables de l'arôme de concombre frais sont formés en quelques secondes, par des réactions enzymatiques se produisant lors de la rupture des tissus du fruit. Il s'agit particulièrement de deux aldéhydes, le (2*E*,6*Z*)-nona-2,6-diéanal et le (2*E*)-non-2-éanal. La plupart des études sur cette espèce se sont attachées à la mise en évidence de la présence de ces aldéhydes sans prendre en considération la diversité variétale existante. L'objectif de ce travail a donc été de caractériser l'émission totale de cinq variétés de concombre au stade mature ('Showy Green', 'Tropical', 'F1 L-04', 'Pointe Blanche', 'Antilla'), par microextraction sur phase solide (SPME) et chromatographie gazeuse (CG).

Cette partie fait l'objet d'un article accepté, qui paraîtra en 2014 dans la revue *Chemistry of Natural Compounds*.

Atiama-Nurbel, T., Quilici, S., Boyer, E., Deguine, J. P., Glenac, S. & Bialecki, A. (2014 (in press)) Volatile constituents of cucumber: differences between five tropical cultivars. *Chemistry of Natural Compounds*.

Volatile constituents of cucumber: differences between five tropical cultivars

T. Atiama-Nurbel¹, S. Quilici¹, E. Boyer², J.-P. Deguine¹, S. Glenac¹ and A. Bialecki*²

- 1) UMR Peuplements Végétaux et Bioagresseurs en Milieu Tropical (CIRAD- Université de La Réunion), 7 chemin de l'Irat, Ligne Paradis, 97410 Saint-Pierre, La Réunion, France, fax : +332 62 499 293
- 2) Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et des Sciences des Aliments, Université de La Réunion, 15 Avenue René Cassin. CS 92 003, 97 744 Saint-Denis cedex 9, La Réunion, France, fax : +332 62 938 183, e-mail : anne.bialecki@univ-reunion.fr

The characterization of the whole volatile emission of cucumbers from five different tropical varieties using HS-SPME collection and gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) detection were achieved. The five tropical cucumber cultivars studied were “Showy Green”, “Tropical”, “F1 L-04”, “Pointe Blanche” and “Antilla”. The headspace compositions of the five cultivars were not similar with a total of forty eight different compounds identified. The five cultivars were characterized by their high content of aldehydes (47.2, 40.0, 16.1, 31.4, 41.2% respectively for “Showy Green”, “Tropical”, “F1 L-04”, “Pointe Blanche”, and “Antilla”), alcohols (8.8, 7.7, 28.9, 23.6, 33.8%) and sesquiterpene hydrocarbons (14.3, 32.6, 7.4, 36.3, 6.6%).

KEYWORDS: *Cucumis sativus*, volatile compounds, HS-SPME-GC-MS

Cucumber (*Cucumis sativus* L.), a creeping plant of the Cucurbitaceae family, is widely cultivated for its fruit. It is a tender annual with a rough, succulent, trailing stem and hairy leaves with three to five pointed lobes; the stem bears branched tendrils by which the plant can be trained to supports. Depending on the cultivar, the fruits are available in many different sizes, shapes and colours. They range from thick, stubby little fruits (10 - 12 cm long) to Dutch greenhouse varieties (of up to 50 cm long). There are literally hundreds of different cultivars of *C. sativus*, virtually all of which can be divided into two basic types: slicing (fresh consumption) and pickling (fermented or fresh consumption). Flavour impact compounds responsible for fresh cucumber flavour are formed within seconds by enzymatic reactions that begin when tissue is disrupted [1, 2]. Isolation and identification of volatile components from blended cucumber tissue has shown that (E, Z) nona-2, 6-dienal and (E)-non-2-enal are the major components present. Most of the studies on flavour of cucumber have been done on blended cucumbers and are limited to the identification of aldehydes [1, 3-6]. In this paper, we propose to characterize the whole volatile emission of pieces of cucumbers of five different tropical cultivars using SPME collection and gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) detection. Four slicing cultivars (“Showy Green”, “Tropical”, “F1 L-04”, “Pointe Blanche”) and one pickling cultivar (“Antilla”) of cucumber were studied (Table 1) according to their good adaptability to tropical conditions. Several studies had shown that solid-phase micro extraction (SPME) technique for collecting volatiles of blended fruit [4, 6, 7, 8] and slices of fruit [9] provided information comparable with that obtained with other extraction techniques but was more convenient and faster to perform [10, 11].

TABLE 1: Morphological characteristics of the 5 tropical cucumber varieties (*Cucumis sativus*)

Commercial name of cultivar	Supplier	Skin characteristics	Length* diameter (in cm)
Showy Green	Known-you seed Co., LTD (Taiwan)	Dark green with few white spines	33 *7
Tropical	Technisem (France)	Dark green with smooth skin	25*6
F1 L-04	Green. Co., LTD (Vietnam)	Medium green with white powder	18*4
Pointe Blanche	CIRAD Réunion (France)	Medium green with numerous white spines	17*6
Antilla	Technisem (France)	Medium green, light green ended	15*6

Forty eight compounds were identified which accounted for 88.4%, 93.8%, 97.8%, 98.3% and 93.6% of the total composition respectively for “Showy Green”, “Tropical”, “F1 L-04”, “Pointe Blanche”, and “Antilla” cultivars. The identified components were classified in Table 2 into eleven groups according to their elution order on the SPB-5 column within each group: alkanes, alkenes, alcohols, aldehydes, esters, ethers, monoterpenes either hydrocarbons or oxygenated derivatives, sesquiterpenes either hydrocarbons or oxygenated derivatives and miscellaneous components. The principal compounds (>10%) appear in bold face.

The five cultivars were characterized by their high content of aldehydes (47.2, 40.0, 16.1, 31.4, 41.2% respectively for “Showy Green”, “Tropical”, “F1 L-04”, “Pointe Blanche”, and “Antilla”), alcohols (8.8, 7.7, 28.9, 23.6, 33.8%) and sesquiterpene hydrocarbons (14.3, 32.6, 7.4, 36.3, 6.6%). However the headspace compositions of the five cultivars were not similar.

In the headspace of the “Showy Green” cultivar, fourteen compounds were identified among which the major components were the two aldehydes, pentadecanal (33.1%) and tetradecanal (10.0%).

Among the volatiles present in the vapour phase surrounding the fruits of “Tropical” cultivar, twenty nine were identified. The most abundant were pentadecanal (19.8%) followed by the two sesquiterpene hydrocarbons caryophyllene (12.6%) and α -humulene (12.2%).

Twenty five volatile compounds were identified in SPME extract from the “Pointe Blanche” cultivar. This cultivar can be distinguished from the other four cultivars by its very high level in hexyl acetate (40.6%), absent or detected in insignificant amounts in “Showy Green”, “Tropical”, “F1 L-04” and “Antilla” samples. Other important constituents for the “Pointe Blanche” cultivar were the aliphatic alcohol *n*-nonanol (24.7%) and the aldehyde *n*-nonanal (11.4%).

n-Nonanol and *n*-nonanal were also among the main components detected by HS-SPME for the “F1-L04” cultivar. The percentages of these two compounds were indeed 20.7% and 24.7% respectively. Ten other constituents were identified for “F1-L04” headspace. The sesquiterpene hydrocarbons caryophyllene (26.2%) and α -humulene (10.1%) were the two other representative compounds.

For “Antilla”, the unique pickling cultivar in this study, seventeen volatile compounds were identified. Its headspace fraction was rich in *n*-nonanol (30.7%), *n*-pentadecanal (17.3%) and *n*-nonanal (11.4%).

Volatile C₆ to C₉ aldehydes and alcohols are important contributors to the characteristic of flavours of fruits, vegetables and green leaves [12]. These shorter-chain volatiles are derived by oxidative cleavage and decarboxylation of linoleic and linolenic fatty acids [13] and are usually called “Green Leaf Volatiles” [14]. *n*-Hexanal detected in the five cultivars profiles, has a strong, penetrating, fatty-green, grassy, unripe fruit odour. *n*-Nonanal present in all cultivars except in “Showy Green” provides a very powerful and diffusive fatty-floral, waxy odour of moderate tenacity. *n*-Nonanol mainly present in “Pointe Blanche”, “F1 L-04” and “Antilla” is characterized by an oily-floral, rose-orange odour [15, 16].

(E,Z) Nona-2,6-dienal and (E)-non-2-enal which has been considered as characteristic constituents of cucumber flavour [3] were detected in these five cultivars in very low amount probably due to the technique used to prepare the plant material. Indeed, in this work, volatiles are collected from pieces of cucumber instead of blended preparation in the other papers [3]. In fact, (E, Z) nona-2,6-dienal and (E)-non-2-enal are generated enzymatically in high amount when the fruit is cut or mechanically ruptured in the presence of oxygen [1]. (E,

Z) Nona-2,6-dienal develops an extremely powerful and very diffusive green-vegetable odour, and only in dilution reminiscent (strikingly) of cucumber or violet leaf. At high concentration, (E)-non-2-enal has an extremely powerful and very diffusive, penetrating, fatty-orrisy odour; in dilution, its scent is waxy, reminiscent of cucumber and melon [15, 16].

Long chain aldehydes such as pentadecanal, have been detected in large amount in three cultivars (“Showy Green”, “Tropical” and “Antilla”). These kinds of compounds have been reported in other studies on cucumber [17, 18]. The biogenesis of these saturated C₁₅, C₁₄, C₁₃, and C₁₂ aldehydes in cucumber derived from palmitic acid [18].

Esters and terpenes are also important groups of compounds in cucumber odour. Esters are associated with “fruity” attributes of fruit flavour and typically increase to high levels late in the ripening process [19]. Straight chain esters are thought to be synthesized from fatty acids via the lipoxygenase pathway [20] while branched chain esters are produced from the metabolism of branched amino acids such as isoleucine [21]. Hexyl acetate recognized to have a sweet fruity berry-and-pear-like odour, with slightly floral and green notes, is highly present in the “Pointe Blanche” cultivar.

Volatile terpenes are derived directly from isoprenoid pyrophosphates or from the cleavage of carotenoids by carotenoid cleavage dioxygenases [22]. These compounds play an important role in plant-plant, plant-insect and plant-pathogen interactions [23, 24]. β -caryophyllene is an important volatile sesquiterpene of plants that may serve as allelochemical to influence the neighbouring plant growth or as an indirect defence to attract natural herbivore enemies [25]. This compound has a woody-spicy, dry and tenacious odour [15, 16].

EXPERIMENTAL

Source of plant materials. The five cucumbers (*Cucumis sativus*) cultivars were grown in a greenhouse (CIRAD, Réunion) using seeds purchased from various suppliers (Table 1). Cucumbers fruits were picked at the same stage of maturity (fully ripe) for volatile compounds analysis.

Collection of volatile compounds. The SPME holder for manual sampling and the fused silica fibres coated with divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS, length

2 cm, film thickness 50/30 μm) were both obtained from Supelco Co (Bellefonte, PA, USA). The fibres were conditioned prior use according to supplier's prescriptions, 1 h at 270 °C.

Fresh and unpeeled fruit were cut into small cubes and placed in a 250 mL vial hermetically closed. The vial was maintained in a water bath during equilibration and extraction times and was partially submerged so that the pieces of fruits were in the water. After the equilibrating time, the SPME fibre was then manually inserted into the sample vial headspace. In order to determine the optimal conditions for extraction, the following parameters were evaluated: water bath temperature, sampling time, equilibration time and sample volume. The selected parameters for optimal extractions were: water bath temperature: 37°C; sampling time: 3 hours; equilibration time: 15 min, sample volume: 100 g. After extraction, the desorption of the analytes from the fibre coating was immediately made in the injection port of GC at 250 °C during 10 min. Reproducibility of SPME analysis of flavour compounds was evaluated by analysing three lots of each cucumber.

GC-MS analysis. This analysis was conducted on a Hewlett-Packard 6890 series-5972 GC-MS system equipped with a SPB-5 column (60 m x 0.32 mm i.d., film thickness 0.25 μm ; Supelco Co, Bellefonte, PA, USA). GC-MS instrument was operated at 70 eV in the EI mode with a scan range of m/z range 30-550. Helium was used as the carrier gas at a flow rate of 0.7 mL/min. The oven temperature was programmed from 60 °C to 230 °C at a rate of 4 °C/min, held for 40 min. The injector and the transfer line were both programmed to 250 °C. All analyses were done using splitless injection mode.

Component identification was confirmed by comparison of mass spectral fragmentation patterns with those stored in the MS data bank (Wiley 7, NIST 2002) and those reported in the literature [26]. Linear retention indices (LRIs) on the polar and non-polar columns, determined in relation to a homologous series of *n*-alkanes (C_8 - C_{26}) were additionally compared with published index data [27, 28] and also with those of authentic standards.

REFERENCES

1. H. P. Fleming, W. Y. Cobb, J. L. Etchells, T. A. Bell, *J. Food Sci.*, **33**, 6, 572 (1968).
2. D. R. Phillips, J. A. Matthew, J. Reynolds, G. R. Fenwick, *Phytochemistry*, **18**, 3, 401 (1979).
3. D. A. Forss, E. A. Dunstone, E. H. Ramshaw, W. Stark, *J. Food Sci.*, **27**, 1, 90 (1962).
4. C. Palma-Harris, R. F. McFeeters, H. P. Fleming, *J. Agric. Food Chem.*, **49**, 9, 4203 (2001).
5. R. H. Buescher, R. W. Buescher, *J. Food Sci.*, **66**, 2, 357 (2001).
6. T. R. Kemp, D. E. Knavel, L. P. Stoltz, *J. Agric. Food Chem.*, **22**, 4, 717 (1974).
7. J. Song, L. H. Fan, R. M. Beaudry, *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 9, 3721 (1998).
8. A. Krumbein, D. Ulrich, *Roy. Soc. Chem.*, **197**, 289 (1996).
9. E. P. Jarvenpaa, Z. Y. Zhang, R. Huopalahti, J. W. King, *Zeitschrift Fur Lebensmittel-Untersuchung Und-Forschung a-Food Research and Technology*, **207**, 1, 39 (1998).
10. A. Steffen, J. Pawliszyn, *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 8, 2187 (1996).
11. X. G. Yang, T. Peppard, *J. Agric. Food Chem.*, **42**, 9, 1925 (1994).
12. W. Schwab, R. Davidovich-Rikanati, E. Lewinsohn, *Plant J.*, **54**, 4, 712 (2008).
13. W. Grosch, *Lipids*, **6**, 5, 351 (1971).
14. J. H. Visser, *Annu. Rev. Entomol.*, **31**, 121 (1986).
15. Leffingwell & Associates, *Flavor-Base 2007*, Professional Edition Canton, Georgia, USA, 2007.
16. S. Arctander, *Perfume and flavor chemicals (Aroma chemicals)*, Allured Publishing Corporation, Illinois, USA, 1994.
17. T. R. Kemp, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **52**, 300 (1975).
18. T. Galliard, J. A. Matthew, *Biochem. Biophys. Acta*, **424**, 26 (1976).
19. M. Bengtsson, A. C. Backman, I. Liblikas, M. I. Ramirez, A. K. Borg-Karlson, L. Ansebo, P. Anderson, J. Lofqvist, P. Witzgall, *J. Agric. Food Chem.*, **49**, 8, 3736 (2001).
20. D. D. Rowan, J. M. Allen, S. Fielder, B. M. Hunt, *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 2553 (1999).
21. D. D. Rowan, H. P. Lane, J. M. Allen, S. Fielder, B. M. Hunt, *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 3276 (1996).
22. A. J. Simkin, S. H. Schwartz, M. Auldrigde, M. G. Taylor, H. J. Klee, *Plant J.*, **40**, 882 (2004).
23. N. Dudareva, E. Pichersky, J. Gershenzon, *Plant Physiol.*, **135**, 1893 (2004).
24. A. X. Cheng, Y. G. Lou, Y. B. Mao, S. Lu, L. J. Wang, X. Y. Chen, *J. Int. Plant Biol.*, **49**, 179 (2007).
25. R. Wang, S. Peng, R. Zeng, L. W. Ding, Z. Xu, *Allelopathy J.*, **24**, 1, 35 (2009).
26. R. P. Adams, *Identification of Essential Oils by Gas Chromatography / Quadrupole Mass Spectroscopy*, Allured, Carol Stream, Illinois, 2004, 456 pp.
27. N. Kondjoyan, J. L. Berdagué, *A compilation of Relative Retention Indices for the Analysis of Aromatic Compounds*, 1st Edn, Laboratoire Flaveur, France, 1996, 234 pp.
28. <http://webbook.nist.gov/chemistry>.

TABLE 2. Volatile compounds identified in cucumber of five different varieties by GC-MS

Volatile compounds		LRI ^a	HS-SPME, % ^b				
			Cucumber cultivar				
			Showy Green	Tropical	Pointe Blanche	F1 L-04	Antilla
Alkanes							
<i>n</i> -hexane		607	1.5	-	-	-	-
<i>n</i> -tetradecane		1395	3.3	1.1	-	-	1.1
<i>n</i> -pentadecane		1493	-	-	-	-	1.9
<i>n</i> -hexadecane		1592	-	-	-	-	1.7
<i>n</i> -heptadecane		1692	-	-	-	-	1.3
Total (%)			4.8	1.1	0	0	6.0
Alkenes							
dodec-1-ene		1188	0.9	0.4	-	-	-
tridecene		1287	2.7	-	-	-	-
tetradec-1-ene		1386	9.7	2.0	0.9	-	3.1
<i>(E)</i> -4,8-dimethyl-1, 3,7-nonatriene		1115	-	4.6	-	-	-
Total (%)			13.3	7.0	0.9	0	3.1
Alcohols							
ethanol		484	7.4	0.4	0.2	0.7	1.2
<i>n</i> -hexanol		865	-	-	4.0	2.2	-
4-methylpentanol		864	-	-	-	-	1.9
<i>n</i> -nonanol		1167	1.4	-	24.7	20.7	30.7
<i>(Z)</i> - non-6-en-1-ol		1167	-	6.8	-	-	-
<i>n</i> -decanol		1288	-	0.5	tr	-	-
Total (%)			8.8	7.7	28.9	23.6	33.8
Aldehydes							
<i>n</i> -hexanal		803	2.0	0.3	1.8	2.7	1.4
hex-2-enal (isomer (2 <i>E</i> /2 <i>Z</i>) non identified)	852	-	-	0.9	-	-	
<i>n</i> -nonanal		1102	-	2.0	11.4	24.7	15.5
<i>(E,Z)</i> -nona-2,6-dienal		1151	-	-	tr	1.1	-
<i>(E)</i> -non-2-enal		1157	-	-	1.1	2.9	1.0
<i>n</i> -tridecanal		1506	2.1	2.9	tr	-	1.6
<i>n</i> -tetradecanal		1606	10.0	5.3	-	-	4.4
<i>n</i> -pentadecanal		1708	33.1	19.8	0.9	-	17.3
hexadeca-7,10-dienal*		1884	-	5.7	-	-	-
hexadeca-7, 10,13-trienal*		1890	-	3.6	-	-	-
<i>n</i> -heptadecanal		1911	-	0.4	-	-	-
Total (%)			47.2	40.0	16.1	31.4	41.2
Esters							
ethyl acetate		614	-	0.3	-	-	-
3-hexenyl acetate (isomer (3 <i>E</i> /3 <i>Z</i>) non identified)		1004	-	-	1.2	-	-
hexyl acetate		1011	-	-	40.6	0.4	1.7
hexyl 2-methylbutanoate		1237	-	-	0.5	-	-
nonyl acetate		1304	-	-	0.3	-	-
Total (%)			0	0.3	42.6	0.4	1,7

Volatile compounds	LRI ^a	HS-SPME, % ^b				
		Cucumber varieties				
		Showy Green	Tropical	Pointe Blanche	F1 L-04	Antilla
Ethers						
ethyl ether	512	-	0.9	-	-	-
<i>Total (%)</i>		<i>0</i>	<i>0.9</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>0</i>
Monoterpene hydrocarbons						
sabinene	978	-	-	0.3	-	-
β-pinene	984	-	-	0.2	-	-
limonene	1032	-	-	-	-	-
(<i>E</i>)-β-ocimene	1047	-	1.9	-	1.9	-
<i>Total (%)</i>		<i>0</i>	<i>1.9</i>	<i>0.5</i>		<i>0</i>
Oxygenated monoterpenes						
linalool	1098	-	1.7	-	0	-
<i>Total (%)</i>		<i>0</i>	<i>1.7</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>0</i>
Sesquiterpene hydrocarbons						
caryophyllene	1430	6.6	12.6	2.9	26.2	1.6
<i>trans</i> -α-bergamotene	1440	-	2.0	0.6	-	-
(<i>E</i>)-β-farnesene	1454	-	1.3	0.1	-	-
α-humulene	1464	6.6	12.2	2.6	10.1	5.0
β-bisabolene	1510	-	0.7	-	-	-
(<i>Z</i>)-γ-bisabolene	1520	1.1	1.8	0.8	-	-
δ-cadinene	1529	-	0.5	-	-	-
(<i>E</i>)-γ-bisabolene	1535	-	0.8	0.4	-	-
<i>Total (%)</i>		<i>14.3</i>	<i>31.9</i>	<i>7.4</i>	<i>36.3</i>	<i>6.6</i>
Oxygenated sesquiterpenes						
caryophyllene oxide	1596	-	0.7	-	-	-
humulene epoxide II	1622	-	0.6	-	-	-
<i>Total (%)</i>		<i>0</i>	<i>1.3</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>0</i>
Miscellaneous compounds						
2-pentyl-furan	992	-	-	1.4	3.5	1.2
<i>Total (%)</i>		<i>0</i>	<i>0</i>	<i>1.4</i>	<i>3.5</i>	<i>1.2</i>
Total identified (%)			88.4	93.8	97.8	98.3
					98.3	93.6

^a LRI : Linear retention index calculated on non-polar, SPB-5 column.^b Relative percentage based on the peak area from the GC-MS analysis; *tr*, trace (<0,1%); -, absent.

Chapitre IV

Détermination des composés volatils impliqués dans l'attraction des femelles de *Bactrocera cucurbitae*



Chapitre IV- Détermination des composés volatils de Cucurbitaceae impliqués dans l'attraction des femelles de *Bactrocera cucurbitae* vers leurs fruits-hôtes

Au terme des chapitres II et III, des connaissances sur la composition chimique des effluves de 27 fruits de Cucurbitaceae au cours de leur maturation et sur leur potentiel attractif pour les femelles de *B. cucurbitae*, ont été acquises. Ces effluves de fruits se sont avérés être très complexes, tant par le nombre de composés qu'ils renferment, que par leur grande capacité à évoluer au cours de la maturation. Malgré cette complexité, on considère généralement que les insectes ne détectent pas l'ensemble des composés de ces effluves, mais seulement quelques-uns d'entre eux, qui par leur présence ou leur quantité, les renseignent sur la nature de la plante émettrice (Bruce *et al.*, 2005). La détection de ces composés biologiquement actifs au sein des mélanges nécessite l'utilisation de techniques sophistiquées, comme l'électroantennographie couplée à la chromatographie gazeuse. Cette méthode consiste à enregistrer les dépolarisations au niveau des récepteurs olfactifs des antennes d'un insecte, en réponse à chacun des composés d'une odeur complexe, initialement fragmentée par un chromatographe en phase gazeuse. Les composés entraînant une dépolarisation de l'antenne sont considérés comme biologiquement actifs et leur rôle attractif ou répulsif doit être testé par la suite dans des tests comportementaux. Cette méthode, qui est l'une des plus couramment utilisées, a permis notamment la découverte de mélanges attractifs pour les femelles de plusieurs espèces de Tephritidae basés sur des odeurs de fruits-hôtes (Agnello *et al.*, 1990 ; Robacker *et al.*, 1992 ; Prokopy *et al.*, 1998).

Dans ce chapitre IV, l'étude de la réponse électroantennographique des femelles de *B. cucurbitae* aux effluves de trois fruits-hôtes est abordée. Les trois fruits sélectionnés sont : le concombre (*Cucumis sativus*) au stade mature, le melon (*Cucumis melo*) au stade jeune et la pipangaille lisse (*Luffa cylindrica*) au stade intermédiaire de maturité (**Annexe 2, Tableau 2.1**). Ces trois fruits-hôtes présentent un fort niveau d'attraction des femelles de *B. cucurbitae* pour chacun des trois stades de maturité considérés. L'objectif général de ce chapitre est de déterminer, au sein de la famille de Cucurbitaceae, des composés biologiquement actifs voire potentiellement attractifs, par le biais de deux approches méthodologiques : l'une électroantennographique et l'autre statistique. Les composés identifiés constitueront une banque de substances dont l'attractivité serait à confirmer ultérieurement par des tests en olfactomètre.

D'une part, il est proposé d'identifier, au sein des effluves de ces trois fruits, des composés biologiquement actifs et, d'évaluer également leur occurrence dans les profils de réponse antennaire.

D'autre part, la relation entre l'attractivité des fruits pour les femelles (*cf.* Chapitre II) et leur composition chimique (*cf.* Chapitre III) est étudiée par une approche statistique. En effet, compte tenu de l'importance des données acquises sur la composition chimique et l'attractivité des effluves de 27 fruits-hôtes de Cucurbitaceae, il semble que la corrélation statistique de ces données pourrait grandement faciliter l'identification des composés volatils potentiellement impliqués dans l'attraction de *B. cucurbitae*. L'objectif de cette approche est donc d'identifier dans les effluves de cette large gamme de fruits-hôtes, les composés volatils associés à des niveaux de réponses importants.

I. Etude de la réponse électroantennographique des femelles aux effluves de trois fruits-hôtes

I.1 Matériels et méthodes

Cette partie des expérimentations a été réalisée en janvier 2013, en collaboration avec l'équipe « Infochemicals » de l'Institut de Chimie Organique et de Biochimie de Prague (République Tchèque).

I.1.1 Les mouches

Les mouches (*B. cucurbitae*) utilisées dans cette partie de l'étude sont issues de l'élevage du laboratoire d'Ecologie Terrestre et de lutte intégrée (CIRAD Réunion, Pôle de Protection des Plantes) (*cf.* Chapitre II). Des pupes issues de ces élevages ont été expédiées jusqu'au laboratoire de Prague par colis postal. A réception, les pupes ont été placées dans une chambre climatique ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, 60% d'humidité relative et photopériode de 12 h) en attendant l'émergence des adultes. Les adultes ont été ensuite maintenus en cohortes mixtes (♂ et ♀) dans des cages en plexiglas (30 cm x 20,5 cm x 16 cm) avec un approvisionnement continu en eau, sucre et hydrolysate enzymatique de levure de bière (ICN Biomedicals, Aurora, OH, USA), pendant 15 jours pour permettre la maturation des œufs. Les femelles sont restées « naïves » jusqu'au jour de l'expérimentation, c'est-à-dire qu'elles n'ont eu aucun contact

avec des plantes hôtes et donc aucune expérience de ponte sur des fruits hôtes depuis l'émergence.

I.1.2 Les fruits testés

Les trois espèces de fruits testés sont : *Cucumis sativus* (concombre de variété 'showy green') au stade mature, *Luffa cylindrica* (pipangaille lisse) au stade intermédiaire de maturité et *Cucumis melo* (melon) au stade jeune. Ces fruits sont issus de la serre de culture du Cirad Réunion (Station Ligne Paradis) (cf Chapitre II). Les fruits ont été expédiés par colis postal express et conservés à 4°C jusqu'au jour de l'expérimentation. Plusieurs envois de fruits ont été réalisés au cours du séjour afin de garantir au mieux la fraîcheur des fruits testés.

I.1.3 Extraction des composés volatils

I.1.3.1 Tests préliminaires

L'objectif de l'extraction des composés volatils dans cette partie est double et comprend :

- l'identification des composés volatils par CG x CG/TOFMS (chromatographie gazeuse bidimensionnelle couplée à la spectrométrie de masse à temps de vol),
- la détermination de la réponse électroantennographique des femelles à ces composés grâce à un CG-EAD (détecteur à ionisation de flamme FID).

Pour faciliter la procédure, des extraits par *headspace* dynamique ont été réalisés, afin de disposer de solutions pour chaque fruit, permettant à la fois des injections dans les deux types de chromatographes et plusieurs répétitions des tests électroantennographiques. La technique consiste à insuffler, à l'aide d'une pompe (débitmètre ELE 503-770, ELE International Ltd, Loveland, CO), un flux d'air purifié à 1 L/min dans un ballon en verre contenant 100 g de fruits découpés en dés. Les composés transportés par l'air passent au travers d'une cartouche contenant 150 mg d'absorbant Super Q (ChromPak) pendant 10 heures, et ceux qui sont ainsi piégés dans la cartouche sont extraits avec 500 µL d'hexane ou de dichlorométhane (Sigma-Aldrich). De nombreux tests préliminaires ont été conduits afin de préparer des extraits, en faisant varier les quantités de fruits, la durée d'extraction, la quantité d'absorbant, le type d'absorbant (Hayesep Q, Porapak Q), le type de solvant (hexane et/ou dichlorométhane), ou en ajoutant du papier filtre dans le ballon (afin d'absorber la grande quantité d'eau des fruits). Malgré tous ces tests couplés à des processus de concentration des extraits à 100 µL par un

léger flux d'azote, aucun extrait suffisamment concentré en composés volatils n'a été obtenu pour une détection et une bonne résolution des chromatogrammes sur le CG-FID couplé à l'électroantennographe.

La suite du travail a donc été poursuivie au moyen de fibres SPME. Cette technique, déjà utilisée dans le chapitre III, s'est avérée efficace pour collecter les composés volatils des fruits de Cucurbitaceae. Son inconvénient majeur pour des tests d'électroantennographie est qu'elle restreint le nombre de répétitions, car une extraction ne peut servir qu'à une seule expérience. Les extractions doivent donc être multiples du nombre de répétitions des tests d'électroantennographie et de celles des mesures en CG x CG/TOFMS. Enfin, des tests d'optimisation du temps d'extraction ont révélé qu'une exposition de la fibre SPME pendant 10 heures aux effluves de fruits découpés permettait d'obtenir une détection des composés satisfaisante sur le GC-FID.

I.1.3.2 Procédure générale adoptée

Les composés volatils émis par les trois fruits ont été extraits par microextraction sur phase solide (SPME) au moyen d'une fibre grise du type DVB-Carboxen-PDMS dont l'épaisseur de phase est de 50-80 μm (Supelco Co, Bellefonte, PA, USA).

100 g de fruits découpés en petits dés (environ 1 cm^2) ont été placés dans un ballon en verre muni d'un bouchon percé afin de laisser passer l'aiguille du dispositif SPME. L'espace de tête de l'erlenmeyer a été saturé pendant 15 minutes avant que la fibre soit poussée hors de l'aiguille pour un temps d'exposition de 10 heures. Une fois la période d'extraction terminée, la fibre a été conservée à température ambiante au maximum pendant une demi-heure avant sa désorption dans le CG-EAD ou le CG x CG/TOFMS. Les ballons de collecte ont été nettoyés après chaque extraction dans de l'eau chaude avec un détergent, rincés à l'éthanol puis à l'eau distillée, et séchés à l'étuve à 150°C.

Un chromatographe bidimensionnel en phase gazeuse équipé d'un détecteur à temps de vol (GCxGC/TOF-MS, LECO Pegasus 4D (LECO Corp., St. Joseph, Missouri) équipé d'un modulateur cryogénique quad-jet) a été utilisé pour l'identification des composés volatils de l'espace de tête des trois fruits. Une colonne DB-5 (J&W Scientific, Folsom, California; 30 m $\times$ 250 μm , d.i. $\times$ 0,25 μm film) et une colonne BPX-50 (SGE Inc., Austin, Texas; 2 m $\times$ 100 μm , d.i. $\times$ 0,1 μm film) ont été utilisées en chromatographie gazeuse respectivement mono- et bidimensionnelle. L'hélium a été utilisé comme gaz vecteur à un débit constant de 1 mL/min.

Les fibres SPME ont été injectées en mode *splitless* (sans division du flux). Les températures du GC × GC/TOF-MS ont été fixées à 220°C pour l'injecteur, 260°C pour la ligne de transfert et 250°C pour la source d'ions. Le programme de température dans le premier four du chromatographe est le suivant : 40°C pendant 2 minutes, puis un passage de 40 à 190°C avec pas de programmation de 5°C/min, suivi d'un passage de 190 à 320°C avec un pas de programmation de 20°C/min, et enfin un palier de 2 minutes à 320°C. Le programme du second four était identique à celui du premier mais avec un écart de + 10°C. La période de modulation, les durées de chauffage et de refroidissement ont été fixées à 5, 0,5 et 1,7 secondes respectivement.

Le spectromètre de masse a été exploité en mode « impact électronique » (EI, 70 eV). Les données ont été acquises sous une fréquence de 100 Hz (scans/s) pour une gamme de masse comprise entre 29 et 400 amu. La purge a duré 60 s avec un débit de gaz de 60 mL/min. Les données ont été visualisées consécutivement *via* des chromatogrammes en 2D et 3D avec le logiciel LECO ChromaTOF™. Une série de *n*-alcane (C_8 - C_{22} , Sigma-Aldrich) a été injectée pour déterminer les indices de rétention (IR_{CG} , indice de rétention pour un chromatographe en phase gazeuse avec détecteur à temps de vol). Les composés sont identifiés par comparaison de leur spectre de masse, de leur temps de rétention et de leur indice de rétention avec les données de la littérature (Adams, 2007) et celles des bases informatisées NIST, Wiley/NBS (McLafferty *et al.*, 1989).

I.1.4 Mesures électroantennographiques

Les mesures de réponse antennaire des femelles de *B. cucurbitae* ont été réalisées avec un chromatographe en phase gazeuse du modèle 5890 (Hewlett-Packard, Palo Alto, CA) équipé d'une colonne DB-5 (30 m x 0,25 μ m, d.i. x 0,25 μ m film) (J & W Scientific, Folson, CA). La colonne se termine par un séparateur à quatre bras Graphpack 3D/2 system (Gerstel, Mülheim an der Ruhr, Germany). Le premier bras est relié à la colonne originelle, le deuxième bras au détecteur à ionisation de flamme (FID) et le troisième bras est dirigé à travers une ligne de transfert à l'extérieur du chromatographe vers le détecteur d'électroantennographie (EAD). Un gaz d'appoint (azote) est introduit *via* le quatrième bras du séparateur pour prévenir les phénomènes de condensation. Le troisième bras se termine par une chambre de mélange, à partir de laquelle un courant d'air continu, *via* un tube en acier inoxydable EAD (Syntech, Kirchzarten, Germany), souffle sur la préparation des antennes.

Pour la préparation des antennes, la femelle a été placée quelques minutes dans un tube immergé dans un bain de glace afin de limiter son activité. Ensuite, sa tête entière a été séparée du thorax avec une pince coupante. La tête a été placée entre deux électrodes de verre (Ag/AgCl), remplies d'une solution saline, connectées à un support EAG (Syntech, Kirchzarten, Germany) (**Figure IV-1**). La tête a été placée au niveau de l'électrode indifférente et le bout d'une des antennes est connecté par simple contact avec l'électrode d'enregistrement. Une sonde Syntech universel AC/DC a été utilisée pour enregistrer et amplifier les réponses de l'antenne.

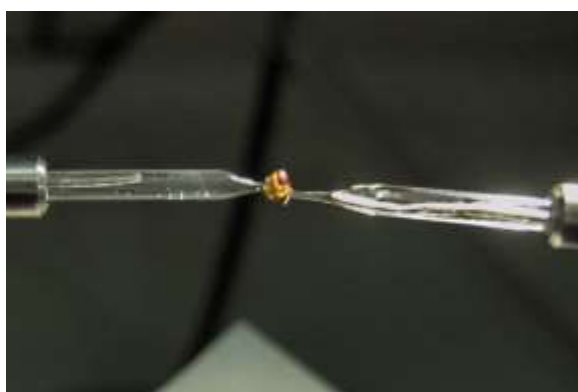


Figure IV-1. Tête d'une femelle de *Bactrocera cucurbitae* connectée aux électrodes du dispositif d'électroantennographie.

L'analyse commence par l'injection de la fibre SPME en mode *splitless* (sans division du flux) dans le CG-FID. La température du four a été initialisée à 50°C pendant 2 min, puis augmentée de 7°C par minute jusqu'à atteindre 270°C et est finalement maintenue à cette température pendant 10 min. Les températures de l'injecteur et du détecteur FID ont été fixées à 200 et 260°C, respectivement. L'effluve est décomposé lors de sa migration sur la colonne du chromatographe et passe à la fois au travers de la ligne de transfert EAD jusqu'à l'antenne et dans le détecteur FID. Les signaux FID et EAD sont transférés sur un ordinateur *via* l'interface IDAC (Syntech) et analysés avec le logiciel GC-EAD 2000 (Syntech, version 2.5).

Chaque préparation antennaire est échangée après l'injection d'une fibre SPME. Pour chaque fruit, plusieurs répétitions ont été réalisées (9 pour le concombre, 7 pour le melon et 5 pour la pipangaille lisse). Les pics FID élicitant une réponse (dépolérisation du signal EAD) pour au moins trois répétitions, ont été sélectionnés pour être identifiés par CG x CG/TOFMS. Ces pics sont caractérisés par des indices de rétention (IR_{EAD} , indice de rétention pour un chromatographe en phase gazeuse avec détection FID et EAD) calculés grâce à l'injection

d'une série de *n*-alcane (C₈-C₂₂, Sigma-Aldrich). La tentative d'identification des composés repose sur la délimitation de zones sur les chromatogrammes du CG x CG/TOFMS avec des paramètres de rétention similaires (IR_{CG}) à ceux des zones EAD retenues (IR_{EAD}). Ainsi pour chaque zone, plusieurs composés peuvent être détectés sur le chromatogramme bidimensionnel. La présence de composés en co-élution implique une incertitude sur la nature du composé directement impliqué dans la réponse antennaire. Deux éventualités peuvent se présenter, soit plusieurs des composés de la zone sont responsables de la réponse antennaire, soit il ne s'agit que d'un seul composé. Les résultats sont donc des tentatives d'identification des composés présents dans les zones actives. Seule une injection des standards de ces composés aux antennes des insectes permettrait de vérifier l'activité du composé décelé.

I.2 Résultats

I.2.1 Concombre

Pour le concombre 'showy green' mature, dix zones sur le signal FID élicitant une réponse électroantennographique ont été repérées (**Figure IV-2**). La comparaison des indices de rétention et des spectres de masse permet de proposer des tentatives d'identification pour chacune de ces zones, dans le **tableau IV-1**.

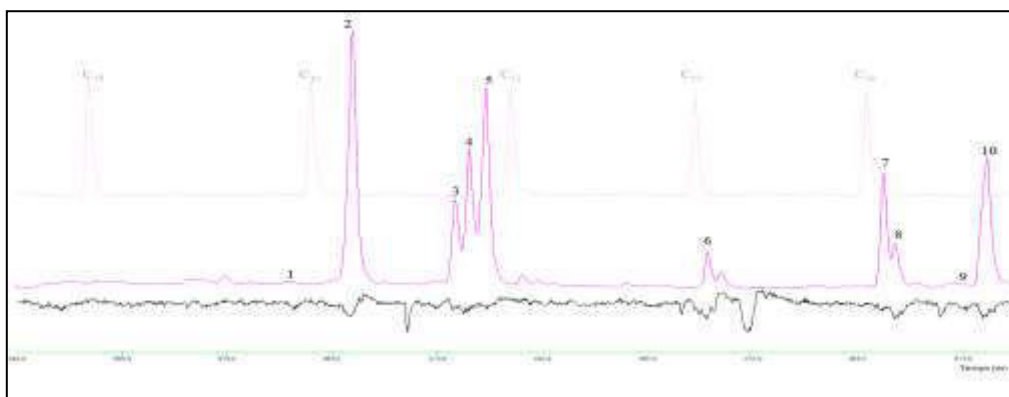


Figure IV-2. Cycle de chromatographie en phase gazeuse (détection à ionisation de flamme ; FID) couplée à la détection électroantennographique EAD des composés volatils de concombre 'showy green' mature découpé utilisant des femelles de *Bactrocera cucurbitae*.

L'extraction des composés volatils a été réalisée par SPME (DVB-Carboxen-PDMS).

Tableau IV-1. Tentative d'identification des zones des chromatogrammes FID du concombre mature élicitant une réponse électroantennographique des femelles de *Bactrocera cucurbitae* par comparaison des IR_{FID} et IR_{CG} et des spectres de masse.

* composés du concombre (extraction par SPME) ayant élicité une réponse électroantennographique dans l'étude de Siderhurst & Jang (2010)

n° pic	Position entre alcanes	IR- _{CG}	Tentative d'identification
1	C10-C11	1080	α -terpinolène
2	C11-C12	1101 1103	(6Z)-non-6-énal nonanal*
3	C11-C12	1154 1154	(2E), (6Z)-nona-2,6-diéнал* (3Z)-non-3-én-1ol
4	C11-C12	1161	(2E)-non-2-énal*
5	C11-C12 C11-C12	1170 1170	nonanol (6Z)-non-6-én-1-ol*
6	C12-C13	1291	(2Z)-tridéс-2-ène
7	C14-C15	1390	non identifié
8	C14-C15	1400	β -éléмène
9	C14-C15 C14-C15	1451 1454	géranyl acétone* (Z)- β -farnesène
10	C14-C15	1472	α -humulène

I.2.2 Melon

Pour le melon jeune, dix zones sur le signal FID élicitant une réponse électroantennographique ont été repérées (**Figure IV-3**). La comparaison des indices de rétention et des spectres de masse permet de proposer une tentative d'identification pour chacune de ces zones, dans le **tableau IV-2**.

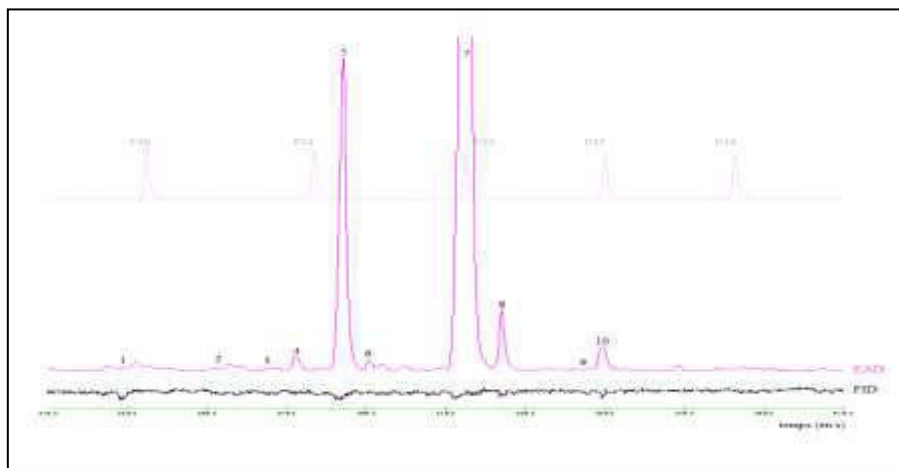


Figure IV-3. Cycle de chromatographie en phase gazeuse (détection à ionisation de flamme ; FID) couplée à la détection électroantennographique EAD des composés volatils de melon jeune découpé utilisant des femelles de *Bactrocera cucurbitae*.

L'extraction des composés volatils a été réalisée par SPME (DVB-Carboxen-PDMS).

Tableau IV-2. Tentative d'identification des zones des chromatogrammes FID du melon jeune élicitant une réponse électroantennographique des femelles de *Bactrocera cucurbitae* par comparaison des IR_{FID} et IR_{CG} et des spectres de masse.

n° pic	Position entre alcanes	IR _{CG}	Tentative d'identification
1	C10-C11	980 984 990	1-octén-3-ol β-pinène myrcène
2	C10-C11	1030 1036	p-cymène limonène
3	C10-C11	1062	γ-terpinène
4	C10-C11	1080	α-terpinolène
5	C11-C12	1101 1103	(6Z)-non-6-éнал nonanal
6	C11-C12	1121	non identifié
7	C11-C12	1195	non identifié
8	C12-C13	1225	non identifié
9	C12-C13	1260	non identifié
10	C12-C13	1294	acétate de bornyle

I.2.3 Pipangaille lisse

Pour la pipangaille lisse au stade intermédiaire de maturité, treize zones sur le signal FID élicitant une réponse électroantennographique ont été repérées (**Figure IV-4**). La comparaison des indices de rétention et des spectres de masse permet de proposer une tentative d'identification pour chacune de ces zones, dans le **tableau IV-3**.

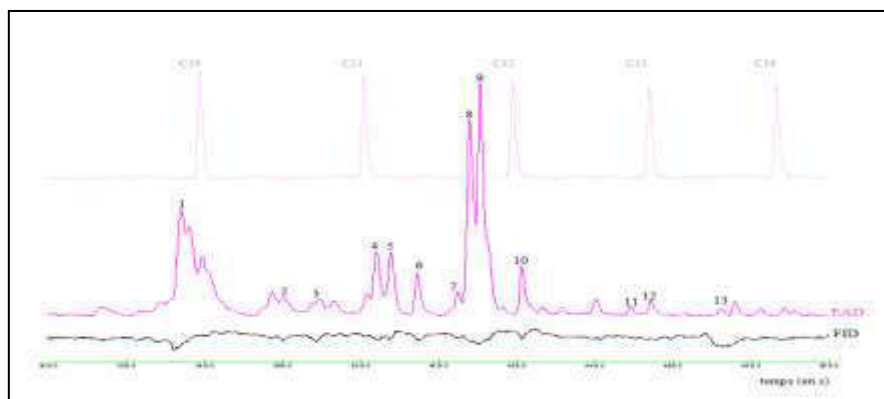


Tableau IV-3. Tentative d'identification des zones chromatogrammes FID de la pipangaille lisse de stade intermédiaire élicitant une réponse électroantennographique des femelles de *Bactrocera cucurbitae* par comparaison des IR_{FID} et IR_{CG} et des spectres de masse.

Figure IV-3. Cycle de chromatographie en phase gazeuse (détection à ionisation de flamme ; FID) couplée à la détection électroantennographique EAD des composés volatils de la pipangaille lisse de stade intermédiaire découpée utilisant des femelles de *Bactrocera cucurbitae*.

L'extraction des composés volatils a été réalisée par SPME (DVB-Carboxen-PDMS).

n° pic	Position entre alcanes	IR _{CG}	Tentative d'identification
1	C10-C11	980	oct-1-én-3-ol
		984	β-pinène
		990	myrcène
2	C10-C11	1030	ρ-cymène
		1036	limonène
3	C10-C11	1062	γ -terpinène
4	C10-C11	1100	non identifié
5	C11-C12	1101	(6Z)-non-6-énal
		1103	nonanal
6	C11-C12	1121	non identifié
7	C11-C12	1154	(2E,6Z)-nona-2,6-diéнал
		1154	(3Z)-non-3-én-1-ol
8	C11-C12	1161	(2E)-non-2-énal
9	C11-C12	1170	nonanol
		1170	(6Z)-non-6-én-1-ol
10	C12-C13	1206	non identifié
11	C12-C13	1260	non identifié
12	C12-C13	1291	(2Z)-tridéc-2-ène
13	C13-C14	1355	non identifié

I.2.4 Comparaison des réponses aux trois fruits

La détection des composés déclenchant une réponse électroantennographique chez ces trois fruits révèle des composés en commun et des composés caractéristiques à l'émission de chaque fruit (**Figure IV-5**).

Un seul composé est commun à tous les profils (zone orange de la Figure IV-5), il s'agit d'un composé dont l'indice de rétention est compris entre 1101 – 1103 : le (6Z)-non-6-énal et/ou le nonanal. Le melon et la pipangaille sont les deux fruits ayant le plus de composés en commun (zone violette de la Figure IV-5). En ce qui concerne les composés caractéristiques, le concombre en possède cinq, le melon deux et la pipangaille trois.

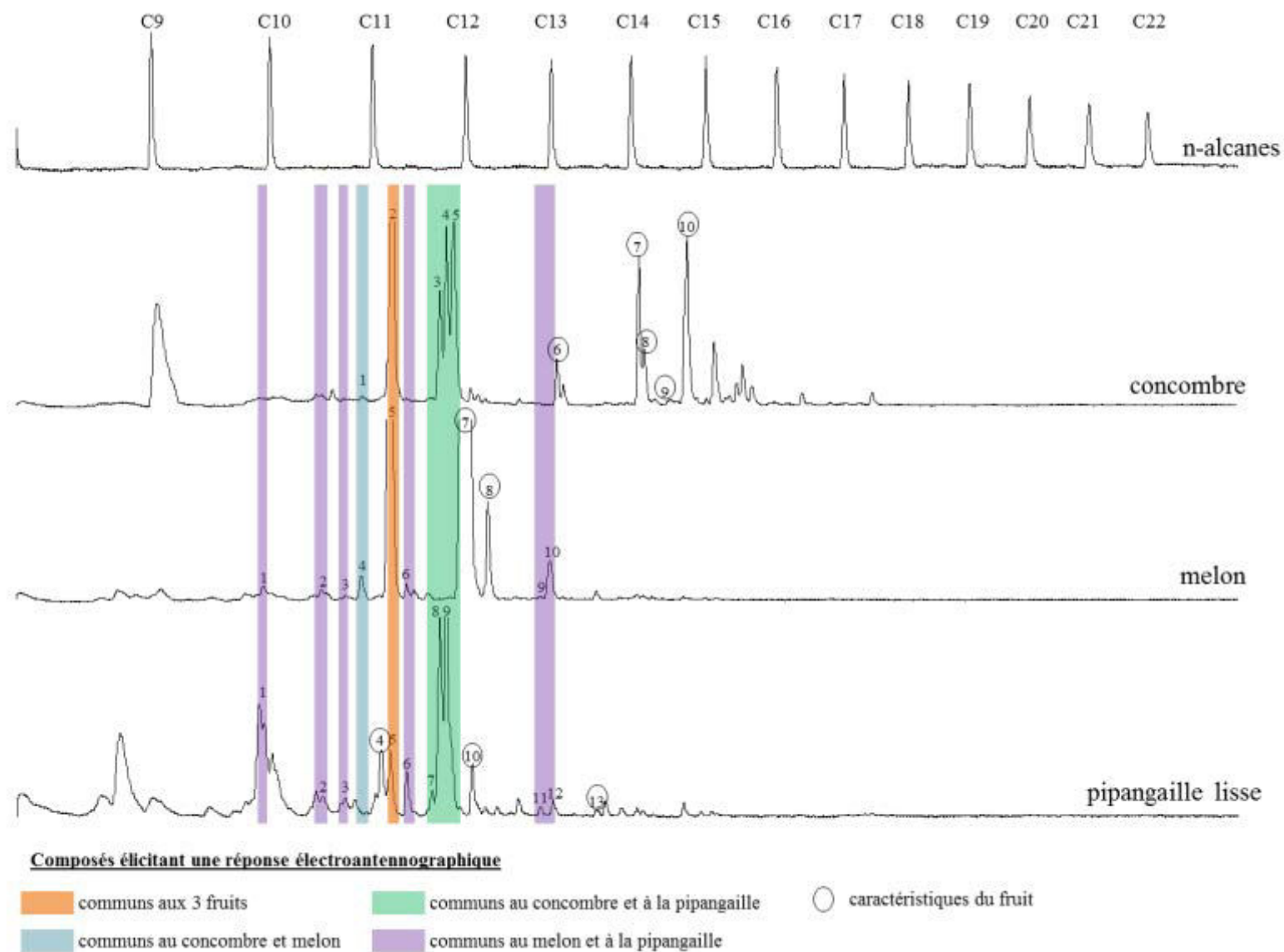


Figure IV-5. Cycle de chromatographie en phase gazeuse (détection à ionisation de flamme ; FID) des composés volatils de trois fruits découpés (concombre 'showy green' mature, melon jeune et pipangaille lisse au stade intermédiaire de maturité) avec positionnement des composés élicitant une réponse EAD des femelles de *Bactrocera cucurbitae*. L'extraction des composés volatils a été réalisée par SPME (DVB-Carboxen-PDMS).

II. Etude de la relation entre l'attractivité des fruits et leur composition chimique

II.1 Matériels et méthodes

Les méthodes statistiques appliquées dans cette partie ont utilisé les données acquises dans les chapitres II et III. L'objectif de cette approche statistique est d'établir des corrélations entre les données de composition en substances volatiles des fruits et les données de leur attractivité pour les femelles de *B. cucurbitae*. Pour cela, les données communes aux chapitres II et III ont été utilisées, c'est-à-dire les données obtenues pour les 27 fruits aux stades jeune et mature, en combinant les données chimiques de composition (aire des pics) pour une extraction de 3 h à température ambiante et les valeurs moyennes d'attractivité de ces fruits, obtenues en cage de comportement.

- Dans un premier temps, en utilisant les données déjà analysées dans les chapitres II et III, un graphique a été réalisé, combinant le dendrogramme construit à partir de la classification ascendante hiérarchique (CAH) (Chapitre III) sur les fruits à température ambiante, et les pourcentages de réponse de femelles (Chapitre II).
- Dans un second temps, une Analyse Factorielle des Correspondances (AFC) a été choisie comme méthode statistique d'analyse, car il n'a pas été possible d'ajuster des modèles pour corrélérer les données de chimie à celles d'attractivité. Plusieurs méthodes ont été testées comme la régression des moindres carrés partiels (PLS, *Partial Least Squares regression*) (Rosipal & Krämer, 2006), une méthode de classification binaire par apprentissage supervisée (SVM, séparateurs à vastes marges) (Vapnik *et al.*, 1997) et les modèles de forêts aléatoires (RandomForest) (Breiman, 2001).
 - ✓ Afin de réaliser l'AFC, la gamme de composés volatils à considérer dans l'analyse a tout d'abord été simplifiée par la sélection des composés appartenant à cinq familles chimiques (alcools, aldéhydes, terpènes, esters et composés aromatiques) connues pour leur rôle majeur dans les relations insecte-plante (Das *et al.*, 2013).
 - ✓ Puis, les données d'aires des pics ont été transformées en données binaires de présence / absence pour chaque fruit.

- ✓ Enfin, les fruits ont été regroupés selon leur niveau d'attractivité grâce une classification ascendante hiérarchique réalisée par la fonction *HCPC* du package « FactoMineR » (Husson *et al.*, 2010). La somme des inerties intra-classe a été calculée pour chaque partition. La partition retenue (donc le découpage en classe retenu) a été celle qui a la plus grande perte d'inertie relative. A partir de cette classification, un tableau de contingence (**Tableau IV-4**) a permis de présenter en ligne les classes d'attractivité et en colonne les composés volatils. Au croisement, de la ligne *i* et de la colonne *j* se trouve le nombre de fruits prenant la modalité *i* d'attractivité et le composé volatil *j*.

Tableau IV-4 : Exemple de tableau de contingence

CV : composé volatil

Classes \ Composés volatils	CV 1	CV 2	CV 3		CV p	Profils-colonnes
Classe d'attractivité 1	n_{1-1}	n_{1-2}	n_{1-3}		n_{1-p}	$n_{1\bullet}$
Classe d'attractivité 2	n_{2-1}	n_{2-2}	n_{2-3}		n_{2-p}	$n_{2\bullet}$
....						
Classe d'attractivité k	n_{k-1}	n_{k-2}	n_{k-3}		n_{k-p}	$n_{k\bullet}$
Profils-lignes	$n_{\bullet 1}$	$n_{\bullet 2}$	$n_{\bullet 3}$		$n_{\bullet p}$	n

Sur ce tableau de contingence, une AFC a été réalisée avec la fonction *CA* du package « FactoMineR » (Husson *et al.*, 2010). Les objectifs de l'AFC sont de comparer les profils-lignes entre eux, les profils-colonnes entre eux et d'interpréter les proximités entre les lignes et les colonnes, ce qui revient à repérer les associations entre les niveaux d'attractivité et la présence de composés volatils. Les résultats sont visualisés dans un plan factoriel.

II.2 Résultats

II.2.1 Visualisation des classes de fruits en fonction de leur attractivité

Le dendrogramme (**figure IV-6**) a été réalisé à partir de l'association des données obtenues dans les chapitres II (attractivité des fruits) et III (composition chimique des effluves des fruits), afin d'établir une corrélation entre le niveau d'attractivité des fruits et les différentes classes (A-J) de fruits générées à partir de leur composition chimique (présence ou absence systématique de certains composés volatils). Aucune corrélation évidente n'a pu être détectée. En effet, une hétérogénéité du niveau de réponse des femelles au sein des classes de fruits s'observe assez clairement. L'exemple le plus parlant est celui de la première classe A (en rouge) qui regroupe des fruits partageant une certaine proximité du point de vue des profils chimiques mais dont les niveaux d'attraction varient d'un niveau entre 0 et 60%. Il en est de même pour des classes caractérisées par peu de fruits, comme la classe B (chouchou et concombre pays jeune) et la classe D (concombre 'kenya'). Sur le dendrogramme, on observe tout de même quelques classes de fruits pour lesquelles le niveau de réponse est moins contrasté : les classes E (plusieurs concombres matures), F (pastèque mature) et G (margose lisse).

En conséquence, dans le but d'améliorer ces résultats, l'attractivité a été rajoutée comme variable illustrative dans l'ACM et la CAH réalisées dans le chapitre III. Cependant, l'attractivité ne ressort toujours pas comme une variable illustrative pertinente, ce qui signifie qu'il n'y a pas de discrimination entre l'attractivité moyenne pour chacune des classes de fruits et celle de l'ensemble des fruits testés.

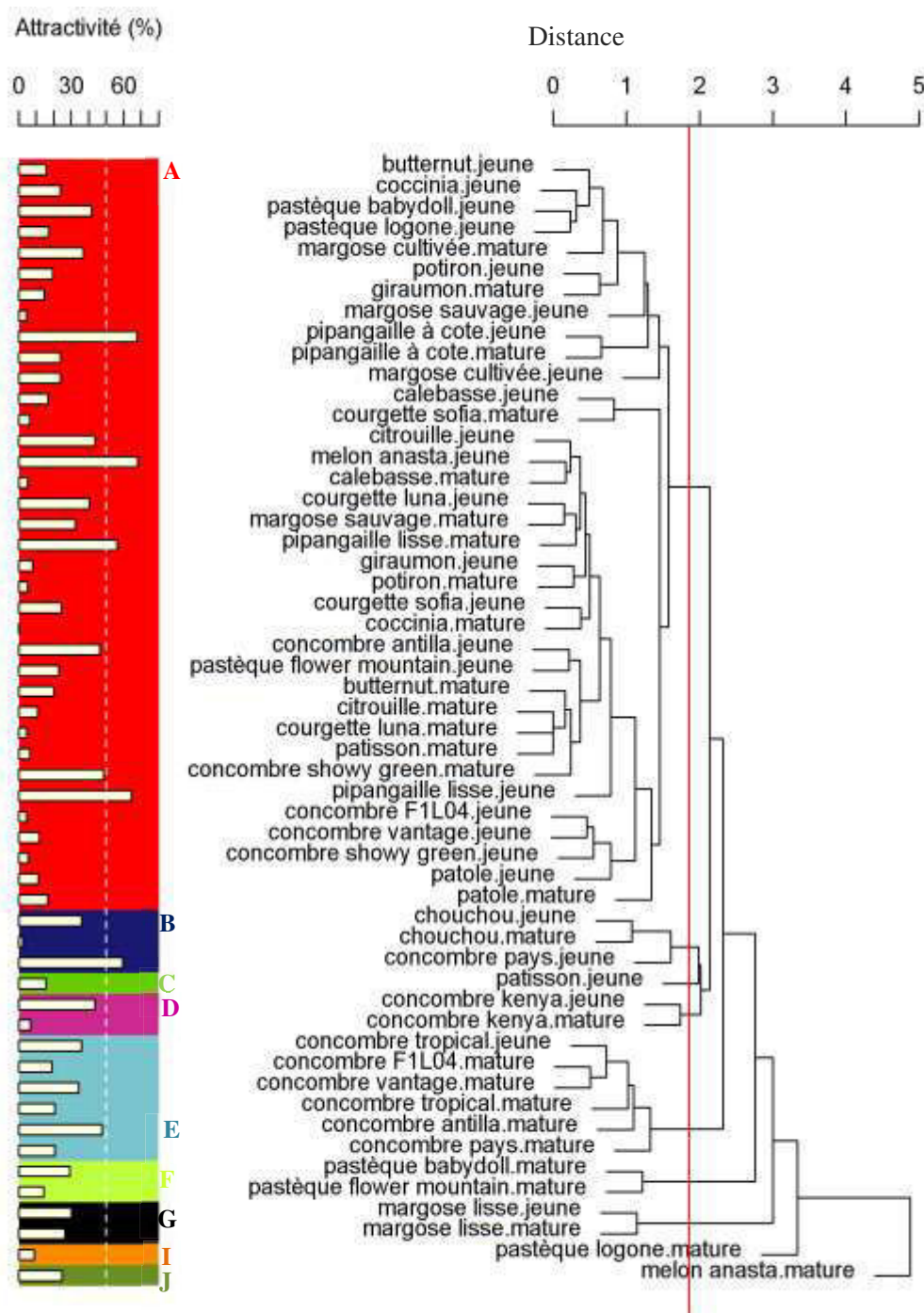


Figure IV-6. Classification ascendante hiérarchique de 27 fruits de Cucurbitaceae aux stades jeune et mature associés à leur attractivité pour les femelles de *Bactrocera cucurbitae*.

- Dendrogramme obtenu suite à une classification ascendante hiérarchique (CAH) (distance euclidienne, méthode d'agrégation de Ward) sur les données de présence/absence de composés volatils des fruits découpés à température ambiante- Distances calculées à partir des coordonnées des fruits sur les axes factoriels de l'analyse en composante multiple (cf. chapitre III) ;
- Attractivité des fruits exprimée en pourcentage moyen de réponse des femelles aux odeurs de fruits découpés en cages de comportement (12 répétitions); le graphique des attractivités est fragmenté selon un code couleur pour les 9 classes de la CAH.

II.2.2 Analyse Factorielle des Correspondances

La classification ascendante hiérarchique a permis de regrouper les fruits jeunes et matures en quatre classes selon leur niveau d'attractivité pour les femelles:

- **La classe 1** comprenant les fruits très peu attractifs ([0,8 – 11,9%] de réponse) : calebasse mature, chou chou mature, citrouille mature, coccinia mature, concombre 'F1L04' jeune, concombre 'kenya' mature, concombre 'showy green' jeune, concombre 'vantage' jeune, courgette 'luna' mature, courgette 'sofia' mature, giraumon jeune, margose sauvage jeune, pastèque 'longone' mature, patisson mature, patole jeune, potiron mature ;
- **La classe 2** comprenant des fruits peu attractifs ([14,4 – 30,3 %] de réponse) : butternut jeune, butternut mature, calebasse jeune, coccinia jeune, concombre 'F1L04' mature, concombre 'pays' mature, concombre 'tropical' mature, courgette 'sofia' jeune, giraumon mature, margose cultivée jeune, margose lisse jeune, margose lisse mature, melon mature, pastèque 'baby doll' mature, pastèque 'flower mountain' jeune, pastèque 'flower mountain' mature, pastèque 'logone' jeune, patisson jeune, patole mature, pipangaille à côte mature, potiron jeune ;
- **La classe 3** comprenant des fruits attractifs ([32,4 – 48,6%] de réponse) : chou chou jeune, citrouille jeune, concombre 'antilla' jeune, concombre 'antilla' mature, concombre 'kenya' jeune, concombre 'showy green' mature, concombre 'tropical' jeune, concombre 'vantage' mature, courgette 'luna' jeune, margose cultivée mature, margose sauvage mature, pastèque 'baby doll' jeune ;
- **La classe 4** comprenant des fruits très attractifs ([56,4 – 68,0%] de réponse) : concombre pays jeune, melon jeune, pipangaille à côte jeune, pipangaille lisse jeune, pipangaille lisse mature.

Dans l'AFC, les trois premiers axes factoriels restituent 100% de l'inertie totale (axe 1 : 44,5%; axe 2 : 31,16% et axe 3 : 24,34%). Les résultats sont présentés par l'analyse de ces trois axes. La contribution de chacune des classes d'attractivité à la construction des axes factoriels est différente. Les classes 1 et 2 sont bien représentées sur l'axe 1 (respectivement $\cos^2 = 0,85$, $\cos^2 = 0,86$), alors que la classe 3 est bien représentée sur l'axe 2 ($\cos^2 = 0,91$) et la classe 4 sur l'axe 3 ($\cos^2 = 0,86$). Ainsi, les liaisons existantes entre des composés volatils

et les classes d'attractivité sont possibles par une visualisation sur deux plans factoriels (axes 1 et 2 ; axes 2 et 3).

- **Premier plan factoriel**

Sont caractérisées sur le premier plan factoriel (**Figure IV-7**), les associations entre la présence de certains composés volatils et les classes d'attractivité les plus faibles (classes 1 et 2).

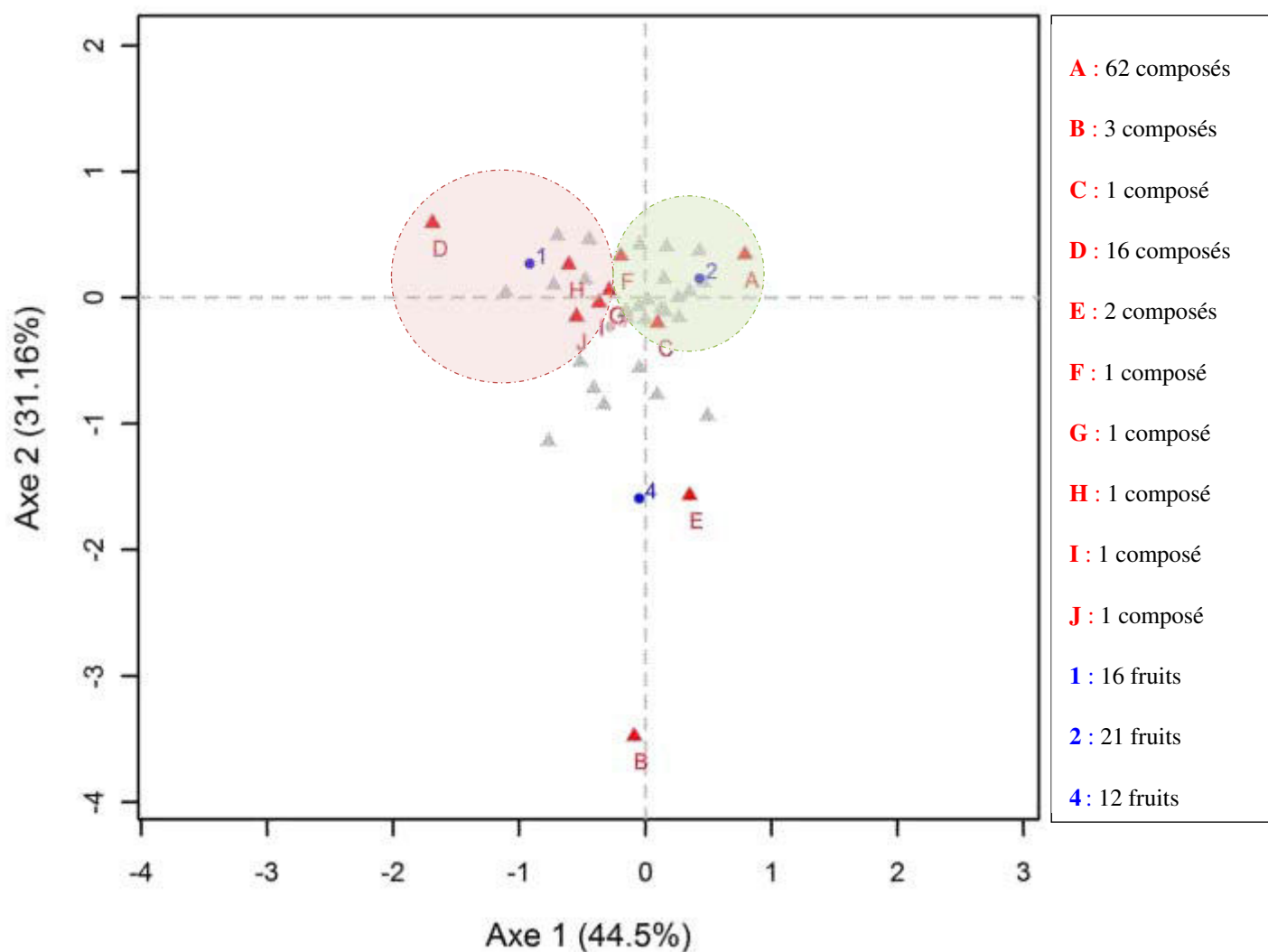


Figure IV-7. Premier plan factoriel (axes 1 et 2) de l'AFC représentant les associations entre les classes d'attractivité de fruits et la présence de certains composés volatils.

Visualisation des classes de fruits les moins attractifs (1 et 2), les composés ayant les mêmes coordonnées dans le plan sont regroupés et désignés par une lettre. Les classes d'attractivité et les lettres en couleur (bleu et rouge respectivement) sont les groupes ayant une forte contribution à la construction du plan ($\cos^2 > 0,7$), les points grisés sont ceux ayant une contribution moins significative.

Dans le premier plan factoriel, les classes 1 et 2 sont bien représentées et particulièrement sur l'axe 1.

- La **classe 1**, composée des 16 fruits très peu attractifs, est fortement corrélée (par ordre de proximité) à la présence des groupes de composés H, J, I, G et D. Il s'agit respectivement du (Z)- β -ocimène, de l' α -humulène, du (E)-caryophyllène, du limonène et du hex-4-én-1ol.
- La **classe 2**, composée des 21 fruits peu attractifs, est fortement corrélée (par ordre de proximité) à la présence des groupes de composés A, C et F. Le groupe A rassemble 62 composés différents dont 45 esters, 6 composés aromatiques, 5 alcools, 4 terpènes et 2 aldéhydes. Le groupe C correspond à l'hexanol et le groupe F à l' α -pinène.

- **Deuxième plan factoriel**

Sont caractérisées sur le deuxième plan factoriel (**Figure IV-8**), les associations entre la présence de certains composés volatils et les classes d'attractivité les plus élevées (3 et 4).

Dans le deuxième plan factoriel, la classe 3 est bien représentée sur l'axe 3 et la classe 4 sur l'axe 2.

- La **classe 3**, composée des 12 fruits attractifs, est fortement corrélée (par ordre de proximité) à la présence des groupes de composés E, F, H, D, K, G, J et C. Il s'agit respectivement du (2E,6Z)-nona-2,6-dién-1-ol, du véatrole, de l'eucalyptol, du (2E,6Z)-nona-2,6-diéanal, du (3Z)-non-3-én-1-ol, du (6Z)-non-6-én-1-ol, de l'acétate de (3Z)-hex-3-ényle, du nonanal, de l'acétate d'éthyle, du 2-méthylbutanoate de hex-3-ényle et de l'octanol.
- La **classe 4**, composée des 5 fruits très attractifs, est fortement corrélée (par ordre de proximité) à la présence des groupes de composés I, B, L et A. Il s'agit respectivement de l'acétate de méthyle, du (E)- β -ocimène, de l'hexanol, de l' α -pinène, du (3Z)-hex-3-én-1-ol, du benzoate d'éthyle et de l' α -terpinène.

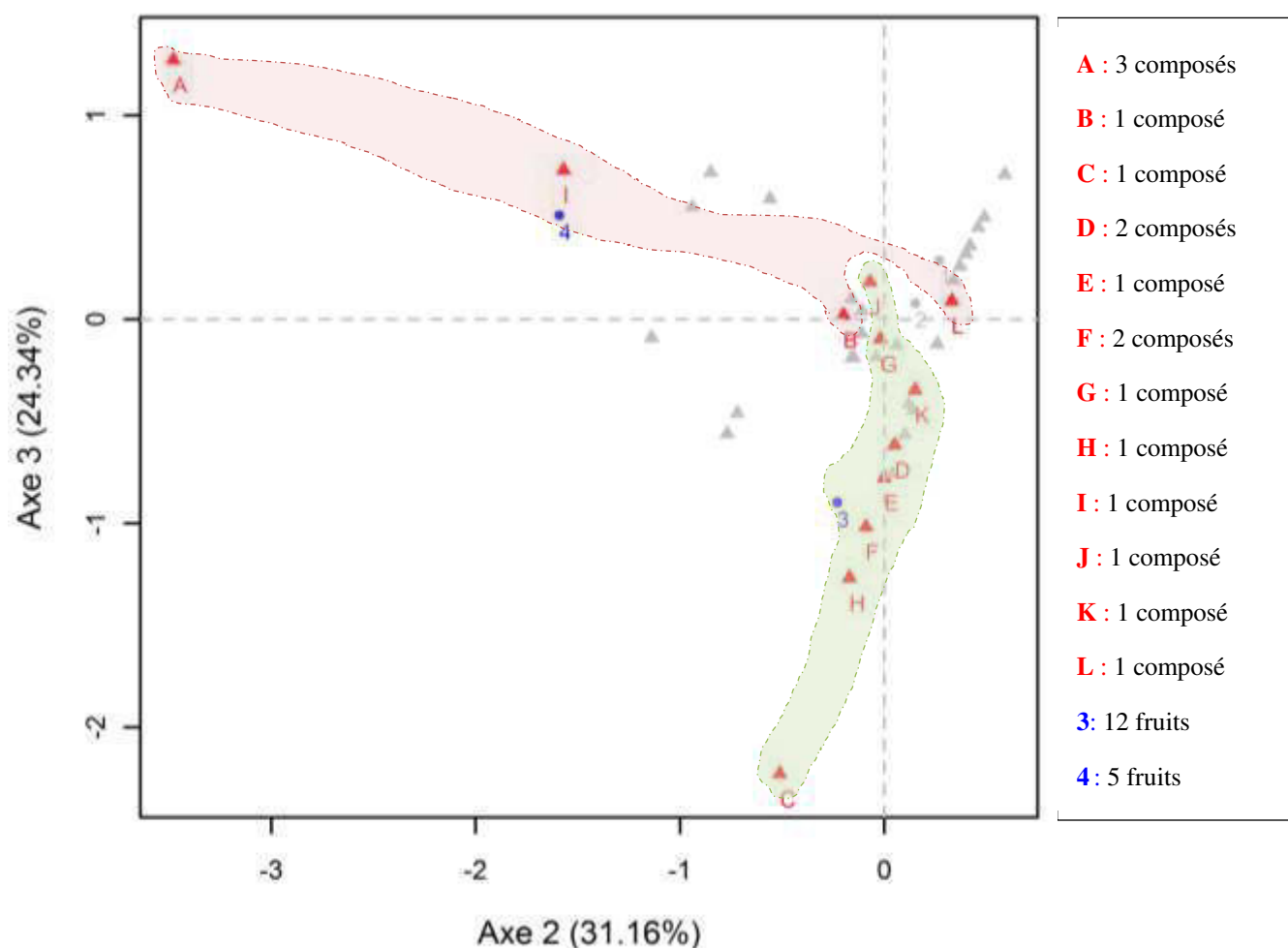


Figure IV-8. Second plan factoriel (axes 2 et 3) de l'AFC représentant les associations entre les classes d'attractivité de fruits et la présence de certains composés volatils.

Visualisation des classes les plus attractives (3 et 4), les composés ayant les mêmes coordonnées dans le plan sont regroupés et désignés par une lettre. Les classes d'attractivité et les lettres en couleur (bleu et rouge respectivement) sont les groupes ayant une forte contribution à la construction du plan ($\cos^2 > 0.7$), les points gris sont ceux ayant une contribution moins significative.

III. Discussion

Dans les études d'écologie chimique et plus spécifiquement dans celles qui visent à identifier des composés attractifs issus de plantes, il est indispensable de disposer d'outils d'aide à la sélection des composés d'intérêt. En effet, les effluves de plantes et, dans le cas particulier de cette étude, celles des fruits, sont des mélanges de composés souvent très complexes qui, en outre, peuvent être sujets à des changements importants au cours de la maturation.

Jusqu'à ce jour, les recherches concernant les stimuli olfactifs impliqués dans la recherche de site de ponte chez de nombreuses espèces de Tephritidae, avaient principalement pour but d'identifier des kairomones pour la mise au point d'attractifs pour les femelles. Ces travaux ont concerné particulièrement *Rhagoletis pomonella* (Reissig *et al.*, 1982 ; Reissig *et al.*, 1985 ; Jones & Davis, 1989 ; Agnello *et al.*, 1990), *Ceratitis capitata* (Prokopy & Vargas, 1996 ; Warthen *et al.*, 1997 ; Prokopy *et al.*, 1998), *Anastrepha ludens* (Robacker *et al.*, 1992 ; Robacker & Heath, 1996) et *Anastrepha suspensa* (Nigg *et al.*, 1994). Concernant les femelles de *B. cucurbitae*, la seule étude disponible a été réalisée par une équipe d'Hawaii avec des effluves de concombre (Siderhurst & Jang, 2010). Pour toutes ces études, la sélection des composés à tester a été réalisée par des tests d'électroantennographie, selon deux voies possibles :

- Les composés ont d'abord été extraits par des méthodes de *headspace* statique ou dynamique, puis les composés majoritaires ont été testés sur les antennes des femelles.
- Les tests d'électroantennographie ont été couplés à une chromatographie en phase gazeuse et l'ensemble des composés de l'effluve du fruit ont été testés sur les antennes.

Au terme de ces tests d'électroantennographie, l'attractivité des composés élicitant une réponse antennaire, a été mesurée en olfactométrie et/ou au moyen d'un tunnel de vol. Des mélanges à partir des composés attractifs ont ensuite été réalisés et testés.

Par rapport aux travaux mentionnés dans la littérature, ce travail de thèse présente une originalité par l'utilisation complémentaire d'une approche statistique afin d'optimiser les résultats. L'utilisation d'une double approche (électroantennographique et statistique) semblait pertinente afin de restreindre considérablement la fenêtre d'investigation au sein des profils d'émission complexes des fruits de Cucurbitaceae.

La mise en œuvre de l'étude statistique s'est néanmoins soldée par l'impossibilité d'utiliser des modèles de régression classiques comme les PLS largement utilisés dans les études de chimiométrie. Le non-ajustement de ces types de régression sur le jeu de données s'explique notamment par des profils d'émission entre fruits trop différents, les modèles PLS, en effet, ne permettent de mettre en relation que des variables émanant de profils d'individus proches. Une solution alternative avec l'analyse factorielle des correspondances s'est, en revanche, avérée possible. Cependant, cette approche statistique n'a pu être possible que par l'acquisition d'un nombre important d'informations sur la composition chimique et sur l'attractivité des effluves de nombreuses espèces de Cucurbitaceae.

L'utilisation de ces deux approches au cours de ces travaux a permis de dégager les résultats et observations suivants :

⇒ **L'analyse factorielle** des correspondances a permis d'identifier sept composés fortement associés aux cinq fruits les plus attractifs : l'acétate de méthyle, le (*E*)- β -ocimène, l'hexanol, l' α -pinène, le (3*Z*)-hex-3-én-1-ol, le benzoate d'éthyle, l' α -terpinène. D'autres composés, tels que ceux associés aux fruits attractifs (32 à 49% de réponse), peuvent aussi constituer des pistes de recherche à privilégier : le (2*E*,6*Z*)-nona-2,6-dién-1-ol, le vératrole, l'eucalyptol, le (2*E*,6*Z*)-nona-2,6-diéнал, le (3*Z*)-non-3-én-1-ol, le (6*Z*)-non-6-én-1-ol, l'acétate de (3*Z*)-hex-3-ényle, le nonanal, l'acétate d'éthyle, le 2-méthylbutanoate d'hex-3-ényle et l'octan-1-ol.

⇒ **Les études électroantennographiques** ont permis de considérer d'autres composés à tester. C'est particulièrement la comparaison des réponses antennaires entre les fruits qui apporte les éléments les plus discriminants dans le choix des composés à fort potentiel. Les composés ayant déclenché une réponse électroantennographique sont des composés communs aux trois fruits (le concombre, le melon et la pipangaille lisse), ou caractéristiques d'un fruit particulier. En effet, la pipangaille lisse au « stade intermédiaire » de maturation et le melon « jeune » sont les fruits dont les effluves sont les plus attractifs (respectivement 74% et 64% de réponse en cage de comportement). Ces deux fruits présentent le plus de composés communs élicitant une réponse antennaire des femelles. Parmi ces composés communs (oct-1-én-3-ol et/ou β -pinène et/ou myrcène, *p*-cymène et/ou limonène, γ -terpinène, (2*Z*)-tridéc-2-ène), certains permettent vraisemblablement à la femelle de réagir plus fortement à ces deux fruits, plutôt qu'au concombre. Une discrimination entre ces fruits peut se faire par la reconnaissance de composés caractéristiques ou plutôt par la reconnaissance de ratios des composés communs (Bruce *et al.*, 2005 ; Bruce & Pickett, 2011). Ces composés d'intérêt, mis

en évidence par l'électroantennographie, ne sont que des tentatives d'identification mais on peut raisonnablement penser qu'il s'agit bien de l'un ou de plusieurs des composés proposés. En effet, ces effluves étant très complexes, il est possible qu'au sein de ces zones d'enregistrement des réponses antennaires, plusieurs composés en co-élution puissent être détectés par la femelle. Pour le cas particulier du concombre, les incertitudes relatives à l'identification de certains composés 2, 3, et 4 (**Figure IV-1, Tableau IV-1**), ont été levées par les travaux de Siderhurst & Jang (2010). Ces derniers ont permis de privilégier les composés suivants : le nonanal, le (2*E*,6*Z*)-nona-2,6-diéнал et le (6*Z*)-non-6-én-1-ol. Compte-tenu de la durée limitée de la mission à Prague, il n'a pas été possible de réaliser l'ensemble des tests d'électroantennographie souhaitables. Il serait intéressant de poursuivre cette collaboration afin de vérifier l'identification des composés par l'injection de standards sur les antennes des femelles, mais également de réaliser plus de collectes SPME des fruits de melon et de pipangaille lisse pour une meilleure identification des composés.

L'apport original de cette étude électroantennographique par rapport aux études antérieures est le fait que deux autres fruits, le melon et le pipangaille lisse, dont les effluves se sont avérés plus attractifs que ceux du concombre, ont pu être testés. Si à notre connaissance il n'existe pas d'études de CG-EAD sur le melon et la pipangaille lisse pour *B. cucurbitae*, une étude sur le concombre a déjà été menée à Hawaii (Siderhurst & Jang, 2010). Il a donc été possible de comparer les résultats de ces travaux de thèse obtenus sur le concombre à ceux de cette étude :

- ✓ Quatre composés, dérivés d'acides gras, déjà cités dans l'étude de Siderhurst (2010) (le nonanal, le (2*E*,6*Z*)-nona-2,6-diéнал, le (6*Z*)-non-6-én-1-ol et le (2*E*)-non-2-énal) ont été identifiés par électroantennographie au cours de ces travaux. Parmi ceux-ci, le (6*Z*)-non-6-én-1-ol n'a été recensé comme actif que chez *B. cucurbitae*, alors que les trois autres composés sont actifs chez d'autres espèces d'insectes ou même de Tephritidae (Light *et al.*, 1988 ; Hibbard *et al.*, 1997 ; Fraser *et al.*, 2003 ; Vaničková *et al.*, 2012). Le fait que le (6*Z*)-non-6-én-1-ol soit recensé comme actif uniquement chez *B. cucurbitae* est la conséquence de sa faible occurrence dans le règne végétal ; en effet, il n'a été identifié que dans l'émission des fruits de melon et de concombre (TNO-CIVO, 1989). Il s'agit potentiellement d'un composé caractéristique des Cucurbitaceae, qui, de ce fait, peut être reconnu par la femelle comme un facteur important dans la spécialisation de *B. cucurbitae* sur cette famille de plante.

- ✓ Les terpènes identifiés comme actifs dans cette étude sont par exemple l' α -terpinolène, le β -élémane, l' α -humulène et le limonène. La détection de ces terpènes dans nos extractions provient probablement des méthodes utilisées, notamment l'utilisation d'une fibre triphasée probablement plus sensible, le non-broyage du fruit ou même une variété de concombre différente. En effet, la composition des effluves de concombre peut être considérablement différente selon la variété considérée (Atiama-Nurbel *et al.*, 2014 (in press)). Certains de ces terpènes sont reconnus comme des composés actifs chez d'autres espèces de Tephritidae, comme l' α -terpinolène pour *B. dorsalis* (Kamala Jayanthi *et al.*, 2012) et *C. capitata* (Jang *et al.*, 1989) ou le limonène pour *A. ludens* (Massa *et al.*, 2008 ; Rasgado *et al.*, 2009), *A. obliqua* (Vazquez-Luna *et al.*, 2011 ; Malo *et al.*, 2012), *C. capitata* (Papadopoulos *et al.*, 2001 ; Ioannou *et al.*, 2012) et *R. pomonella* (Sim *et al.*, 2012).

⇒ **L'utilisation conjointe des deux approches** a permis de repérer quatre composés candidats :

- le (2*E*,6*Z*)-nona-2,6-diène,
- le (3*Z*)-non-3-én-1-ol,
- le (6*Z*)-non-6-én-1-ol
- le nonanal

Chaque approche apporte par ailleurs d'autres candidats potentiels pour lesquels il importera de continuer les investigations.

Si l'ensemble de ces résultats permet de mettre en évidence l'importance de la présence de certains composés, il ne permet pas en revanche d'identifier l'impact de ratios spécifiques de composés dans l'attraction des femelles. Cette hypothèse de ratios spécifiques a fait l'objet de nombreuses études notamment concernant les composés généralistes comme les GLVs, pour lesquels un ratio spécifique semble plus déterminant dans l'attraction que leur simple présence (Bruce *et al.*, 2005 ; Bruce & Pickett, 2011). De plus, les effets de complémentarité ou de synergies de composés dans l'attraction sont souvent sous-estimés et très difficiles à discerner. Il faut souligner que l'approche statistique envisagée au cours de ces travaux a permis de moins sous-estimer ces effets, en comparaison de l'étude électroantennographique. En effet, l'analyse factorielle a permis non seulement de mettre en évidence des relations

entre l'attractivité des fruits et les composés émis mais aussi d'établir des liens entre les composés volatils en fonction de leur présence ou de leur absence.

Au terme de ce chapitre, il est possible de souligner plusieurs points :

- **La complémentarité des deux approches utilisées.** L'approche statistique constitue un outil adapté à une recherche globale des composés d'une famille de plantes impliqués dans l'attraction, alors que l'approche électroantennographique s'apparente à une recherche plus fine des composés attractifs spécifiques aux différentes espèces de fruits.
- **L'attraction des femelles de *B. cucurbitae* pour un certain nombre de composés.** Outre les composés attractifs communs précédemment cités dans la littérature (Siderhurst & Jang, 2010) pour le cas du concombre, une grande majorité de composés détectés comme potentiellement attractifs dans cette étude, n'ont pas été recensés dans la littérature. De plus, un certain nombre d'entre eux sont des composés volatils assez ubiquistes chez les plantes. Ceci montre la complexité des mécanismes de reconnaissance olfactive par cet insecte de plantes hôtes vis-à-vis de non-hôtes. Par conséquent, pour mieux comprendre ces phénomènes de spécialisation d'hôtes envers cette famille de plante, une étude comparative avec des espèces non-hôtes apporterait sans doute des réponses quant au poids de ces composés ubiquistes dans la spécialisation du régime alimentaire de ces insectes.
- **L'approche globale novatrice de la spécialisation d'hôte par rapport aux études antérieures** qui s'intéressent généralement à un couple monospécifique insecte-plante. Les quelques études disponibles comparant plusieurs fruits ont été en effet réalisées sur la même espèce (variétés différentes) (Kamala Jayanthi *et al.*, 2012) et non sur un ensemble d'espèces hôtes d'une même famille de plantes.

Chapitre V

Réponses des femelles aux composés volatils isolés et en mélange



Chapitre V- Réponses des femelles de *Bactrocera cucurbitae* à des composés volatils isolés ou en mélange

Au terme du chapitre précédent, 34 composés volatils prometteurs en tant que molécules potentiellement attractives, pour les femelles de *B. cucurbitae* ont été identifiés. Une sélection de 10 composés volatils d'intérêt a été réalisée en combinant à la fois les résultats obtenus sur l'ensemble des 27 fruits testés et ceux obtenus dans les travaux de Siderhurst & Jang (2010). Il s'agit de composés caractéristiques des odeurs de Cucurbitaceae (alcools et aldéhydes en C9), et des odeurs vertes (alcools et aldéhydes en C6). De plus, le limonène, qui est apparu comme le terpène le plus courant dans les profils d'émission des 27 fruits de Cucurbitaceae testés, a également été retenu.

Peu d'études apportent des informations quant aux composés volatils attractifs pour les femelles de *B. cucurbitae*. Une étude de 1971, montre que des composés dérivés de l'acétate de nonényle sont attractifs pour les femelles de cette espèce (Jacobson *et al.*, 1971). Plus récemment, Siderhurst & Jang (2010) proposent un mélange de neuf composés volatils issus de fruits-hôtes attractifs pour les femelles de cette espèce. Cependant, des tests au champ de ce mélange à La Réunion n'ont pas donné de résultats probants (S. Quilici, communication personnelle). Il a alors été envisagé de tester un mélange plus simple à base de quelques composés pouvant être aussi attractif. Cela a déjà été démontré chez une autre espèce de Tephritidae, où des pièges à base d'un mélange à deux composés présentaient des taux de capture équivalents à ceux contenant un mélange à neuf composés (Toledo *et al.*, 2009).

Dans ce chapitre, l'objectif global est d'identifier des composés ou mélanges de composés simples avec une attractivité pouvant être équivalente voire supérieure à celle de l'odeur complexe d'un fruit frais.

L'attractivité des 10 composés sélectionnés a été mesurée par la technique d'olfactométrie à une voie (**Figure V-1**). Les composés testés sont des substances commerciales (Sigma-Aldrich) (taux de pureté > 98 %). Tout d'abord, l'attractivité des composés seuls a été mesurée pour deux doses (1 et 5 µL), puis des mélanges basés sur les composés seuls les plus attractifs ont été testés et comparés à un concombre frais.

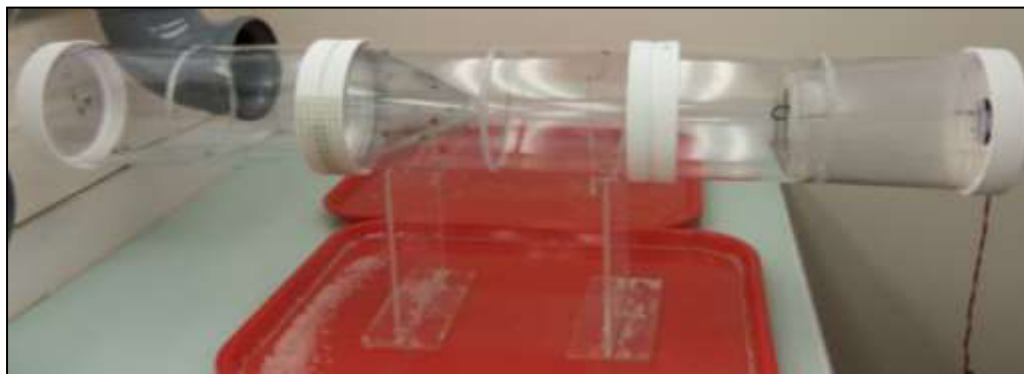


Figure V-1. Olfactomètre à une voie

(Photos : T.Atiama-Nurbel)

Parmi les 10 composés testés, le nonanol, le (6Z)-non-6-éнал, le (6Z)-non-6-én-1-ol et le (2E,6Z)-nona-2,6-diéнал ont permis d'attirer le plus de femelles (au moins 40% de réponse). Trois mélanges de composés se sont avérés aussi attractif que le concombre frais (~ 60% de réponse). Parmi ceux-ci, se trouve un mélange à deux composés ((6Z)-non-6-én-1-ol et (2E,6Z)-nona-2,6-diéнал) qui constitue par sa simplicité et son fort taux d'attraction, une piste prometteuse dans l'élaboration d'attractifs pour les femelles de *B. cucurbitae*.

Ce chapitre fait l'objet d'un article, soumis à la revue *Journal of Economic Entomology* :

Atiama-Nurbel T., Ligonière A., Müller L., Deguine J.P., Bialecki A. and Quilici S. Which cucurbit volatiles are most attractive to gravid females of *Bactrocera cucurbitae* (Diptera, Tephritidae)?

Which cucurbit volatiles are most attractive to gravid females of *Bactrocera cucurbitae* (Diptera, Tephritidae)?

Toulassi Atiama-Nurbel¹, Amandine Ligonière¹, Lucile Müller¹, Jean-Philippe Deguine¹, Anne Bialecki² and Serge Quilici¹

¹ UMR Peuplements Végétaux et Bioagresseurs en Milieu Tropical (CIRAD- Université de La Réunion), 97410 Saint-Pierre, Réunion, France

² Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et des Sciences des Aliments, Université de La Réunion, 97 744 Saint-Denis cedex 9, La Réunion, France

Abstract

The melon fly *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) (Diptera: Tephritidae) is a serious pest of tropical cucurbit crops in many parts of the world. Damages are caused by female ovipositing in fruits. Nowadays no powerful attractant is available to monitor or control these female population. The use of kairomones (plant volatiles) might be a promising solution for controlling *B. cucurbitae*. In this study, we evaluated the attractiveness of ten volatiles compounds from Cucurbitaceae for the females of *B. cucurbitae* using olfactometry bioassays. Ten compounds (alcohols, aldehydes and a terpene) have been tested individually at two doses, and in blends of 2,3,4 and all individual-compounds. The study of responses to individual compounds enabled us to select the four most attractive compounds at the optimal dose: the nonanol, the (Z)-non-6-enal, the (Z)-non-6-en-1-ol and the (E,Z)-nona-2,6-dienal (each of them at least 40% response). Then, three blends induced a response of females equivalent to the odor of fresh cucumber (around 60 % response). The two-component blend with (Z)-non-6-en-1-ol and (E,Z)-nona-2,6-dienal constitutes a promising solution for practical use in trapping systems for *B. cucurbitae*.

Key words: kairomones, olfactive stimuli, olfactometer, host plant, insect-plant relationship

Introduction

The melon fly, *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett), is a serious pest of tropical agricultural crops, whose current distribution ranges from South Asia, from where it originates, to many Pacific Islands (including Hawaii) (Dhillon *et al.*, 2005), some Indian Ocean islands (including Mauritius and Seychelles) (White *et al.*, 2000) and many African countries (Vayssières *et al.*, 2007). This pest is causing damage at least to 81 host species worldwide (Dhillon *et al.*, 2005) with a strong host association with most species of the Cucurbitaceae family (Allwood *et al.*, 1999). In La Réunion, damage may sometimes affect the total cucurbit crop when no control method is applied (Ryckewaert *et al.*, 2010). As chemical control of fly populations appears of limited efficacy and constitutes a non-sustainable approach, it is thus necessary to develop more environmental friendly control methods such as mass-trapping of females based on plant semiochemicals as a source of attractants. While several attractants for males are currently available (raspberry ketone and its derivatives ciselure and melolure), chemicals that attract females are limited to food-type attractants which lack of effectiveness, have limited field life, are difficult to handle and also attract non-target species (Jang & Light, 1996 ; Siderhurst & Jang, 2010). Attracting females is critical in population management because reducing female population by trapping prevents future offspring (Jacobson *et al.*, 1971). A comprehensive understanding of resource-foraging behavior (host finding and oviposition) of fruit fly females as well as the identification of chemical stimuli eliciting this behavior is therefore central for the development of effective trapping systems to monitor and /or control its population. Host fruit are of particular interest since some tephritid females preferentially use host fruit volatiles when searching for oviposition sites (Jang & Light, 1996 ; Light & Jang, 1996). Volatile fruit odors have been used successfully as attractants for the stenophagous apple maggot fly, *Rhagoletis pomonella* (Walsh) (Reissig *et al.*, 1985 ; Jones, 1988 ; Jones & Davis, 1989 ; Agnello *et al.*, 1990) and volatile fruit odors have been investigated as potential attractants for other oligophagous and polyphagous tephritid species (Robacker *et al.*, 1992 ; Nigg *et al.*, 1994 ; Prokopy & Vargas, 1996 ; Robacker & Heath, 1996 ; Warthen *et al.*, 1997 ; Prokopy *et al.*, 1998). As to *B. cucurbitae*, previous investigations have focused principally on female response to entire host fruit odor (cucumber, zucchini, bitter melon, kabocha, cantaloupe and ivy gourd) (Miller *et al.*, 2004 ; Piñero *et al.*, 2006). Few studies have identified volatile compounds which can be attractive for the females of the Melon fly. Jacobson *et al.* (1971) when evaluating the attractiveness of different derivatives of nonenyl acetates found that trans-6-nonen-1-ol acetate was attractive for the Melon fly female. More recently, Siderhurst *et al.* (2010) using coupled GC-EAD studies,

identified 31 compounds in fresh and aged puréed of cucumber that elicited EAD response of females, and found a synthetic nine-component blend attractive for Melon fly female in olfactometer and field tests. As Melon fly had a strong association with a variety of cucurbits, we investigated the volatile composition of many species within this plant-family (Atiama-Nurbel *et al.*, 2014 (in press)) (Atiama-Nurbel, unpub.data) and chose 10 volatile compounds (alcohols, aldehydes and a terpene) according to their occurrence in the odor bouquets within this family and the knowledge on their potential role in insect-plant interactions. The practical objective of this study was to find an attractant for Melon fly females based on volatile compounds of representative of the Cucurbitaceae family. For this, we evaluated the attractiveness of ten volatile compounds for *B. cucurbitae* females using olfactometry bioassays. Ten compounds (alcohols, aldehydes and a terpene) have been tested individually at two doses, and in blends of 2,3,4 and all individual-compounds.

Materials and Methods

Flies

The strains of reared flies used in the study, came from infested pumpkins, *Cucurbita maxima* D. (Cucurbitaceae) collected in June 2000 at three locations in La Réunion (Petite Ile, Bassin Martin, and Piton Saint-Leu). Adult flies obtained from these samples were reared under controlled conditions: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, $70 \pm 20\%$ RH, and a photoperiod of 12:12 (L: D) h. They were given free access to granulated sugar, enzymatic yeast hydrolysate (ICN Biomedicals, Aurora, OH), and water. Zucchini (*Cucurbita pepo* L.) (Cucurbitaceae) was used as an egg-laying substrate for the adult females and the larvae were fed with pumpkins. New cohorts of adult flies were reared in the same conditions but they were allowed no contact with host plant material and females had no prior ovipositional experience until the start of the bioassays. Flies were approximately 25-30 days old when tested and were presumed to be mated (95% of mated females were found in cages with adults of both sexes when 7 days old (Jang *et al.*, 1997)).

Chemicals

The ten chemicals tested were purchased from Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, USA). Compound purities were >98% based on GC-MS analysis. In all bioassays, chemical compounds were presented at a given dose (1 or 5 μL) on a cotton disc (Quilici *et al.*, 2013).

Experimental procedure

Laboratory olfactometers were used to evaluate the relative attractiveness of single compounds and blend of cucurbit volatiles. The one-arm olfactometers derived from the model previously described by (Katsoyannos *et al.*, 1980) were used to evaluate the relative attractiveness of single compounds and blends of cucurbit volatiles. It consists of a clear polycarbonate (Nalgene®, Thermo Scientific, New York) cylindrical tube (84 cm length and 11.5cm wide) divided into 3 consecutive chambers ended by a fan (4 x 4 x 2 cm, 12V, Sunon, China) providing an airstream (0.35 m s^{-1}) along the system. The first chamber (test chamber) containing the females is limited by a wire screen funnel leading to the second chamber (catch chamber) followed by the last chamber (bait chamber) containing the chemical applied on a cotton disk. The olfactometers were placed on a lab bench in a series of 4 units (3 with chemicals and 1 control) that operate simultaneously. Neon light strips on top of the four olfactometers provide an homogeneous light of 2000 lux.

In each olfactometer, 30 females were placed in the test chamber and then exposed to the tested chemical(s) for 1 hour. Females responding to the odor stream oriented themselves toward the odor source, landed on the wire-screen cone and were funneled into the catch chamber, where they were counted after 1 hour of exposure.

We first evaluated the attractiveness of 10 individual compounds at 2 doses (1 and 5 μl) for *B. cucurbitae* female. As a result of this first experiment, we decided to use the compounds at their optimal dose (ie the dose with significantly better response rates or minimal dose (1 μl) (when no significant difference)) for composing blends for further tests. Twelve different lures were composed: one blend with all the single compounds, one blend with the four single compounds with best female response and 10 other blends combining these last 4 compounds in two or three-component blends (**Table V-1**). In order to compare the relative attractiveness of blends, 1 μl of each blend was used in each olfactometer. The relative attractiveness of the 4 best individual compounds and of the 6 blends was compared with the attractiveness of a fresh cucumber cut in pieces (cucumber of 800 g, Var. ‘Vantage’, 35.6 x 7.9 cm). The amount of cucumber presented per olfactometer was 30g. Each treatment (single compounds, blends

and cucumber) was replicated nine times. Between replicates, all devices were washed in soapy water (TFD4, Dominique Dutscher SAS, Brumath, France).

Table V-1: Composition of the 12 blends

	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	B12
Nonanol	5µL	5µL	-	-	-	-	5µL	5µL	5µL	5µL	5µL	5µL
Z-Non-6-en-1-ol	1µL	1µL	1µL	-	1µL	1µL	1µL	1µL	-	-	1µL	-
Z-Non-6-enal	1µL	1µL	1µL	1µL	1µL	-	-	-	-	1µL	1µL	1µL
(E,Z)-Nona-2,6-dienal	1µL	1µL	1µL	1µL	-	1µL	1µL	-	1µL	-	-	1µL
Hexanol	1µL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Decanal	1µL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
E-Non-2-enal	1µL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nonanal	1µL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Limonene	1µL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Statistical analysis

All statistical analyses were done with R software (version 2.15.0, R Development Core Team, 2012, Vienna, Austria). For all tests, statistical significance was set at 5 %. In order to assess the optimal dose for each single compound, and to compare the relative attractiveness of single compounds and blends for *B. cucurbitae* female, we fitted a Generalized Linear Model with binomial distribution function and with logit link function. Factors considering in the model were the treatment (control or odor) and the dose (1 or 5µL). The significance of effects was tested by a likelihood ratio test based on Chi-squared test or by a Fisher-Snedecor test in the case of overdispersion. A Tukey's honestly significant difference (HSD) test was then performed to find which compounds or blends are significantly the most attractive.

Results

Single compounds

For each compound and whatever the dose tested, levels of female response were significantly higher for treatments than for control (p value < 0.05) (**Table V-2**). For five compounds (Z-6-nonenal, hexanal, (E,Z)-nona-2,6-dienal, decanal and (E)-non-2-enal), the dose had no influence on female response (p -value > 0.05). For these five compounds, as responses were comparable for the two doses, the minimal dose (1 μ L) was consequently chosen for subsequent experiments. However, for nonanal, (Z)-non-6-en-1-ol, limonene and hexanol, the female response to 1 μ L was significantly higher than for 5 μ L (Tukey's HSD, p -value < 0.05). The compound with significant best response with 5 μ L is nonanol (Tukey's HSD, p -value < 0.05) (**Table V-2**).

Table V-2: Values of likelihood ratio test on generalized linear models for factors dose and control based on Chi-squared test (control: $df_1 = 1$, $df_2 = 22$; dose: $df_1 = 1$, $df_2 = 21$) for 9 compounds, or on Fisher test (control: $df_1 = 1$, $df_2 = 22$; dose: $df_1 = 1$, $df_2 = 21$) for one compound.

	Control		Dose	
	P	χ^2	P	χ^2
Nonanal	< 0.001 ***	52.08	< 0.05 *	5.87
(Z)-non-6-enal	< 0.001 ***	73.37	0.09 NS	2.81
Hexanal	< 0.001 ***	33.09	0.10 NS	2.64
(E,Z)-Nona-2,6-dienal	< 0.001 ***	101.25	0.27 NS	1.23
Decanal	< 0.05 *	6.02	0.42 NS	0.64
E-2-nonenal	< 0.001 ***	41.60	0.09 NS	2.87
Z-6-nonen-1-ol	< 0.001 ***	79.08	< 0.01 **	6.81
Hexanol	1.02e-08 ***	32.80	< 0.001 ***	15.94
Limonene	1.60e-03 **	9.97	< 0.01 **	6.89

	Control		Dose	
	p -value	F	p -value	F
Nonanol	<0.001 ***	113.35	0.04 *	14.29

N= 9; * = p -value < 0.05; ** = p -value < 0.01; *** = p -value < 0.001; NS = non-significant

Table V-3, presents the single compounds at 2 doses, classified from the most attractive to the less attractive. The comparison of single compounds attractancy at optimal doses, revealed that female response to single compounds varied according to the chemical tested ($\chi^2 = 170.75$; $df_1 = 9$; $df_2 = 80$; $p\text{-value} < 0.001$). The response of females to nonanol at 5 μ L was significantly higher than those of hexanol, nonanal, (*E*)-non-2-enal, hexanal, limonene, and decanal (Tukey's HSD, $p < 0.05$) but was not significantly different to those of (*Z*)-non-6-en-1-ol, (*Z*)-non-6-en-1-ol and (*E,Z*)-nona-2,6-dienal (Tukey's HSD, $p = 0.2$). Single compounds with the highest attractiveness were nonanol, (*Z*)-non-6-en-1-ol, (*Z*)-non-6-en-1-ol and (*E,Z*)-nona-2,6-dienal. Responses to (*Z*)-non-6-en-1-ol, to (*Z*)-non-6-en-1-ol and to (*E,Z*)-nona-2,6-dienal were not significantly different and also not different to those to hexanol, nonanal and (*E*)-non-2-enal (Tukey's HSD, $p > 0.05$), but were significantly higher than those to hexanal, limonene and decanal (Tukey's HSD, $p < 0.01$). Responses to hexanol, nonanal and (*E*)-non-2-enal were not significantly different and also not different to the response to hexanal (Tukey's HSD, $p > 0.05$), but were significantly higher than those to limonene and decanal (Tukey's HSD, $p < 0.01$). Finally, on the one hand responses to hexanal and limonene, and on the other hand responses to decanal and limonene were no significantly different (Tukey's HSD, $p > 0.05$). However difference between hexanal and decanal was not significative (Tukey's HSD, $p = 0.03$).

Table V-3: Attractiveness of 10 volatile compounds for *Bactrocera cucurbitae* female at 2 doses (1 and 5 µl) in olfactometer bioassays

Compound	Dose (in µl)	Mean female response (%) ± SE
Nonanol*	5	48.89 ± 4.48 a
(E,Z)-2,6-Nonadienal	5	42.59 ± 3.76
(Z)-Non-6-en-1-ol*	1	41.48 ± 3.38 ab
(Z)-Non-6-enal*	1	40.00 ± 2.94 ab
(E,Z)-2,6-Nonadienal*	1	37.78 ± 4.30 ab
Hexanol*	1	32.59 ± 3.41 bc
Nonanol	1	32.59 ± 6.47
(Z)-Non-6-en-1-ol	5	31.85 ± 4.24
(Z)-Non-6-enal	5	30.00 ± 3.24
Nonanal*	1	29.26 ± 3.41 bc
(E)-Non-2-enal*	1	29.26 ± 3.72 bc
(E)-Non-2-enal	5	22.59 ± 2.65
Hexanal*	1	21.85 ± 4.31 cd
Nonanal	5	20.00 ± 3.64
Hexanol	5	17.04 ± 3.07
Hexanal	5	16.14 ± 2.04
Limonene*	1	15.93 ± 1.99 de
Decanal*	1	11.11 ± 2.00 e
Decanal	5	8.89 ± 1.92
Limonene	5	8.15 ± 2.09
Control	-	4.70 ± 0.21

*Optimal doses chosen by likelihood ratio test based on χ^2 test: dose with significantly better response rates or minimal dose (1µl) (when no significant difference)

For optimal doses, different letters represent significant differences ($P < 0.05$) between the female response (likelihood ratio test χ^2 , followed by Tukey's HSD)

Blends of compounds

We compared the female responses to different treatments: the 4 single compounds with best responses, 12 different blends and fresh cucumber odor (**Figure V-1**). The likelihood ratio test revealed a significant difference in female response between treatments ($\chi^2 = 140.56$; $df_1 = 16$; $df_2 = 136$; p -value < 0.001). Blends B1, B2 and B6 were significantly more attractive to females (Tukey HSD, $p < 0.05$) than single compounds and were not significantly different than cucumber odor. The blend B2 composed of the 4 best single compounds was not significantly different than B1 (complete blend with the 10 single compounds at their optimal doses); this result underlines the limited contribution to the blend attractancy of hexanol, hexanal, decanal, (*E*)-non-2-enal, nonanal and limonene. The blend B6 ((*Z*)-non-6-en-1-ol and (*E,Z*)-nona-2,6-dienal) was not significantly different than B1, B2 and cucumber odor. The response to blend B3 (B6 + (*Z*)-non-6-enal) was not significantly different to those of B1, B2, B4, B5, B6 and to those of nonanol, (*Z*)-non-6-en-1-ol and (*Z*)-non-6-enal (Tukey HSD, $p > 0.05$), but were significantly lower than the response to cucumber odor (Tukey HSD, $p < 0.05$). The response to blend B5 ((*Z*)-non-6-enal and (*Z*)-non-6-en-1-ol,) was not significantly different to those of all other blends and to those of 4 single compounds (Tukey HSD, $p > 0.05$), but were significantly less attractive than cucumber odor (Tukey HSD, $p < 0.05$). The response to blend B4 ((*Z*)-non-6-enal and (*E,Z*)-nona-2,6-dienal) was not significantly different to those of B3, B5 and to those of 4 single compounds (Tukey HSD, $p > 0.05$), but were significantly less attractive than cucumber odor (Tukey HSD, $p < 0.05$). Fresh cucumber was not significantly different than blends B1, B2 and B6 (Tukey HSD, $p > 0.05$) and significantly more attractive than other blends and single compounds (Tukey HSD, $p < 0.05$). Addition of nonanol decreased significantly the female response when it is added to (*Z*)-non-6-en-1-ol, B5 and B4, but have no significant effect on attract in addition to (*E,Z*)-nona-2,6-dienal and (*Z*)-non-6-enal. Moreover, nonanol added to B6 and B3, had no effect on their attractiveness.

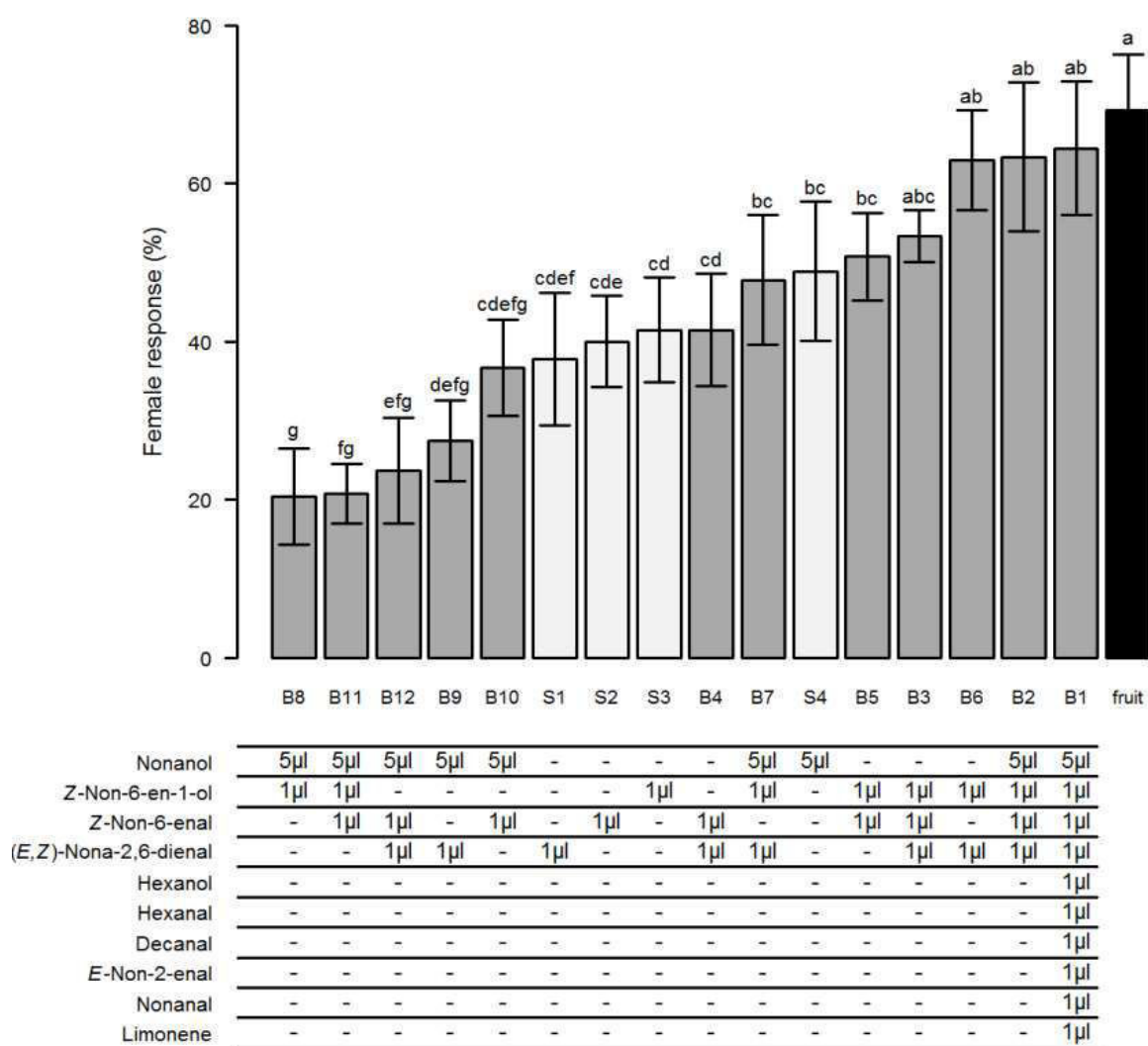


Figure V-1: Mean response ($\pm$ confidence interval) (%) of *Bactrocera cucurbitae* female to 4 single volatile compounds (S1, S2, S3, S4, in light grey), to 12 blends of volatile compounds (B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8, B9, B10, B11, B12 in dark grey) from cucurbits and to fresh cucumber odor (30g, in black) in olfactometer bioassays.

Positive control (fruit) was made with fresh cucumber odor. Bars followed by different letters are significantly different (Tukey's HSD test, $P < 0.05$).

Discussion

Finding a suitable host on which to oviposit is crucial for reproduction of all phytophagous insects (Thompson & Pellmyr, 1991), and olfaction plays an important role in enabling the host plants insect recognition at distance (Dethier, 1982 ; Visser, 1986 ; Bernays & Chapman, 1994). Recent studies have suggested that host recognition depends on blends or ratios of volatiles emitted rather just the presence or absence of individual compounds ((Bruce *et al.*,

2005 ; Bruce & Pickett, 2011). However, in our study, we showed that single compounds elicited a significant response of Melon fly female. This attraction can be modulated by the dose: among the 10 volatile compounds tested, 5 compounds elicited dose-dependent responses in females of *B. cucurbitae*, with four of them showing a better response with the lowest dose tested (1 μ l). To our knowledge, this is the first report of a dose-dependent response of Melon fly female for single volatile compounds, previous studies having focused on dose variation in a mixture. A dose-dependent response to α -farnesene was demonstrated for the female of *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera, Tortricidae), which was attracted at low dose but repelled at higher doses (Wearing & Hutchins, 1973 ; Hern & Dorn, 1999). In the present study, two doses have been tested; in further studies, it will be interesting to test doses of a larger range to determine dose-thresholds of attractancy and repellency and thus to more precisely evaluate the optimal doses for response. We demonstrated the existence of single compounds attractancy for *B. cucurbitae* females as shown by Siderhurst et al (2010) for different aldehyde and alcohol compounds. We here identified four single compounds (nonanol, (Z)-non-6-en-1-ol, (Z)-non-6-en-1-ol and (E,Z)-nona-2,6-dienal) as potentially important in female attraction, with a level of response reaching 32 %. These four compounds have not been reported previously in studies on other Tephritidae except in Hawaii where none of them is however the best single compound attractant for Melon fly females, which is 1-octen-3-ol and (Z)-non-6-en-1-ol (Siderhurst & Jang, 2010). Even if single compounds attractancy can occur, some studies on other insect species proved that blends are crucial for obtaining positive behavioral responses (Visser & Avé, 1978 ; Webster *et al.*, 2010). Furthermore many experiments in which insects have been exposed to plant volatiles alone and in combination have revealed that stronger behavioral responses are obtained with appropriate blends or combinations of volatiles than with single (Robacker *et al.*, 1992 ; Honda *et al.*, 1998 ; Alagarmalai *et al.*, 2009 ; Riffell *et al.*, 2009 ; Siderhurst & Jang, 2010). It was typically what we observed in some cases of our study: B1, B2 and B6 had a better female response than the best single compound S4. In this study, antagonist effects of some compounds were also observed. Indeed, some single-component showed better female response than blends. For example, attractiveness of blend B8, composed by nonanol and (Z)-non-6-en-1-ol, was significantly lower than those of single-component. These results underline the importance of an appropriate volatiles combination in the blend and also the potential importance of component-ratios. By comparing relative attractiveness of different blends with fresh cucumber odor, 4 blends were as attractive as cucumber odor. Freshly sliced cucumber was used as a positive control because it is highly attractive for Melon fly females (Miller *et al.*, 2004 ; Piñero *et al.*, 2006 ; Atiama-Nurbel, 2014). The ten-component blend

(with all compounds) was as attractive as the four-component blends (with the best attractive single compounds), as the three-component blend ((*Z*)-non-6-en-1-ol, (*E,Z*)-nona-2,6-dienal and (*Z*)-non-6-enal) and as also the two-component blend ((*Z*)-non-6-en-1-ol and (*E,Z*)-nona-2,6-dienal). These results suggest that among the 4 best compounds, nonanol and (*Z*)-non-6-enal were less useful in the attractancy of the females. Though it is usually assumed that the number of components used for host recognition by an insect is in the range of 3–10 compounds which are key for host recognition (Bruce and Pickett, 2011), our study underlines that a two-component blend can be determinant and sufficient to attract females just as well as a ten-component blend and furthermore as a natural host plant. Study on another Tephritidae showed similar results, field traps for *Anastrepha obliqua* (Macquart) baited with a two-component blend showed similar capture levels as trap baited with a nine-component blend (Toledo *et al.*, 2009). These results highlights the fact that it is not always necessary to produce a complex mimicking the host plant volatile composition but that a correct level of attraction may be obtained with a simple blend composed of a few well-selected compounds under a specific ratio. Evidence to support this comes from pioneering studies with the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera, Chrysomelidae), which showed that subtle alterations in the ratio of the green leaf volatiles (*E*)-hex-3-en-1-ol, (*E*)-hex-2-en-1-ol, (*Z*)-hex-2-en-1-ol and (*E*)-hex-2-enal had a significant impact on host location, suppressing the attraction to the host plant when presented in an unnatural ratio (Visser & Avé, 1978).

The two-component blend which gave promising results in our study is composed of a nine-carbon alcohol ((*Z*)-non-6-en-1-ol) and a nine-carbon aldehyde ((*E,Z*)-nona-2,6-dienal) in a 1:1 ratio. These oxygenated compounds are produced by the enzymatic breakdown of linolenic and linoleic acids, initiated by plant-tissue damage, via the lipoxygenase (LOX) pathway (Hornostaj & Robinson, 1999 ; Feussner & Wasternack, 2002), that was not previously shown to elicit electrophysiological responses from Tephritidae except from *B. cucurbitae* (Siderhurst & Jang, 2010). However, some LOX pathways derivatives, or close analogs, have been considered as melon fly attractants following some bioassays. One of these, (*E*)-non-6-enyl acetate, attracts Melon fly female (Jacobson *et al.*, 1971) as well as stimulating their oviposition (Keiser *et al.*, 1973). Other compounds, including (*Z*)-hex-3-en-1-ol and (*E*)-hex-2-enal, are prominent in extracts of bittermelon, *Momordica charantia* L., and attract adults of *B. cucurbitae* (Binder *et al.*, 1989). The two-component blend is characterized by (*Z*)-non-6-en-1-ol which is specifically found in cucurbits such as fresh and fermented cucumber and in melon (Kemp *et al.*, 1974 ; TNO-CIVO, 1989 ; Zhou &

McFeeters, 1998), and by (*E,Z*)-nona-2,6-dienal which is found in different fruits: cucumber, melon, sweet and sour cherry, guava and mango (TNO-CIVO, 1989). Despite its strong preference for cucurbits, *B. cucurbitae* were also recorded on many other host-species (Dhillon *et al.*, 2005) such as guava and mango, the presence of the latter volatile compound in these fruits may potentially contribute to attract female toward them.

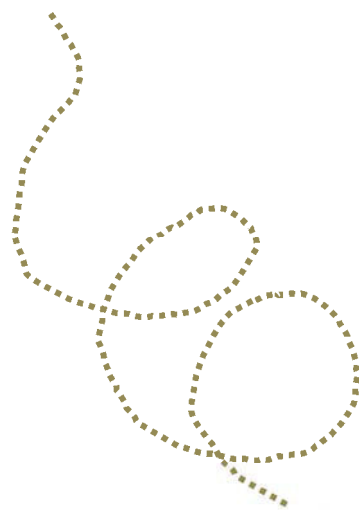
Although our approach showed the attraction of several blends and particularly a two-component blend for females of *B. cucurbitae*, further studies will be necessary to confirm their attractiveness under field conditions. These experiments may also examine their eventual attractiveness for others species of Tephritidae (*Dacus ciliatus* Loew and *Dacus demmerezii* Bezzi) prejudicial to cucurbit crops in La Réunion. For this, further refinement of blend ratios, of formulation modalities and association with visual stimuli in trapping systems will be required. These field tests could be conducted over several seasons and crop cycles in order to improve field application strategy to overcome the competition with the background of natural host-fruit chemicals. As physiological age and other factors can influence fly perception and attraction to host odor (Brévault & Quilici, 1999), measuring their effects on the attractiveness of these synthetic blends could provide information to tailor the attractants for monitoring or control.

This two-component blend ((*Z*)-Non-6-en-1-ol and (*E,Z*)-nona-2,6-dienal) appears as a promising source of attractants for Melon fly females and will be a good candidate to improve trapping systems for this species. It might improve the main control method for this species, based on food attractants, by providing an efficient and handy alternative, with a longer duration and a better specificity regarding non-target species.

Aknowledgements

We thank Marie-Ludders Moutoussamy, Cédric Ajaguin-Soleyen, Jim Payet, Serge Glénac and Antoine Franck for rearing the flies and for their assistance during the experiments. We also thank Frédéric Chiroleu and Sandrine Le Squin for statistical counseling, and Pierre-Francois Duyck for correction. This research was supported by CIRAD, by Regional council of La Réunion and The French Ministry of Agriculture and Fisheries.

Discussion générale & Conclusion



Discussion générale



En préambule, le lecteur est averti que cette discussion générale ne se propose pas de rappeler tous les résultats du travail de thèse qui sont déjà discutés dans les différents chapitres. La discussion traite, de manière transversale, de l'importance des composés volatils de fruits dans le processus de localisation de l'hôte et dans la spécialisation écologique. Elle met également en perspective les éléments de l'utilisation pratiques de ces composés dans de futurs systèmes de piégeage.

I. La composition chimique des effluves de fruits : un stimulus clé dans la localisation de l'hôte

La localisation de la plante-hôte constitue une étape essentielle de la stratégie adaptative des insectes phytophages (Schoonhoven *et al.* 2005). Chez les espèces, dont les adultes n'ont pas les mêmes ressources alimentaires que leurs larves, la capacité de la femelle à localiser, puis à reconnaître, la plante appropriée au développement de ses larves, est primordiale pour le succès de la descendance. Les femelles de *B.cucurbitae* se sont montrées réceptives aux effluves des fruits de Cucurbitaceae. Leur réponse à ces effluves s'est avérée néanmoins différente selon le fruit-hôte présenté et selon son stade de maturité. La hiérarchie dans le niveau de réponse révèle notamment que la nature de ces effluves est discriminante dans le processus d'attraction des femelles vers le fruit-hôte. Ainsi, les effluves de fruits-hôtes constituent une composante essentielle dans le processus de rapprochement des femelles vers leur site de ponte. Pour d'autres espèces de Tephritidae, spécialistes et même généralistes, l'importance des odeurs de fruits dans les mécanismes de localisation a été démontrée (Jang & Light, 1996 ; Light & Jang, 1996). Ainsi, chez deux espèces oligophages comme la Mouche de la pomme *Rhagoletis pomonella* (Aluja & Prokopy, 1993) et la Mouche de la tomate *Neoceratitis cyanescens* (Brévault, 1999 ; Brévault & Quilici, 2010a, b), il a été démontré que les femelles détectent l'habitat de l'hôte grâce à l'information olfactive fournie par des composés volatils des fruits-hôtes. Des résultats similaires ont été mis en évidence pour l'espèce polyphage *Ceratitis capitata* pour laquelle une forte attraction des femelles vers les drupes mûres de café a été observée (Prokopy & Vargas, 1996 ; Prokopy *et al.*, 1997). Pour les deux espèces oligophages *R. pomonella* et *N. cyanescens*, après l'arrivée dans l'habitat de l'hôte, la localisation à courte distance des fruits s'effectue surtout à partir des

caractéristiques visuelles (Aluja & Prokopy, 1993 ; Brévault & Quilici, 2007). Pour *B. cucurbitae*, les stimuli visuels (forme et couleur) se sont montrés déterminants dans la recherche de site de ponte. Dans une récente étude (Xue & Wu, 2013), les femelles ont montré une préférence pour le vert chartreuse à 540 nm (valeurs RVB de 129 : 255 : 0). La combinaison de leurres hémisphériques de couleur jaune, imprégnés d'odeur de concombre, permet d'attirer plus de femelles que des pièges présentant individuellement les deux types de stimuli (Piñero *et al.*, 2006). Ceci confirme l'existence d'un effet synergique des stimuli olfactifs et visuels dans le processus de la localisation de fruits-hôtes.

Par le biais de différentes expérimentations conduites en cages de comportement mais aussi en olfactomètre, les effluves de fruits-hôtes pouvant être actifs à moyenne et à courte distance ont été déterminés. Tout d'abord, dans les tests en olfactomètre, les femelles se déplacent contre le flux d'air et se dirigent vers la source d'odeur en amont. Cette réaction d'anémotaxie positive conditionnée par l'odeur est particulièrement courante chez les Tephritidae (Fletcher & Prokopy, 1991). De plus, ces effluves sont importants dans les mécanismes de reconnaissance à courte distance, puisqu'ils sont reconnus et discriminants dans les tests en cages de comportement n'impliquant qu'une diffusion passive des odeurs de fruits. Ainsi, il est probable que ces effluves de fruits-hôtes soient déterminants dans la phase de localisation de l'habitat mais également dans le processus de recherche de fruits-hôtes dans des aires plus réduites. Peu de connaissances sur les distances d'attraction des composés volatils de plantes sont connues, les travaux sur le champ d'action des médiateurs chimiques concernent majoritairement les phéromones (Wall & Perry, 1987). Des études concernant d'autres insectes phytophages ont montré que les kairomones peuvent avoir des rayons d'attraction de l'ordre de 10 à plus de 20 m (Evans & Allen Williams, 1993 ; Braasch & Kaplan, 2012). Il serait donc intéressant d'estimer au champ à quelle distance les effluves de Cucurbitaceae peuvent être actifs pour les femelles de *B. cucurbitae*.

Les effluves de fruits-hôtes délivrent un premier message permettant à la fois aux femelles d'atteindre l'habitat et de reconnaître les plantes-hôtes parmi les non-hôtes. L'interaction avec les stimuli visuels (forme et couleur) permet ensuite d'affiner le processus de découverte du fruit-hôte. La sélection finale du fruit-hôte passe par une phase de contact, qui consiste en l'exploration du fruit par la femelle, par une marche sur sa surface, en prenant en compte de nombreux facteurs incluant la forme, la taille, la couleur, la texture de la surface et l'odeur du fruit, ainsi que d'autres stimuli chimiques laissés lors de précédentes ovipositions par des femelles de la même espèce ou d'autres espèces (Fletcher & Prokopy, 1991). Quand les

informations sensorielles recueillies pendant l'évaluation au contact sont jugées positives par le système nerveux central, l'acceptation, c'est-à-dire la décision finale du processus de sélection de l'hôte, est confirmée et l'oviposition peut démarrer. A notre connaissance, peu d'études font état de description des préférences d'oviposition des femelles de *B. cucurbitae*, comme cela existe par exemple pour *N. cyanescens* (Brévault & Quilici, 2009). Si les données des travaux de thèse de Vayssières (1999) renseignent sur la préférence des femelles pour certains stades de maturité d'un fruit donné, il est nécessaire de préciser la hiérarchie dans la préférence des fruits-hôtes comme sites de pontes. Ainsi, la connaissance de la part des stimuli olfactifs dans le choix final de l'hôte est difficile à estimer. Une perspective intéressante serait de caractériser, pour cette même gamme de fruits-hôtes, les préférences de ponte des femelles. Ceci permettrait de comprendre plus globalement le comportement de « sélection » de l'hôte, allant des processus de localisation par des stimuli olfactifs et visuels, à la reconnaissance au contact.

II. La composition chimique des effluves de fruits : quel rôle dans la spécialisation d'hôtes ?

La spécialisation écologique correspond au processus par lequel une espèce augmente sa performance dans une faible proportion des environnements qu'elle exploite (Poisot *et al.*, 2011). Ce phénomène a des implications profondes à la fois d'un point de vue évolutif et d'un point de vue écologique. Le degré de spécialisation des espèces vis-à-vis de leurs ressources affecte leurs distributions géographiques ainsi que leurs capacités à coexister et donc, de façon plus large, détermine en grande partie la richesse et la nature des patrons de biodiversité que l'on observe au sein des écosystèmes (Futuyma, 2001). La relation étroite entre les insectes phytophages et leurs plantes-hôtes a fait l'objet de nombreux travaux sur la compréhension des phénomènes de spécialisation. Ces travaux ont permis de démontrer que les espèces spécialistes et généralistes se distribuent sur un continuum de patrons d'utilisation de ressources et que le degré de spécialisation pour la ressource observée correspond davantage à un attribut flexible d'une population en réponse aux conditions particulières rencontrées au sein de sa communauté, qu'à un attribut de l'espèce sur toute son aire de répartition (Fox & Morrow, 1981). La spécialisation est notamment déterminée par la sélection des plantes-hôtes par les femelles (localisation et acceptation) et la performance larvaire au sein de ces hôtes. L'approche mise en place dans notre travail, n'ayant pas évalué l'ensemble des paramètres de ce phénomène, permet néanmoins d'apporter des éléments sur

l'implication des stimuli dans les phénomènes de spécialisation. A partir des résultats disponibles sur *B. cucurbitae* et ceux décrits dans la littérature pour d'autres Tephritidae, il sera possible d'avoir une vision globale du phénomène de spécialisation chez cette espèce, au niveau interspécifique et au niveau intraspécifique.

- ***Des spécialistes de la famille des Cucurbitaceae ?***

Dans de nombreuses régions du monde, la gamme de plantes-hôtes de *B. cucurbitae* est plus large qu'à La Réunion : 125 espèces de plantes réparties en trois familles (Cucurbitaceae, Passifloraceae et Solanaceae) (Metcalf & Metcalf, 1992). En effet, à La Réunion, cette espèce a un régime relativement plus spécifique, infestant particulièrement les Cucurbitaceae, avec quelques rares attaques sur les Passifloraceae (Vayssières, 1999 ; Ryckewaert *et al.*, 2010). Si cette espèce de mouches est inféodée aux fruits d'autres familles ailleurs dans le monde, cela implique une capacité de la femelle à reconnaître les stimuli olfactifs venant de ces fruits. Or, ces espèces de fruits ne sont pas recensées comme hôtes de *B. cucurbitae* à La Réunion. Sachant que *B. cucurbitae* a été introduite assez récemment sur l'île (Etienne, 1982), on pourrait envisager que les femelles, suite à des pressions de compétition pour la ressource avec *N. cyanescens* pour la tomate, et avec les nombreuses espèces de *Ceratitis* pour les fruits (Ryckewaert *et al.*, 2010), se soient limitées à des fruits plus disponibles et pour lesquels son pouvoir de compétition vis-à-vis d'autres espèces est meilleur. Jacquard (2012) a notamment montré sur des Cucurbitaceae qu'en présence d'autres espèces de Tephritidae (*D. demmerezi* et *D. ciliatus*), *B. cucurbitae* possède une meilleure capacité de développement. Néanmoins, on peut se demander quels sont les mécanismes sous-jacents à cette spécialisation envers cette famille de plantes. Il est possible que la perception olfactive se soit modifiée, suite aux conditions de ressource limitées, favorisant ainsi la prévalence d'individus spécialistes des Cucurbitaceae. En revanche, il serait intéressant de savoir si ces changements de comportements ont été moteurs de changements génétiques importants. En effet, des études génétiques basées sur la variabilité de dix séquences microsatellites ainsi que deux gènes mitochondriaux montrent l'existence d'une population différente à La Réunion, par rapport à celle d'Asie et d'Afrique (Jacquard *et al.*, 2013).

- ***Des spécialistes de certaines espèces de la famille des Cucurbitaceae ?***

La capacité des femelles de *B. cucurbitae* à discriminer des fruits-hôtes, en fonction de la composition chimique de leurs effluves, laisse présager que les effluves des fruits constituent un facteur important dans la reconnaissance des différentes espèces hôtes. On peut alors se demander quelle relation existe entre le choix de certains signaux par les femelles et la survie de leur descendance ?

Dans notre cas, seule une partie du comportement de préférence de la femelle a été évaluée : la réponse aux stimuli olfactifs des fruits. Cependant, il manque des informations sur l'implication du visuel et des stimuli liés au contact dans le choix final du fruit que la femelle choisit comme site de ponte. De plus, pour l'espèce étudiée, si de réelles données sur les performances larvaires ne sont pas disponibles, il existe plutôt des données de terrain sur les émergences à partir de différents fruits (Mwatawala *et al.*, 2010 ; Jacquard, 2012). Ces données d'émergence reflètent à la fois la préférence des femelles et la performance larvaire dans des conditions naturelles, c'est-à-dire sous l'influence de compétiteurs inter et intra-spécifiques. Les données acquises dans la présente étude et les données d'émergence à partir de fruits-hôtes collectés au terrain (Mwatawala *et al.*, 2010 ; Jacquard, 2012), permettent d'évaluer exclusivement la part des stimuli olfactifs dans cette spécialisation d'hôtes. Ainsi, en comparant avec les travaux de Mwatawala *et al.* (2010), la hiérarchie dans le niveau de réponse aux effluves de fruits de Cucurbitaceae de cette étude s'avère assez proche de la hiérarchie des taux d'émergence de *B. cucurbitae* dans les mêmes espèces de fruits : *Cucumis melo* > *Cucumis sp.* > *Momordica charantia* > *Luffa acutangula* > *Cucurbita moschata* > *Citrullus lanatus* > *Lagenaria siceraria* (Mwatawala *et al.*, 2010). En revanche, la comparaison avec les travaux de Jacquard (2012) ne permet pas d'établir de bonnes corrélations. Ces fruits, considérés comme de bons hôtes dans son étude, ne bénéficient pas dans cette étude des meilleurs niveaux d'attraction des femelles. De plus, le concombre, dont les effluves sont très attractifs, est, en été comme en hiver, un hôte moins attaqué dans les parcelles étudiées. Ces comparaisons sont toutefois à considérer avec beaucoup de prudence, du fait des conditions d'échantillonnage restreintes aux cycles de cultures et à des stades de maturité de fruits hétérogènes.

La préférence décelée à partir de stimuli olfactifs n'est peut-être pas forcément corrélée à une performance en tant que bon fruit-hôte *in situ*. Il serait possible que cette non-coïncidence soit due à une disponibilité d'hôtes restreinte conditionnant ainsi le choix des femelles, et

également à des critères propres au fruit ne permettant pas un bon développement larvaire (Thompson, 1988 ; Mayhew, 2001). Plus largement, il est possible d'envisager que les adaptations des comportements impliqués dans la sélection soient sujetes à des processus évolutifs plus rapides que les adaptations des larves à des modifications de leurs ressources (Jaenike, 1978, 1990). Néanmoins, il serait nécessaire de caractériser pour la gamme de fruits-hôtes de la présente étude les performances larvaires associées, afin de comprendre si la préférence des femelles de *B. cucurbitae* est positivement corrélée à la performance larvaire. *A priori*, les espèces à tendance oligophage présentent une assez bonne corrélation entre la préférence des femelles et la performance larvaire, alors que les espèces polyphages, comme *C. capitata*, montrent plutôt une absence de corrélation positive entre ces deux mécanismes (Joachim-Bravo & Zucoloto, 1997). *Bactrocera cucurbitae*, par son statut d'espèce envahissante, est confrontée à de nouvelles associations avec des plantes-hôtes et, de ce fait, ne choisit pas nécessairement les meilleurs fruits pour la survie de sa descendance.

- ***Des spécialistes d'un stade de maturité particulier ?***

A partir des réponses aux stimuli des fruits de différents stades de maturité, certains stades se sont avérés plus particulièrement attractifs. Parmi les 27 fruits testés, 26 montrent, selon le stade de maturité considéré, des différences dans l'attraction des femelles (excepté le concombre 'antilla'). Pour 18 des fruits testés, l'odeur des fruits jeunes, constitue le stimulus le plus performant pour attirer les femelles de *B. cucurbitae*. Une forte réponse des femelles aux effluves de fruits jeunes (verts) de bringellier (*Solanum mauritianum* Scop.) a été également montrée chez *N. cyaneescens* (Brévault, 1999). Cette attraction des stades les plus jeunes est en accord avec les observations de terrain de Vayssières (1999), recensant ce stade pour certaines Cucurbitaceae, comme préférentiellement attaqué. Ainsi, la corrélation entre la forte tendance des fruits jeunes à être attaqués sur le terrain (Vayssières, 1999) et la forte attractivité des effluves émis par ces fruits en laboratoire, nous indique que la part des stimuli olfactifs dans la sélection de l'hôte par la femelle de *B. cucurbitae* est prépondérante pour ces fruits. Cependant, pour d'autres fruits, un stade de maturation plus avancé est nécessaire pour une meilleure réponse des femelles à leurs effluves. D'autres études sur des Tephritidae montrent que, dans certains cas, les réponses aux effluves de fruits mûrs sont plus importantes que celles obtenues sur des fruits jeunes (Syed, 1969 ; Brévault, 1999 ; Alyokhin *et al.*, 2000 ; Kamala Jayanthi *et al.*, 2012). Cette réponse aux odeurs de fruits mûrs peut être expliquée par le mécanisme suivant : si ces fruits mûrs ne constituent pas toujours des fruits qui hébergeront

les pontes, en revanche leurs effluves mieux perçus à longue distance peuvent constituer un bon indicateur de la présence de l'hôte. Selon Vet *et al.* (1995), la valeur informationnelle de ces stimuli « indirects » dépend de deux facteurs : (i) leur fiabilité dans l'indication d'hôtes disponibles et (ii) leur facilité à être détectés. Dans les cultures de Cucurbitaceae, on peut trouver notamment des fruits à différents stades de maturité sur des plants voisins voire sur un même plant. Les fruits mûrs constituent vraisemblablement de meilleurs messagers chimiques que les fruits jeunes, ces derniers étant très peu odorants. En répondant, à longue distance, à des parfums de fruits mûrs, les femelles augmentent leurs chances de détecter l'habitat et orientent ainsi leur choix final vers les fruits au stade de maturité favorable à la ponte et au développement des larves.

III. Rôle de certains composés dans l'attraction des femelles

Dans les parties précédentes, l'importance des effluves de fruits-hôtes dans le processus de sélection des fruits-hôtes par les femelles de *B. cucurbitae* ainsi que dans les processus de spécialisation a été précisée. Ces effluves sont en réalité un ensemble de composés volatils qui sont émis par les fruits-hôtes (Dudareva *et al.*, 2006) et elles constituent ainsi des messagers chimiques dans le processus de localisation de ceux-ci (Bruce *et al.*, 2005). Au sein de la famille des Cucurbitaceae (27 fruits différents), il existe une réelle chimiodiversité des composés volatils émis, avec près de 280 composés différents identifiés. Cette famille est très hétéroclite d'un point de vue des profils d'émission des fruits et ce constat est amplifié lorsqu'on considère leurs différents stades de maturité. Les différences observées dans les profils d'émission en fonction des fruits et de leur stade de maturité peuvent ainsi expliquer la hiérarchie des niveaux de réponse des femelles aux effluves. Les femelles de *B. cucurbitae* sont donc capables de percevoir ces différences et de les utiliser comme des facteurs de sélection des fruits-hôtes les plus adaptés. Quels sont précisément les facteurs permettant aux femelles de reconnaître tous ces fruits comme des hôtes et d'en faire une sélection hiérarchisée ?

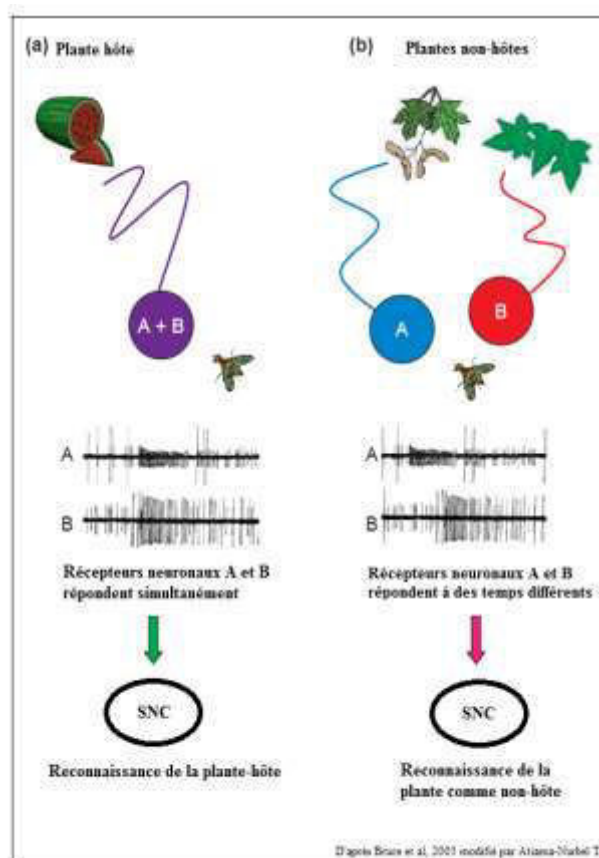
Apporter une réponse complète à cette question est complexe, car l'ensemble des éléments nécessaires à l'élucidation des mécanismes impliqués n'est pas disponible, mais deux hypothèses peuvent être avancées.

➤ Dans la *première hypothèse*, les composés potentiellement utilisés par les femelles pour caractériser les Cucurbitaceae pourraient être ceux que l'on retrouve très fréquents dans l'analyse des profils d'émission des fruits. Dans cette étude, ce sont : l'hexanal, l'éthanol, l'hexanol, le limonène, l'acétate d'éthyle, le (3Z)-hex-3-én-1-ol, le 2,4-diméthylheptane, le 4-méthyl-octane, le (E)-caryophyllène, le 4,8-diméthylnona-1,3,7-triène, l'oct-1-én-3-ol, le nonanal et le 2-méthylpentane. Ces composés sont également présents chez d'autres familles de plantes, comme par exemple le limonène retrouvé dans 75% des émissions florales de 991 espèces de plantes à fleurs (Knudsen *et al.*, 2006). Comment les femelles de *B. cucurbitae* font-elles, dans un habitat rempli de diverses espèces végétales, pour utiliser ces composés comme facteurs à la fois caractéristiques des fruits-hôtes de Cucurbitaceae et discriminants par rapport à d'autres plantes-hôtes ? Pour répondre à cette question deux explications, non exclusives, peuvent être données :

- (i) la femelle perçoit ces odeurs de Cucurbitaceae selon des rapports de concentration des composés du bouquet qui donnent l'identité du message et déclenchent l'orientation à distance (Visser & Nielsen, 1977 ; Thiéry & Visser, 1986 ; Thiéry & Visser, 1987 ; Bruce *et al.*, 2005 ; Bruce & Pickett, 2011) ;
- (ii) la femelle perçoit ces odeurs de plantes comme des mélanges de composés par une stimulation simultanée des récepteurs neuronaux, alors que ces mêmes composés issus d'autres plantes non-hôtes sont perçus de manière asynchrone par les récepteurs (Bruce *et al.*, 2005) (**Figure VI- 1**).

Figure VI-1. Coïncidence de détection des récepteurs neuronaux.

Les récepteurs neuronaux spécifiques aux composés A et B répondent lorsque chaque composé est détecté. Les enregistrements à partir des récepteurs neuronaux montrent deux scénari : dans le (a), les récepteurs A et B sont stimulés en même temps, alors que dans le (b), ils sont stimulés à des temps différents. A cause de cet effet temporel, le système nerveux central (SNC) peut déterminer si les composés A et B sont émis dans la même plume d'odeur (i.e. d'une plante-hôte).



- Dans la *seconde hypothèse*, étant donné les forts degrés d'attraction des femelles pour certaines espèces de Cucurbitaceae, il est probable que ces espèces émettent des composés spécifiques, peu présents chez d'autres familles végétales. L'analyse chimique des émissions de 27 fruits de Cucurbitaceae a mis en évidence la présence de composés assez caractéristiques des fruits les plus attractifs. Parmi ceux-ci, des composés à six carbones, communément rencontrés chez les végétaux, responsables de l'odeur verte (GLV). D'autres composés (alcools et aldéhydes) à 9 carbones, connus pour être responsables des odeurs de « concombre » (Kemp *et al.*, 1974 ; Palma-Harris *et al.*, 2001), de « pastèque » (Beaulieu & Lea, 2006) ou de « melon » (Beaulieu & Grimm, 2001 ; Shalit *et al.*, 2001 ; Obando-Ulloa *et al.*, 2008), ont été retrouvés dans les profils des fruits les plus attractifs. De plus, les études électroantennographiques et l'analyse factorielle des correspondances ont particulièrement révélé le potentiel des composés en C9. Les tests d'attractivité en olfactomètre ont fini par confirmer, pour quatre composés en C9 (nonanol, (6Z)-non-6-énal, (6Z)-non-6-én-1-ol, (2E,6Z)-nona-2,6-diéнал), une réelle valeur attractive de ces composés, vis-à-vis des femelles de *B. cucurbitae*.

Même s'il est communément admis, que ce sont des mélanges de trois à dix composés qui constituent l'identité du message clé de la reconnaissance d'une plante-hôte (Bruce & Pickett, 2011), ce travail démontre que le mélange de deux composés seulement ((6Z)-non-6-én-1-ol et le (2E,6Z)-nona-2,6-diéнал) est déterminant et suffisant pour attirer autant de femelles de *B. cucurbitae* que l'odeur naturelle d'un fruit-hôte. Ceci avait déjà été montré chez *Anastrepha obliqua* (Macquart), pour qui un mélange à deux composés s'est avéré aussi attractif qu'un mélange à neuf composés (Toledo *et al.*, 2009). Ainsi, cette meilleure réponse des femelles de *B. cucurbitae* à ces quelques composés pourrait traduire un nombre plus importants de récepteurs neuronaux olfactifs (ORNs) répondant à ces composés au niveau des sensilles des antennes. Cependant, à notre connaissance, aucune étude n'a été réalisée sur les interactions entre les ORNs des antennes de *B. cucurbitae* et les composés volatils de fruits, comme cela a été particulièrement étudié chez *Drosophila* sp. (Bruyne & Baker, 2008).

Ce qui est particulièrement intrigant dans la seconde hypothèse est que les composés associés à des taux d'attraction forts sont des produits dérivés de réactions enzymatiques de transformation des acides gras en C18 saturés, mono- et bi-saturés lorsque les tissus du fruit sont rompus (Fleming *et al.*, 1968). En effet, ce sont des composés qui n'ont pas été retrouvés dans les extractions de fruits entiers *in situ* (mis à part le nonanal).

Quelle est la stratégie de la femelle lorsqu'elle répond à des composés liés à la blessure du fruit ? L'émission d'une plus grande quantité de composés volatils lorsque le fruit est blessé par une action mécanique, ou par l'action d'herbivores (Vet & Dicke, 1992), permettrait une meilleure détection des fruits dans l'habitat. Cependant, ces signaux indiquent des plantes affaiblies qui sont plus sensibles à des attaques d'herbivores et qui offrent une source nutritive moins favorable (Dicke & van Loon, 2000). Une hypothèse serait que *B. cucurbitae* est attirée par ces composés car ils lui permettent de rejoindre des zones où les fruits sont potentiellement déjà attaqués et, ainsi, plus susceptibles à leur oviposition. Cette espèce peut certainement utiliser les anciens trous de ponte de ses congénères pour laisser ses propres œufs. Cependant, ce choix de la femelle implique des risques pour la descendance qui ne sont pas négligeables. Tout d'abord, ces zones sont potentiellement denses en ennemis naturels, eux-aussi attirés par ces composés volatils émis après blessure de la plante. Ensuite, le fait de pondre dans des anciens trous de ponte implique des pressions liées à des phénomènes de compétition intra-ou interspécifique pour la ressource, qui pourraient grandement perturber le succès de la descendance. Des travaux récents, ont montré que parmi les trois espèces de Tephritidae recensées sur Cucurbitaceae à La Réunion, *B. cucurbitae* s'est avérée être l'espèce la moins affectée par la compétition intra- et interspécifique (Jacquard, 2012). Il est possible d'envisager, qu'au regard de la relative bonne tolérance à la compétition de cette espèce, la détection des odeurs de fruits blessés (plus odorants) par les femelles leur permettrait de détecter plus rapidement et précisément un hôte, dans lequel leur descendance pourrait se développer correctement, même en présence d'individus con-ou hétérospécifiques. Une autre possibilité est que ces composés volatils de blessures, constituant des signaux plus puissants que ceux des fruits intacts, seraient utilisés par les femelles comme des signaux à distance et, une fois sur place, leurs choix de ponte pourrait s'orienter vers les fruits sains de la parcelle.

IV.Implications pratiques : mise au point d'un système de piégeage des femelles

La forte réponse des femelles de *B. cucurbitae* à un mélange synthétique simple laisse présager des perspectives d'utilisation de ce mélange comme un attractif pour le piégeage de surveillance et/ou de masse des femelles de cette espèce. Le piégeage de ces femelles constitue un enjeu majeur, car la diminution de leur population entraîne un impact direct sur la descendance par la diminution de la pression d'oviposition (Jacobson *et al.*, 1971 ; Jang &

Light, 1996). Le piégeage des femelles impacte plus significativement la population de mouches de fruits que le piégeage des mâles, car une femelle fécondée peut déposer un grand nombre d'œufs dans divers hôtes avant un nouvel accouplement. Plusieurs équipes ont montré des taux de naissance par femelle autour de 80 (Yang *et al.*, 1994 ; Vargas *et al.*, 1997).

Il reste néanmoins de nombreuses études à conduire, tant sur le type de diffuseur à utiliser que sur le dispositif de piégeage le plus adapté pour contenir ce diffuseur. La mise au point d'un diffuseur efficace pour ce mélange de composés volatils passe par l'identification du modèle le plus approprié, puis par des tests d'efficacité. Il s'agit donc de choisir un diffuseur permettant de prévenir la dégradation des composés volatils par les facteurs environnementaux et d'émettre un mélange uniforme au cours du temps. Les composés volatils sont des substances non solubles dans l'eau et, pour certains, instables (Frérot *et al.*, 2013). La combinaison de ces composés dans une matrice polymérique s'avère donc être un compromis intéressant. Ces matrices sont composées de polymères actifs (ou plastiques actifs), qui sont des matières plastiques synthétiques ou d'origine naturelle pouvant contenir un principe actif et le libérer de façon continue pendant une période de temps allant de quelques heures à plusieurs mois, en fonction des utilisations (Femenia & Sancho, 2013). Une fois la combinaison du mélange au diffuseur polymérique réalisée, des tests mesurant son attractivité en conditions semi-naturelles (grandes cages de comportement) et/ou au champ doivent être poursuivis. Cela permettrait également d'évaluer son attractivité vis-à-vis de mâles de *B. cucurbitae* ou des deux autres espèces de Tephritidae s'attaquant aux Cucurbitaceae à La Réunion (*D. ciliatus* et *D. demmerezii*) ainsi que vis-à-vis d'espèces non cibles. Le passage au champ nécessite la mise au point d'un dispositif de piégeage contenant le diffuseur, permettant à la fois une bonne diffusion des composés volatils et un procédé empêchant les femelles de ressortir du piège. De plus, l'association avec des stimuli visuels pourrait augmenter l'efficacité du dispositif (Piñero *et al.*, 2006). On pourrait imaginer un piège de forme hémicylindrique de couleur « vert chartreuse » (Piñero *et al.*, 2006 ; Xue & Wu, 2013), dans lequel serait contenu le diffuseur du mélange de (6Z)-non-6-énol et de (2E,6Z)-nona-2,6-diénaal. D'autres considérations, quant à la possible compétition de l'odeur de ce mélange avec l'odeur des « vrais fruits » en champ, sont à envisager. A terme, le développement de stratégies où les kairomones seraient utilisées au moment où la concurrence avec les fruits au champ est faible, est aussi à considérer.

Dans le contexte plus spécifique de La Réunion, la protection des cultures contre les mouches, qui a longtemps reposé sur une base agrochimique, a connu de grandes avancées ces dernières

années par la mise en œuvre de méthodes de gestion agroécologique des populations de mouches s'attaquant aux Cucurbitaceae. Le projet GAMOUR (Gestion agroécologique des MOUches des Légumes à La Réunion), programme de recherche, formation et développement agricole, conçu en 2009 par le CIRAD et coordonné par la Chambre d'Agriculture et de la Pêche, a abouti à la mise au point et au transfert d'un paquet technologique regroupant différentes techniques (prophylaxie, plantes-pièges, piégeage de masse, lutte biologique de conservation) basées sur un fonctionnement écologique plus équilibré et durable des agrosystèmes avec pour démarche principale, la prévention des infestations (Deguine *et al.*, 2012). L'une des techniques proposées est le piégeage sexuel des mâles avec un dispositif conçu de manière à attirer les mâles grâce à une paraphéromone et à empêcher physiquement leur sortie. Ainsi les résultats de ces travaux de thèse, permettraient d'aboutir à la mise au point d'un système de piégeage comparable, mais piégeant cette fois-ci les femelles de cette espèce. Le piégeage des femelles de *B. cucurbitae* constituerait une technique supplémentaire, qui pourrait aisément s'intégrer dans ce programme de gestion agroécologique.

V. Conclusion et perspectives de recherche

Ce travail de thèse a permis de mieux caractériser les stimuli olfactifs impliqués dans la localisation des fruits-hôtes par les femelles de *B. cucurbitae*. Il a été possible, par le biais d'une stratégie séquentielle, d'aboutir à une caractérisation des effluves de ces fruits-hôtes et à une évaluation de l'importance de leur composition sur la réponse des femelles. De plus, au terme de ce travail, l'identification d'un mélange synthétique simple de composés volatils avec une attractivité équivalente à celle d'un fruit frais, laisse présager des poursuites prometteuses dans l'élaboration d'un système de piégeage pour les femelles de cette espèce.

Quelques questions subsidiaires concernant certaines études restent cependant en suspens, et il serait nécessaire de poursuivre les recherches. Comme par exemple, des tests d'électroantennographie, pour lesquels il est prévu de poursuivre la collaboration avec le laboratoire de Prague afin de confirmer les tentatives d'identification par l'injection de standards aux antennes des mouches. Il faudra également approfondir l'élucidation des quelques composés spécifiques à la pipangaille lisse et au melon qui pourraient notamment avoir un réel intérêt dans l'attraction. D'autres perspectives, qu'il semble important d'envisager sont :

- (i) L'étude de l'attractivité des femelles de *B. cucurbitae* aux effluves des composés émis par des fruits *in situ* et leur comparaison à celle obtenue dans le cas des fruits découpés,
- (ii) L'étude de l'attractivité d'autres composés volatils détectés par les analyses statistiques et/ou électroantennographiques,
- (iii) L'étude de l'efficacité du mélange à deux composés en grandes cages extérieures, complétée par des tests au champ.

Suite à ce travail de thèse, un champ d'investigation très intéressant s'ouvre donc en raison de l'importante quantité de données générées sur cette famille de plantes vis-à-vis d'une espèce de ravageur. Une approche globale du processus de spécialisation de cette espèce, en considérant les différentes phases, sélection (localisation et acceptation du site de ponte) et performance larvaire, serait particulièrement pertinente dans le contexte d'un processus d'invasion de l'espèce assez récent. En effet, cette base de données sur les composés volatils de Cucurbitaceae associés à leur attractivité pour les femelles de *B. cucurbitae*, pourrait être complétée par des données sur d'autres plantes considérées comme hôtes pour cette espèce dans le monde (Solanaceae, etc.) et également par des données de fruits non-hôtes. L'évaluation des préférences des femelles et des performances larvaires pour l'ensemble de ces fruits devrait être également conduite et être associée à des données phylogénétiques concernant la famille des Cucurbitaceae. L'ensemble de ces données contribuerait à la fois à apporter un modèle de compréhension des mécanismes de spécialisation d'hôtes chez cette espèce et à évaluer si la composition chimique des émissions de ces plantes suit un patron de diversification semblable à celui détecté sur des bases génétiques.

Glossaire

Absorption : propriété que présentent les solides et les liquides de retenir certaines substances (gaz ou liquides) dans la totalité de leur volume.

Adsorption : adhésion des molécules d'une substance gazeuse ou liquide à une substance solide.

Androcée : ensemble des étamines (organe mâle) d'une fleur

Anthère : partie supérieure fertile de l'étamine des fleurs, où se forment les grains de pollen, et qui s'ouvre à maturité par déhiscence en libérant ces derniers.

Axone : long prolongement fibreux du neurone, qui conduit l'influx nerveux.

Chimométrie : outil utilisé afin d'extraire de l'information pertinente et utile à partir de données physicochimiques mesurées ou connues brutes. Il est basé sur la construction, puis l'exploitation d'un modèle de comportement à l'aide d'outils statistiques.

Chromoprotéine : protéine associée à un groupement prosthétique coloré, souvent de type métallifère.

Conspécifique : qui appartient à la même espèce.

Cystolithes : dépôt minéral, de carbonate de calcium ou d'oxalate de calcium à l'intérieur des cellules périphériques des feuilles de plusieurs familles de plantes, telles que les Urticaceae et les Moraceae.

Dendrite : un prolongement filamenteux du neurone servant à recevoir et conduire l'influx nerveux.

Dioïque : se dit des espèces végétales composées de pieds mâles et de pieds femelles séparés.

Exalbuminé(e) : se dit des graines ou des embryons dépourvus d'albumen, les réserves alimentaires étant contenues dans les cotylédons, comme chez le haricot.

Fitness : contribution relative d'un individu ou de ses gènes à la génération suivante, généralement évaluée par le nombre de ses descendants viables et reproductibles.

Holométabole : qui subit des métamorphoses complètes. Se dit des insectes dont le passage de l'état larvaire à l'état adulte se fait par l'intermédiaire d'un état nymphal. Les larves et les adultes de ces Insectes ont, en général, une morphologie et des modes de vie très différents.

Lek : réunion des mâles de certaines espèces animales, dans une compétition de séduction afin de déterminer les prérogatives pour l'accouplement.

Monoïque : se dit des espèces végétales dont les fleurs mâles et femelles sont distinctes, mais réunies sur le même plant.

Multivoltine : espèce ayant plusieurs générations par an.

Olfactomètre : dispositif pour tester la réponse comportementale d'insectes face à une odeur. Les premiers modèles consistaient en tube en verre en forme d'un "T" ou d'un "Y" dans lequel un objet odorant est introduit en amont. Un flux d'air est insufflé dans le dispositif, et l'insecte est introduit à la base du tube.

Paraphéromone : composé chimique spécifique produit par des plantes qui reproduit l'effet d'une phéromone d'insectes.

Phéromone : composé chimique sécrété par un animal dans la médiation avec un animal de la même espèce.

Quadrupôle : assemblage de quatre pôles magnétiques de signes alternés, dont on utilise l'action sur un faisceau de particules chargées.

Stade pré-imaginaux : stade précédant l'adulte.

Temps mort : temps que met un soluté non retenu (l'air par exemple) à sortir de la colonne du chromatographe. Il est noté t_M .

Temps de rétention : temps écoulé entre l'injection et le maximum du pic du composé élué. Il est noté t_R .

Temps de rétention réduit : temps de rétention auquel est retiré le temps mort. Il est noté t'_R et est égal à $t'_R = t_R - t_M$

Vitellogénèse : formation et accumulation de l'ensemble des matières de réserve de l'œuf.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- Adams, R. P.** (2007) *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry*, Allured Publishing Corporation.
- Agelopoulos, N., Birkett, M. A., Hick, A. J., Hooper, A. M., Pickett, J. A., Pow, E. M., Smart, L. E., Smiley, D. W. M., Wadhams, L. J. & Woodcock, C. M.** (1999) Exploiting semiochemicals in insect control. *Pesticide Science*, 55, 225-235.
- Agnello, A. M., Spangler, S. M. & Reissig, W. H.** (1990) Development and evaluation of a more efficient monitoring system for apple maggot (Diptera: Tephritidae). *Journal of Economic Entomology*, 83, 539-546.
- Agreste** (2009) "Statistique agricole annuelle." Service de la statistique et de la prospective - Ministère de l'agriculture, de l'alimentation, de la pêche, de la ruralité et de l'aménagement du territoire.
- Ahmad, S.** (1982) Host location by the Japanese beetle: Evidence for a key role for olfaction in a highly polyphagous insect. *Journal of Experimental Zoology*, 220, 117-120.
- Akhtaruzzaman, M., Alam, M. Z. & Ali Sardar, M. M.** (2000) Efficacy of different bait sprays for suppressing fruit fly on cucumber. *Bulletin of the Institute of Tropical Agriculture, Kyushu University*, 23, 15-26.
- Alagarmalai, J., Nestel, D., Dragushich, D., Nemny-Lavy, E., Anshelevich, L., Zada, A. & Soroker, V.** (2009) Identification of host attractants for the Ethiopian Fruit Fly, *Dacus ciliatus* Loew. *Journal of Chemical Ecology*, 35, 542-551.
- AliNiazee, M., Mohammad, A. & Booth, S.** (1987) Apple maggot (Diptera: Tephritidae) response to traps in an unsprayed orchard in Oregon. *Journal of Economic Entomology*, 80, 1143-1148.
- Allwood, A. J., Chinajariyawong, A., Drew, R. A. I., Hamacek, E. L., Hancock, D. L., Hengsawad, C., Jipanin, J. C., Jirasurat, M., Krong, C. K. & Kritsaneepailboon, S.** (1999) *Host plant records for fruit flies (Diptera: Tephritidae) in South East Asia*, Department of Biological Sciences, National University of Singapore.
- Aluja, M., Diaz-Fleischer, F., Papaj, D. R., Lagunes, G. & Sivinski, J.** (2001) Effects of age, diet, female density, and the host resource on egg load in *Anastrepha ludens* and *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Insect Physiology*, 47, 975-988.
- Aluja, M., Jacome, I., Birke, A., Lozada, N. & Quintero, G.** (1993) Basic patterns of behaviour in wild *Anastrepha striata* flies under field-cage conditions. *Annals of the Entomological Society of America*, 86, 776-793.
- Aluja, M. & Mangan, R. L.** (2008) Fruit fly (Diptera : tephritidae) host status determination: Critical conceptual, methodological, and regulatory considerations. *Annual Review of Entomology*, 53, 473-502.
- Aluja, M. & Prokopy, R. J.** (1993) Host odor and visual stimulus interaction during intratree host finding behavior of *Rhagoletis pomonella* flies. *Journal of Chemical Ecology*, 18, 2671-2696.
- Aluja, M. A. B.** (1993) Habitat use by adults of *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae) in a mixed mango and tropical plum orchard. *Annals of the Entomological Society of America*, 86 (6), 799-812.
- Alyokhin, A. V., Messing, R. H. & Duan, J. J.** (2000) Visual and olfactory stimuli and fruit maturity affect trap captures of oriental fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Journal of Economic Entomology*, 93, 644-649.

- Andersen, J. & Metcalf, R.** (1986) Identification of a volatile attractant for *Diabrotica* and *Acalymma* spp. from blossoms of *Cucurbita maxima* Duchesne. *Journal of Chemical Ecology*, 12, 687-699.
- Aparicio, R. & Aparicio-Ruiz, R.** (2002) Chemometrics as an aid in authentication. *Oils and Fats Authentication*, 156.
- Arimura, G.-i., Ozawa, R., Nishioka, T., Boland, W., Koch, T., Kühnemann, F. & Takabayashi, J.** (2002) Herbivore-induced volatiles induce the emission of ethylene in neighboring lima bean plants. *The Plant Journal*, 29, 87-98.
- Atiama-Nurbel, T.** (2014) Réponse des femelles de *Bactrocera cucurbitae* (Diptera, Tephritidae) aux composés volatils de fruits-hôtes. Ecole Doctorale Sciences et Santé. Saint-Denis, Université de La Réunion. Doctorat.
- Atiama-Nurbel, T., Quilici, S., Boyer, E., Deguine, J. P., Glenac, S. & Bialecki, A.** (2014 (in press)) Volatile constituents of cucumber : differences between five tropical cultivars. *Chemistry of Natural Compounds*.
- Aubert, C. & Pitrat, M.** (2006) Volatile Compounds in the Skin and Pulp of Queen Anne's Pocket Melon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 8177-8182.
- Averill, A. L. & Prokopy, R. J.** (1987) Intraspecific competition in the tephritid fruit fly *Rhagoletis pomonella*. *Ecology*, 68, 878-886.
- Barton Browne, L.** (1993) Physiologically induced changes in resource-oriented behavior. *Annual Review of Entomology*, 38, 1-25.
- Bateman, M. A.** (1972) The Ecology of Fruit Flies. *Annual Review of Entomology*, 17, 493-518.
- Bautista, R. C., Harris, E. J., Vargas, R. I. & Jang, E. B.** (2004) Parasitization of melon fly (Diptera: Tephritidae) by *Fopius arisanus* and *Psytalia fletcheri* (Hymenoptera: Braconidae) and the effect of fruit substrates on host preference by parasitoids. *Biological Control*, 30, 156-164.
- Beaulieu, J. C.** (2006) Volatile changes in cantaloupe during growth, maturation, and in stored fresh-cuts prepared from fruit harvested at various maturities. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 131, 127-139.
- Beaulieu, J. C. & Grimm, C. C.** (2001) Identification of volatile compounds in cantaloupe at various developmental stages using solid phase microextraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 1345-1352.
- Beaulieu, J. C. & Lea, J. M.** (2006) Characterization and semiquantitative analysis of volatiles in seedless watermelon varieties using solid-phase microextraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 7789-7793.
- Bell, W. J.** (1990) Searching Behavior Patterns in Insects. *Annual Review of Entomology*, 35, 447-467.
- Bell, W. J., Kipp, L. R. & Collins, R. D.** (1995) The role of chemo-orientation in search behavior. *Chemical ecology of insects* 2.(R. T. Cardé and W. J. Bell), 105-152. Chapman & Hall, New York.
- Belsley, D. A., Kuh, E. & Welsch, R. E.** (1980) *Regression diagnostics*. New York, Wiley & Sons.
- Benjamini, Y. & Yekutieli, D.** (2001) The control of the false discovery rate in multiple testing under dependency. *Annals of statistics*, 1165-1188.
- Bernays, E. A. & Chapman, R. F.** (1994) *Host-plant selection by phytophagous insects*. New York, Chapman and Hall.

- Bess, H. A., Van Den Bosch, R. & Haramoto, F. H.** (1961) Fruit fly parasites and their activities in Hawaii. *Proceedings of the Hawaiian Entomological Society*.
- Bialecki, A. & Smadja, J.** (2014) Identification of volatile compounds from flowers and aromatic plants: How and Why? *Chemistry: the key to our sustainable future*. (B. M. Gupta, L. S. Jhaumeer, H. Li Kam Wah and P. Ramassami). Springer.
- Binder, R. G., Flath, R. A. & Mon, T. R.** (1989) Volatile components of bittermelon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37, 418-420.
- Borden, J., Chong, L., Savoie, A. & Wilson, I.** (1997) Responses to green leaf volatiles in two biogeoclimatic zones by striped ambrosia beetle, *Trypodendron lineatum*. *Journal of Chemical Ecology*, 23, 2479-2491.
- Bostanian, N. J. & Racette, G.** (2001) Attract and kill, an effective technique to manage apple maggot, *Rhagoletis pomonella* [Diptera: Tephritidae] in high density Quebec apple orchards. *Phytoprotection*, 82, 25-34.
- Bostanian, N. J., Vincent, C., Chouinard, G. & Racette, G.** (1999) Managing apple maggot, *Rhagoletis pomonella* [Diptera: Tephritidae], by perimeter trapping. *Phytoprotection*, 80, 21-33.
- Botineau, M.** (2010) *Systematic and applied botany of flowering plants*, Technique et Documentation Lavoisier.
- Bouchonnet, S. & Libong, D.** (2004) Le couplage chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse. *Actualité chimique*, 7-14.
- Bouwmeester, H. J., Gershenzon, J., Konings, M. C. J. M. & Croteau, R.** (1998) Biosynthesis of the Monoterpenes Limonene and Carvone in the Fruit of Caraway. *Plant Physiology*, 117, 901-912.
- Braasch, J. & Kaplan, I.** (2012) Over what distance are plant volatiles bioactive? Estimating the spatial dimensions of attraction in an arthropod assemblage. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, 145, 115-123.
- Bradbury, J. W. & Vehrencamp, S. L.** (1998) *Principles of animal communication*. Sunderland.
- Breiman, L.** (2001) Random forests. *Machine learning*, 45, 5-32.
- Brévault, T.** (1999) Mécanismes de localisation de l'hôte chez la mouche de la tomate *Neoceratitis cyanescens* (Bezzi) (Diptera : Tephritidae). Montpellier, Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie de Montpellier: 139.
- Brévault, T. & Quilici, S.** (1999) Factors affecting behavioural responses to visual stimuli in the tomato fruit fly, *Neoceratitis cyanescens*. *Physiological Entomology*, 24, 333-338.
- Brévault, T. & Quilici, S.** (2007) Visual response of the tomato fruit fly, *Neoceratitis cyanescens*, to colored fruit models. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, 125, 45-54.
- Brévault, T. & Quilici, S.** (2009) Oviposition preference in the oligophagous tomato fruit fly, *Neoceratitis cyanescens*. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, 133, 165-173.
- Brévault, T. & Quilici, S.** (2010a) Flower and fruit volatiles assist host-plant location in the Tomato fruit fly *Neoceratitis cyanescens*. *Physiological Entomology*, 35, 9-18.
- Brévault, T. & Quilici, S.** (2010b) Interaction Between Visual and Olfactory Cues During Host Finding in the Tomato Fruit Fly *Neoceratitis cyanescens*. *Journal of Chemical Ecology*, 36, 249-259.
- Brossut, R.** (1996) *Phéromones: la communication chimique chez les animaux*. Paris, CNRS Editions.

- Browne, L. B.** (1993) Physiologically induced changes in resource-oriented behavior. *Annual Review of Entomology*, 38, 1-23.
- Bruce, T. J. A. & Pickett, J. A.** (2011) Perception of plant volatile blends by herbivorous insects - Finding the right mix. *Phytochemistry*, 72, 1605-1611.
- Bruce, T. J. A., Wadhams, L. J. & Woodcock, C. M.** (2005) Insect host location: a volatile situation. *Trends in Plant Science*, 10, 269-274.
- Bruyne, M. & Baker, T. C.** (2008) Odor Detection in Insects: Volatile Codes. *Journal of Chemical Ecology*, 34, 882-897.
- Buescher, R. H. & Buescher, R. W.** (2001) Production and stability of (E,Z)-2,6-nonadienal, the major flavor volatile of cucumbers. *Journal of Food Science*, 66, 357-361.
- Burgot, G. & Pellerin, F.** (2003) *Microextraction en phase solide (SPME)*.
- Caissard, J. C., Joly, C., Bergougnoux, V., Hugueney, P., Mauriat, M. & Baudino, S.** (2004) Secretion mechanisms of volatile organic compounds in specialized cells of aromatic plants. *Recent research developments in cell biology*, 2, 1-15.
- Cameron, P. J. & Morrison, F. O.** (1974) Sampling methods for estimating the abundance and distribution of all life stages of the apple maggot *Rhagoletis pomonella* Canadian *Entomologist*, 106, 1025-1034.
- Campan, M.** (1977) Etude du comportement d'orientation des femelles de *Calliphora vomitoria* (Diptères) vers l'odeur du lieu de ponte. Mise en évidence du rôle de l'ovaire. *General and Comparative Endocrinology*, 31, 442-450.
- Cane, D. E.** (1999) Sesquiterpene biosynthesis: cyclization mechanisms. *Comprehensive natural products chemistry*, 2, 155-200.
- Carde, R. T.** (1996) Odour plumes and odour-mediated flight in insects. *Olfaction in Mosquito-Host Interactions* 200.(G. R. Bock and G. Cardew), 54-70. John Wiley & Sons Ltd, Chichester.
- Carde, R. T. & Willis, M. A.** (2008) Navigational strategies used by insects to find distant, wind-borne sources of odor. *Journal of Chemical Ecology*, 34, 854-866.
- Cha, D., Hesler, S., Moser, C., Nojima, S., Linn, C., Roelofs, W. & Loeb, G.** (2008) Flight Tunnel Responses of Female Grape Berry Moth (*Paralobesia viteana*) to Host Plants. *Journal of Chemical Ecology*, 34, 622-627.
- Chew, F.** (1977) Coevolution of pierid butterflies and their cruciferous foodplants. II. The distribution of eggs on potential foodplants. *Evolution*, 31, 568-579.
- Chou, M.-Y., Mau, R. F. L., Jang, E. B., Vargas, R. I. & Piñero, J. C.** (2012) Morphological Features of the Ovaries During Oogenesis of the Oriental Fruit Fly, *Bactrocera dorsalis*, in Relation to the Physiological State. *Journal of Insect Science*, 12, 1-12.
- Christenson, L. D. & Foote, R. H.** (1960) Biology of Fruit Flies. *Annual Review of Entomology*, 5, 171-192.
- Clarke, A. R., Powell, K. S., Weldon, C. W. & Taylor, P. W.** (2011) The ecology of *Bactrocera tryoni* (Diptera: Tephritidae): what do we know to assist pest management? *Annals of Applied Biology*, 158, 26-54.
- Clopper, C. & Pearson, E. S.** (1934) The use of confidence or fiducial limits illustrated in the case of the binomial. *Biometrika*, 26, 404-413.
- Cook, R. D. & Weisberg, S.** (1982) *Residuals and influence in regression*. New York, Chapman and Hall

- Cornelius, M. L., Nergel, L., Duan, J. J. & Messing, R. H.** (2000) Responses of Female Oriental Fruit Flies (Diptera: Tephritidae) to Protein and Host Fruit Odors in Field Cage and Open Field Tests. *Environmental Entomology*, 29, 14-19.
- Cortesero, A. M., Stapel, J. O. & Lewis, W. J.** (2000) Understanding and manipulating plant attributes to enhance biological control. *Biological Control*, 17, 35-49.
- Courtney, S. P., Chen, G. K. & Gardner, A.** (1989) A general model for individual host selection. *Oikos*, 55-65.
- Croft, K. P., Juttner, F. & Slusarenko, A. J.** (1993) Volatile products of the lipoxygenase pathway evolved from *Phaseolus vulgaris* (L.) leaves inoculated with *Pseudomonas syringae* pv *phaseolicola*. *Plant Physiology*, 101, 13-24.
- Cruz-Lopez, L., Malo, E. A., Toledo, J., Virgen, A., del Mazo, A. & Rojas, J. C.** (2006) A new potential attractant for *Anastrepha obliqua* from Spondias mombin fruits. *Journal of Chemical Ecology*, 32, 351-365.
- Dambroski, H. R., Linn, C., Berlocher, S. H., Forbes, A. A., Roelofs, W. & Feder, J. L.** (2005) The genetic basis for fruit odor discrimination in *Rhagoletis* flies and its significance for sympatric host shifts. *Evolution*, 59, 1953-1964.
- Das, A., Lee, S.-H., Hyun, T., Kim, S.-W. & Kim, J.-Y.** (2013) Plant volatiles as method of communication. *Plant Biotechnology Reports*, 7, 9-26.
- De Meyer, M.** (2000) *Phylogeny of the genus Ceratitis (Dacinae : Ceratitidini)*. Boca Raton, Crc Press-Taylor & Francis Group.
- Deguine, J.-P., Rousse, P. & Atiama-Nurbel, T.** (2012) Agroecological Crop Protection: Concepts and a Case Study from Reunion. *Integrated Pest Management and Pest Control - Current and Future Tactics*. (S. Soloneski).
- Delvare, G. & Aberlenc, H. P.** (1989) *Les insectes d'Afrique et d'Amérique tropicale; clé pour la reconnaissance des familles*. Montpellier.
- Dethier, V.** (1982) Mechanism of host-plant recognition. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, 31, 49-56.
- Dethier, V. G., Barton Browne, L. & Smith, C. N.** (1960) The designation of chemicals in terms of the responses they elicit from Insects. *Journal of Economic Entomology*, 53, 134-136.
- Dhillon, M. K., Singh, R., Naresh, J. S. & Sharma, H. C.** (2005) The melon fruit fly, *Bactrocera cucurbitae*: A review of its biology and management. *Journal of Insect Science*, 5.
- Dicke, M.** (2000) Chemical ecology of host-plant selection by herbivorous arthropods: a multitrophic perspective. *Biochemical Systematics and Ecology*, 28, 601-617.
- Dicke, M., Sabelis, M. W., Takabayashi, J., Bruin, J. & Posthumus, M. A.** (1990) Plant strategies of manipulating predator-prey interactions through allelochemicals: prospects for application in pest control. *Journal of Chemical Ecology*, 16, 3091-3118.
- Dicke, M. & van Loon, J. J. A.** (2000) Multitrophic effects of herbivore-induced plant volatiles in an evolutionary context. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, 97, 237-249.
- Du, D., Winsor, J. A., Smith, M., DeNicco, A. & Stephenson, A. G.** (2008) Resistance and tolerance to herbivory changes with inbreeding and ontogeny in a wild gourd (Cucurbitaceae). *American Journal of Botany*, 95, 84-92.
- Duan, J. J. & Prokopy, R. J.** (1992) Visual and odor stimuli influencing effectiveness of sticky spheres for trapping apple maggot flies *Rhagoletis pomonella* (Walsh) (Dipt., Tephritidae). *Journal of Applied Entomology*, 113, 271-279.

- Duan, J. J. & Prokopy, R. J.** (1994) Apple maggot fly response to red sphere traps in relation to fly age and experience. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 73 (3), 279-287.
- Dudareva, N., Negre, F., Nagegowda, D. A. & Orlova, I.** (2006) Plant volatiles: recent advances and future perspectives. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 25, 417-440.
- Dudareva, N. & Pichersky, E.** (2000) Biochemical and molecular genetic aspects of floral scents. *Plant Physiology*, 122, 627-634.
- Dudareva, N., Pichersky, E. & Gershenzon, J.** (2004) Biochemistry of plant volatiles. *Plant Physiology*, 135, 1893-1904.
- Eben, A., Barbercheck, M. E. & Martín, A. S.** (1997) Mexican diabroticite beetles: II. Test for preference of cucurbit hosts by *Acalymma* and *Diabrotica* spp. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, 82, 63-72.
- Etienne, J.** (1972) Les principales Tephritides de l'île de La Réunion. *Annales de la Société Entomologique de France*, 8 (2), 485-491.
- Etienne, J.** (1982) Etude systématique, faunistique et écologique des Tephritides de La Réunion. *Thèse de l'école Pratique des Hautes Etudes, Paris*, pp. 100.
- Evans, K. A. & Allen Williams, L. J.** (1993) Distant olfactory response of the cabbage seed weevil, *Ceutorhynchus assimilis*, to oilseed rape odour in the field. *Physiological Entomology*, 18, 251-256.
- Fay, H. A. C. & Meats, A.** (1983) The influence of age, ambient temperature, thermal history and mating history on mating frequency in males of the Queensland fruit fly, *Dacus tryoni*. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, 34, 273-276.
- Fein, B. L., Reissig, W. H. & Roelofs, W. L.** (1982) Identification of apple volatiles attractive to the apple maggot, *Rhagoletis pomonella*. *Journal of Chemical Ecology*, 8, 1473-1487.
- Femenia, B. & Sancho, J.** (2013). Mass trapping of red palm weevil in the context of integrated control protocol and case studies in Spain. Colloque méditerranéen sur les ravageurs des palmiers, Nice, France.
- Fernando, L. N. & Grün, I. U.** (2001) Headspace-SPME analysis of volatiles of the ridge gourd (*Luffa acutangula*) and bitter melon (*Momordica charantia*) flowers. *Flavour and Fragrance Journal*, 16, 289-293.
- Ferreira, L., Perestrelo, R. & Camara, J. S.** (2009) Comparative analysis of the volatile fraction from *Annona cherimola* Mill. cultivars by solid-phase microextraction and gas chromatography-quadrupole mass spectrometry detection. *Talanta*, 77, 1087-1096.
- Feussner, I. & Wasternack, C.** (2002) The lipoxygenase pathway. *Annual review of plant biology*, 53, 275-297.
- Fleming, H. P., Cobb, W. Y., Etchells, J. L. & Bell, T. A.** (1968) The formation of carbonyl compounds in cucumbers. *Journal of Food Science*, 33, 572-576.
- Fletcher, B. S.** (1987) The Biology of Dacine Fruit Flies. *Annual Review of Entomology*, 32, 115-144.
- Fletcher, B. S.** (1989) Life history strategies of tephritid flies. *Fruit flies: their biology, natural enemies and control* 3B.(A. S. Robinson and A. M. Hooper), 195-208. Elsevier, Amsterdam.
- Fletcher, B. S. & Prokopy, R.** (1991) Host location and oviposition in Tephritid fruit flies. *Reproductive behaviour of insects: individuals and populations*.(W. J. Bailey and J. Ridsdill-Smith), 139-171. Chapman & Hall, Melbourne.

- Fontem, D. A., Gumedzoe, M. Y. D. & Nono-Womdim, R.** (1999) Biological constraints in tomato production in the western highlands of Cameroon. *Tropicultura*, 16-17, 89-92.
- Forbes, A. A. & Feder, J. L.** (2006) Divergent preferences of *Rhagoletis pomonella* host races for olfactory and visual fruit cues. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, 119, 121-127.
- Forbes, A. A., Fisher, J. & Feder, J. L.** (2005) Habitat avoidance: overlooking an important aspect of host-specific mating and sympatric speciation? *Evolution*, 59, 1552-1559.
- Fox, L. R. & Morrow, P. A.** (1981) Specialization: species property or local phenomenon? *Science*, 211, 887-893.
- Fraenkel, G. S. & Gunn, D. L.** (1961) *The orientation of animals . Kineses, taxes, and compass reactions*. New York, Dover Publications.
- Fraser, A. M., Mechaber, W. L. & Hildebrand, J. G.** (2003) Electroantennographic and Behavioral Responses of the Sphinx Moth *Manduca sexta* to Host Plant Headspace Volatiles. *Journal of Chemical Ecology*, 29, 1813-1833.
- Frérot, B., Ameline, A., Verneau, S. & Thiéry, D.** (2013) Utilisation des médiateurs chimiques volatils en protection des cultures. *Interactions insectes-plantes* 42.(N. Sauvion, P.-A. Calatayud, D. Thiéry and F. Marion-Poll). Editions Quae.
- Fullaway, D. T.** (1920) The melon fly: its control in Hawaii by a parasite introduced from India. *Hawaiian Forester and Agriculturist*, 17, 101-105.
- Futuyma, D. J.** (2001) Ecological Specialization and Generalization. *Evolutionary Ecology : Concepts and Case Studies*.(C. W. Fox, D. A. Roff and D. J. Fairbairn), 177-189. Oxford University Press,, Oxford.
- Gang, D. R., Wang, J., Dudareva, N., Nam, K. H., Simon, J. E., Lewinsohn, E. & Pichersky, E.** (2001) An investigation of the storage and biosynthesis of phenylpropenes in sweet basil. *Plant Physiology*, 125, 539-555.
- Gardner, H. W.** (1989) How the lipoxygenase pathway affects the organoleptic properties of fresh fruit and vegetables. *Flavor Chemistry of Lipid Foods*.(D. B. Min and T. H. Smouse), 98-112. The American Oil Chemical Society, Champaign.
- Gaussen, H., Leroy, J. F. & Ozenda, P.** (1982) *Précis de botanique* Paris, Masson
- Gauvin, A.** (2006) Analysis and Characterization of Essential Oils Using GC-MS. *The encyclopedia of Mass Spectrometry* 8.(W. Niessen). Elsevier, Oxford, UK.
- Gershenson, J., McConkey, M. E. & Croteau, R. B.** (2000) Regulation of monoterpene accumulation in leaves of peppermint. *Plant Physiology*, 122, 205-214.
- Gibson, G. & Torr, S. J.** (1999) Visual and olfactory responses of haematophagous Diptera to host stimuli. *Medical and Veterinary Entomology*, 13, 2-23.
- Godfray, H.** (1987) The evolution of clutch size in parasitic wasps. *American Naturalist*, 221-233.
- Goff, S. A. & Klee, H. J.** (2006) Plant volatile compounds: sensory cues for health and nutritional value? *Science Signaling*, 311, 815.
- Gonzalez, R., Toledo, J., Cruz-Lopez, L., Virgen, A., Santiesteban, A. & Malo, E. A.** (2006) A new blend of white sapote fruit volatiles as potential attractant to *Anastrepha ludens* (Diptera : Tephritidae). *Journal of Economic Entomology*, 99, 1994-2001.
- Griffiths, N., Paynter, Q. & Brady, J.** (1995) Rates of progress up odor plumes by tsetse-flies- A mark-release video study of the timing of odor source location by glossina-pallidipes. *Physiological Entomology*, 20, 100-108.
- Gross, M. L. & Caprioli, R.** (2003) *The Encyclopedia of Mass Spectrometry*, Elsevier Press.

- Hagen, K. S. & Finney, G. L.** (1950) A food supplement for effectively increasing the fecundity of certain tephritid species. *Journal of Economic Entomology*, 43, 735.
- Hammack, L., Bromel, M., Duh, F. & Gassner, G.** (1987) Reproductive factors affecting responses of the screwworm fly, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae), to an attractant of bacterial origin. *Annals of the Entomological Society of America*, 80, 775-780.
- Hatanaka, A.** (1993) The biogeneration of green odour by green leaves. *Phytochemistry*, 34, 1201-1218.
- Hayata, Y., Sakamoto, T., Maneerat, C., Li, X., Kozuka, H. & Sakamoto, K.** (2003) Evaluation of Aroma Compounds Contributing to Muskmelon Flavor in Porapak Q Extracts by Aroma Extract Dilution Analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 3415-3418.
- Haymer, D. S.** (1995) Genetic Analysis of Laboratory and Wild Strains of the Melon Fly (Diptera: Tephritidae) Using Random Amplified Polymorphic DNAPolymerase Chain Reaction. *Annals of the Entomological Society of America*, 88, 705-710.
- Heath, R. R., Epsky, N. D., Dueben, B. D. & Meyer, W. L.** (1996) Systems to monitor and suppress *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) populations. *Florida Entomologist*, 144-153.
- Helsper, J. P. F. G., Davies, J. A., Bouwmeester, H. J., Krol, A. F. & van Kampen, M. H.** (1998) Circadian rhythmicity in emission of volatile compounds by flowers of *Rosa hybrida* L. cv. Honesty. *Planta*, 207, 88-95.
- Hern, A. & Dorn, S.** (1999) Sexual dimorphism in the olfactory orientation of adult *Cydia pomonella* in response to α -farnesene. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, 92, 63-72.
- Hibbard, B. E., Randolph, T. L., Bernklau, E. J., Abou-Fakhr, E. M. & Bjostad, L. B.** (1997) Electroantennogram-active components of maize silk for adults of the western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). *Environmental Entomology*, 26, 285-296.
- Honda, K., Ômura, H. & Hayashi, N.** (1998) Identification of floral volatiles from *Ligustrum japonicum* that stimulate flower-visiting by cabbage butterfly, *Pieris rapae*. *Journal of Chemical Ecology*, 24, 2167-2180.
- Hornostaj, A. & Robinson, D.** (1999) Purification of hydroperoxide lyase from cucumbers. *Food Chemistry*, 66, 173-180.
- Hossaert-McKey, M., Soler, C., Schatz, B. & Proffit, M.** (2010) Floral scents: their roles in nursery pollination mutualisms. *Chemoecology*, 20, 75-88.
- Hurter, J., Ramp, T., Patrian, B., Städler, E., Roessingh, P., Baur, R., Jong, R. D., Nielsen, J. K., Winkler, T., Richter, W. J., Müller, D. & Ernst, B.** (1999) Oviposition stimulants for the cabbage root fly: isolation from cabbage leaves. *Phytochemistry*, 51, 377-382.
- Hurtrel, B.** (2000) Biologie du developpement et écologie comportementale de deux parasitoïdes de mouches des fruits à la Réunion. Rennes, Rennes 1: 157.
- Husson, F., Pagès, J. & Lê, S.** (2010) *Exploratory multivariate analysis by example using R*, Chapman & Hall.
- Husson, R.** (1968) Taxie, tactisme et tropisme. *Bulletin of the World Health Organization*, 38, 799-802.
- Ibdah, M., Azulay, Y., Portnoy, V., Wasserman, B., Bar, E., Meir, A., Burger, Y., Hirschberg, J., Schaffer, A. A. & Katzir, N.** (2006) Functional characterization of

- CmCCD1*, a carotenoid cleavage dioxygenase from melon. *Phytochemistry*, 67, 1579-1589.
- Ioannou, C. S., Papadopoulos, N. T., Kouloussis, N. a., Tananaki, C. I. & Katsoyannos, B. I.** (2012) Essential oils of citrus fruit stimulate oviposition in the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Physiological Entomology*, 37, 330-339.
- Ito, Y. & Koyama, J.** (1982) Eradication of the melon fly: role of population ecology in the successful implementation of the sterile insect release method. *Protection ecology*, 4, 1-28.
- Iwahashi, O. & Majima, T.** (1986) Lek formation and male-male competition in the melon fly, *Dacus cucurbitae* Coquillett (Diptera: Tephritidae). *Appl. Entomol. Zool*, 21, 70-75.
- Jacobson, M., Keiser, I., Chambers, D. L., Miyashita, D. H. & Harding, C.** (1971) Synthetic nonenyl acetates as attractants for female melon flies. *Journal of Medicinal Chemistry*, 14, 236-239.
- Jacquard, C.** (2012) Structuration génétique et compétition au sein du complexe des Dacini (Diptera : Tephritidae) nuisibles aux Cucurbitacées à l'île de La Réunion, Université de La Réunion. Thèse de doctorat: 117.
- Jacquard, C., Virgilio, M., David, P., Quilici, S., Meyer, M. d. & Delatte, H.** (2013) Population structure of the melon fly, *Bactrocera cucurbitae*, in Reunion Island. *Biological Invasions*, 15, 759-773.
- Jaenike, J.** (1978) On optimal oviposition behavior in phytophagous insects. *Theoretical Population Biology*, 14, 350-356.
- Jaenike, J.** (1990) Host Specialization in Phytophagous Insects. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 21, 243-273.
- Jakobsen, H. B. & Olsen, C. E.** (1994) Influence of climatic factors on emission of flower volatiles *in situ*. *Planta*, 192, 365-371.
- Jander, R.** (1975) Ecological aspects of spatial orientation. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 6, 171-188.
- Jang, E. B., Carvalho, L. A. & Stark, J. D.** (1997) Attraction of Female Oriental Fruit Fly, *Bactrocera dorsalis* to Volatile Semiochemicals from Leaves and Extracts of a Nonhost Plant, *Panax* (*Polyscias guilfoylei*) in Laboratory and Olfactometer Assays. *Journal of Chemical Ecology*, 23, 1389-1401.
- Jang, E. B. & Light, D. M.** (1996) Olfactory semiochemicals of tephritids. *Fruit fly pests: a world assessment of their biology and management*. (B. A. McPherson and G. J. Steck), 73-90. St. Lucie Press, Delray Beach, FL.
- Jang, E. B., Light, D. M., Flath, R. A., Nagata, J. T. & Mon, T. R.** (1989) Electroantennogram responses of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* to identified volatile constituents from calling males. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, 50, 7-19.
- Jeffrey, C.** (1990) Systematics of the Cucurbitaceae: an overview. *Biology and utilisation of the Curcubitaceae*. (D. M. Bates, R. W. Robinson and C. Jeffrey), 3-9. Cornell University Press, New York.
- Joachim-Bravo, I. S. & Zucoloto, F. S.** (1997) Oviposition preference and larval performance in *Ceratitis capitata* (Díptera, Tephritidae). *Revista Brasileira de Zoologia*, 14, 795-802.
- Jones, R.** (1991) Host location and oviposition on plants. *Reproductive Behaviour of Insects* (W. J. Baily, J. Ridsdill-Smith and p. .), 108-138. Chapman & Hall, New York.

- Jones, R. E.** (1977) Movement patterns and egg distribution in cabbage butterflies. *Journal of Animal Ecology*, 46, 195-212.
- Jones, V. P.** (1988) Longevity of apple maggot (Diptera: Tephritidae) lures under laboratory and field conditions in Utah. *Environmental Entomology*, 17, 704-708.
- Jones, V. P. & Davis, D. W.** (1989) Evaluation of traps for apple maggot (Diptera: Tephritidae) populations associated with cherry and hawthorn in Utah. *Environmental Entomology*, 18, 521-525.
- Joulain, D. & Konig, W. A.** (1998) *The atlas of spectral data of sesquiterpene hydrocarbons*. Hamburg, E-B-Verlag.
- Kamala Jayanthi, P. D., Woodcock, C. M., Caulfield, J., Birkett, M. A. & Bruce, T. J. A.** (2012) Isolation and Identification of Host Cues from Mango, *Mangifera indica*, That Attract Gravid Female Oriental Fruit fly, *Bactrocera dorsalis*. *Journal of Chemical Ecology*, 38, 361-369.
- Katsoyannos, B. I., Boller, E. F. & Remund, U.** (1980) A simple olfactometer for the investigation of sex pheromones and other olfactory attractants in fruit flies and moths. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, 90, 105-112.
- Kaufman, L. & Rousseeuw, P. J.** (2009) *Finding groups in data: An introduction to cluster analysis*. New York, John Wiley & Sons.
- Keiser, I., Kobayashi, R. M., Miyashita, D. H., Jacobson, M., Harris, E. J. & Chambers, D. I.** (1973) Trans-6-Nonen-1-ol Acetate: An Ovipositional Attractant and Stimulant of the Melon Fly. *Journal of Economic Entomology*, 66, 1355-1356.
- Kemp, T. R., Knavel, D. E. & Stoltz, L. P.** (1974) Identification of some volatile compounds from cucumber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 22, 717-718.
- Kennedy, J. S.** (1977) Olfactory responses to distant plants and other odor sources. *Chemical control of insect behavior, theory and application*. (H. H. Shorey and J. McKelvey), 67-91. John Wiley, New York.
- Kennedy, J. S.** (1983) Zigzagging and casting as a programmed response to wind-borne odour: a review. *Physiological Entomology*, 8, 109-120.
- Kennedy, J. S.** (1986) Some current issues in orientation to odour sources. *Mechanisms in insect olfaction* (T. L. Payne, T. C. Birch and K. C.E.J.), 11-25. Oxford.
- Klassen, W., Lindquist, D. A. & Buyckx, E. J.** (1994) Overview of the Joint FAO/IAEA Division's involvement in fruit fly sterile insect technique programs. *Fruit flies and the sterile insect technique*, 3-26.
- Klowden, M. J.** (1990) The endogenous regulation of mosquito reproductive behavior. *Experientia*, 46, 660-670.
- Knipling, E. F.** (1955) Possibilities of insect control or eradication through the use of sexually sterile males. *Journal of Economic Entomology*, 48, 459-462.
- Knudsen, J. T., Eriksson, R., Gershenzon, J. & Stahl, B.** (2006) Diversity and distribution of floral scent. *Botanical Review*, 72, 1-120.
- Koyama, J., Kakinohana, H. & Miyatake, T.** (2004) Eradication of the melon fly, *Bactrocera cucurbitae*, in Japan: Importance of behavior, ecology, genetics, and evolution. *Annual Review of Entomology*, 49, 331-349.
- Kuba, H. & Koyama, J.** (1985) Mating behavior of wild melon flies, *Dacus cucurbitae* Coquillett (Diptera: Tephritidae) in a field cage: courtship behavior. *Applied Entomology and Zoology*, 20, 365-372.

- Kuba, H. & Sokei, Y.** (1988) The production of pheromone clouds by spraying in the melon fly, <i>Dacus cucurbitae</i> coquillett (Diptera: Tephritidae). *Journal of Ethology*, 6, 105-110.
- Lange, B. M. & Croteau, R.** (1999) Isopentenyl diphosphate biosynthesis via a mevalonate-independent pathway: isopentenyl monophosphate kinase catalyzes the terminal enzymatic step. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96, 13714-13719.
- Law, J. H. & Regnier, F. E.** (1971) Pheromones. *Annual Review of Biochemistry*, 40, 533-548.
- Liang, P. H., Ko, T. P. & Wang, A. H. J.** (2002) Structure, mechanism and function of prenyltransferases. *European Journal of Biochemistry*, 269, 3339-3354.
- Light, D. M. & Jang, E. B.** (1996) Plant volatiles evoke and modulate tephritid behavior. *Fruit Fly Pests: A World Assessment of Their Biology and Management*. (B. A. McPherson and G. J. Steck), 123-133. St. Lucie Press, Delray Beach, Florida.
- Light, D. M., Jang, E. B. & Dickens, J. C.** (1988) Electroantennogram responses of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*, to a spectrum of plant volatiles. *Journal of Chemical Ecology*, 14, 159-180.
- Ligor, T. & Buszewski, B.** (2008) Single-drop microextraction and gas chromatography–mass spectrometry for the determination of volatile aldehydes in fresh cucumbers. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 391, 2283-2289.
- Linn, C., Nojima, S. & Roelofs, W.** (2005) Antagonist effects of non-host fruit volatiles on discrimination of host fruit by *Rhagoletis flies* infesting apple (*Malus pumila*), hawthorn (*Crataegus spp.*), and flowering dogwood (*Cornus florida*). *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, 114, 97-105.
- Linn, C. J., Feder, J. L., Nojima, S., Dambroski, H., Berlocher, S. H. & Roelofs, W.** (2003) Fruit odor discrimination and sympatric race formation in *Rhagoletis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100, 11490-11493
- Liu, Y. C. & Hwang, R. H.** (2000) Preliminary study on the attractiveness of volatile constituents of host fruits to *Bactrocera dorsalis* Hendel. *Plant Protection Bulletin (Taipei)*, 42, 147-158.
- Loreto, F., Barta, C., Brill, F. & Nogues, I.** (2006) On the induction of volatile organic compound emissions by plants as consequence of wounding or fluctuations of light and temperature. *Plant, Cell & Environment*, 29, 1820-1828.
- Malo, E. A., Gallegos-Torres, I., Toledo, J., Valle-Mora, J. & Rojas, J. C.** (2012) Attraction of the West Indian fruit fly to mango fruit volatiles. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 142, 45-52.
- Massa, M. J., Robacker, D. C. & Patt, J.** (2008) Identification of grape juice aroma volatiles and attractiveness to the Mexican fruit fly (Diptera : Tephritidae). *Florida Entomologist*, 91, 266-276.
- Matanmi, B. A.** (1975) The biology of tephritid fruit flies (Diptera Tephritidae) attacking cucurbits at Ife Ife, Nigeria. *Nigerian Journal of Entomology*, 1, 153-159
- May, M. L. & Ahmad, S.** (1983) Host location in the Colorado potato beetle: searching mechanisms in relation to oligophagy. *Herbivorous insects: host seeking behavior and mechanisms*. (S. Ahmad), 173-200. Academic Press, New York.
- Mayhew, P. J.** (2001) Herbivore host choice and optimal bad motherhood. *Trends in Ecology & Evolution*, 16, 165-167.

- McDonald, R. S. & Borden, J. H.** (1997) Host-finding and upwind anemotaxis by *Delia antiqua* (Diptera: Anthomyiidae) in relation to age, ovarian development, and mating status. *Environmental Entomology*, 26, 624-631.
- McGarvey, D. J. & Croteau, R.** (1995) Terpenoid metabolism. *The Plant Cell*, 7, 1015.
- McLafferty, F. W., Stauffer, D. B., Stenhagen, E. & Heller, S. R.** (1989) The Wiley/NBS Registry of Mass Spectral Data. New York, Wiley.
- Menet, M.-C.** (2011) Principes de la spectrométrie de masse. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2011, 41-53.
- Messina, F. J.** (1989) Host-plant variables influencing the spatial distribution of a frugivorous fly, <i>Rhagoletis indifferens</i>. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, 50, 287-294.
- Metcalf, R. L. & Lampman, R. L.** (1989) The chemical ecology of Diabroticites and Cucurbitaceae. *Experientia*, 45, 240-247.
- Metcalf, R. L. & Lampman, R. L.** (1991) Evolution of diabroticite rootworm beetle (Chrysomelidae) receptors for Cucurbita blossom volatiles. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88, 1869-1872.
- Metcalf, R. L., Lampman, R. L. & Deem-Dickson, L.** (1995) Indole as an olfactory synergist for volatile kairomones for diabroticite beetles. *Journal of Chemical Ecology*, 21, 1149-1162.
- Metcalf, R. L. & Metcalf, E. R.** (1992) Fruit flies of the family Tephritidae. *Plant Kairomones in Insect Ecology and Control*. (R. L. Metcalf and E. R. Metcalf), 109-152. Chapman and Hall, New York.
- Miller, J. R., Siegert, P. Y., Amimo, F. A. & Walker, E. D.** (2009) Designation of chemicals in terms of the locomotor responses they elicit from insects. *Journal of Economic Entomology*, 102, 2056-2060.
- Miller, J. R. & Strickler, K. L.** (1984) Finding and accepting host plants. *Chemical ecology of insects* 529. (J. Bell and R. T. Carde), 127-157. Chapman & Hall, London.
- Miller, N. W., Vargas, R. I., Prokopy, R. J. & Mackey, B. E.** (2004) State-dependent attractiveness of protein bait and host fruit odor to *Bactrocera cucurbitae* (Diptera : Tephritidae) females. *Annals of the Entomological Society of America*, 97, 1063-1068.
- Minkenbergh, O. P., Tatar, M. & Rosenheim, J. A.** (1992) Egg load as a major source of variability in insect foraging and oviposition behavior. *Oikos*, 134-142.
- Miyatake, T.** (1993) Difference in the larval and pupal periods between mass-reared and wild strains of the melon fly, *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) (Diptera: Tephritidae). *Applied Entomology and Zoology*, 28.
- Miyatake, T.** (1996) Comparison of adult life history traits in lines artificially selected for long and short larval and pupal developmental periods in the melon fly, *Bactrocera cucurbitae* (Diptera: Tephritidae). *Applied Entomology and Zoology*, 31, 335-343.
- Monge, J. P. & Cortesero, A. M.** (1996) Tritrophic interactions among larval parasitoids, bruchids and Leguminosae seeds; influence of pre-and post-emergence learning on parasitoids' response to host and host-plant cues. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, 80, 293-296.
- Murlis, J., Elkinton, J. S. & Carde, R. T.** (1992) Odor plumes and how insects use them. *Annual Review of Entomology*, 37, 505-532.
- Mwatawala, M., Maerere, A. P., Makundi, R. & De Meyer, M.** (2010) Incidence and host range of the melon fruit fly *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) (Diptera: Tephritidae) in Central Tanzania. *International Journal of Pest Management*, 56, 265-273.

- Nakamori, H., Nishimura, M. & Kakinohana, H.** (1988). Eradication of the oriental fruit fly, *Dacus dorsalis* Hendel (Diptera: Tephritidae), from Miyako and Yaeyama Islands by the male annihilation method. Proceedings of the first international symposium on fruit flies in tropics. Malaysian Agricultural Research and Development Institute, Kuala Lumpur.
- Natale, D., Mattiacci, L., Hern, A., Pasqualini, E. & Dorn, S.** (2003) Response of female *Cydia molesta* (Lepidoptera : Tortricidae) to plant derived volatiles. *Bulletin of Entomological Research*, 93, 335-342.
- Negre-Zakharov, F., Long, M. C. & Dudareva, N.** (2009) Floral scents and fruit aromas inspired by nature. *Plant-derived Natural Products*, 405-431. Springer.
- Nigg, H. N., Mallory, L. L., Simpson, S. E., Callahan, S. B., Toth, J. P., Fraser, S., Klim, M., Nagy, S., Nation, J. L. & Attaway, J. A.** (1994) Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa* (Loew), attraction to host fruit and host kairomones. *Journal of Chemical Ecology*, 20, 727-743.
- Nishida, T. & Bess, H. A.** (1957) Studies on the ecology and control of the melon fly *Dacus (Strumeta) cucurbitae* Coquillett (Diptera : Tephritidae). *Technical Bulletin of the Hawaii Agricultural Experiment Station*, 34, 1-44.
- Nojima, S., Linn Jr, C., Morris, B., Zhang, A. & Roelofs, W.** (2003) Identification of host fruit volatiles from hawthorn (*Crataegus* spp.) attractive to hawthorn-origin *Rhagoletis pomonella* flies. *Journal of Chemical Ecology*, 29, 321-336.
- Nordlund, D. A. & Lewis, W.** (1976) Terminology of chemical releasing stimuli in intraspecific and interspecific interactions. *Journal of Chemical Ecology*, 2, 211-220.
- Norrbom, A. L.** (2004) "Fruit fly (Tephritidae) names and bibliography database." from <http://www.sel.barc.usda.gov>.
- Obando-Ulloa, J. M., Moreno, E., García-Mas, J., Nicolai, B., Lammertyn, J., Monforte, A. J. & Fernández-Trujillo, J. P.** (2008) Climacteric or non-climacteric behavior in melon fruit: 1. Aroma volatiles. *Postharvest Biology and Technology*, 49, 27-37.
- Obando-Ulloa, J. M., Ruiz, J., Monforte, A. J. & Fernández-Trujillo, J. P.** (2010) Aroma profile of a collection of near-isogenic lines of melon (*Cucumis melo* L.). *Food Chemistry*, 118, 815-822.
- OEPP/EPPO** (1983) Data sheets on quarantine organisms, Trypetidae (non-European). *Bulletin OEPP/EPPO* OEPP/EPPO. 41.
- OEPP/EPPO** (2006) Distribution map of *Bactrocera cucurbitae*.
- Orian, A. J. E. & Moutia, L. A.** (1960) Fruit flies of economic importance in Mauritius. *Revue Agricole et Sucrière de l'Ile Maurice*, 39, 142-150.
- Palma-Harris, C., McFeeters, R. F. & Fleming, H. P.** (2001) Solid-phase microextraction (SPME) technique for measurement of generation of fresh cucumber flavor compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4203-4207.
- Paolini, J., Leandri, C., Desjobert, J.-M., Barboni, T. & Costa, J.** (2008) Comparison of liquid-liquid extraction with headspace methods for the characterization of volatile fractions of commercial hydrolats from typically Mediterranean species. *Journal of Chromatography A*, 1193, 37-49.
- Papadopoulos, N. T., Katsoyannos, B. I., Kouloussis, N. A. & Hendrichs, J.** (2001) Effect of orange peel substances on mating competitiveness of male *Ceratitis capitata*. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, 99, 253-261.
- Papaj, D. R.** (2000) Ovarian dynamics and host use. *Annual Review of Entomology*, 45, 423-448.

- Papaj, D. R. & Prokopy, R. J.** (1989) Ecological and evolutionary aspects of learning in phytophagous insects. *Annual Review of Entomology*, 34, 315-350.
- Papet, Y., Brunet, B. & Mura, P.** (2010). Headspace (HS) et micro-extraction en phase solide (SPME). Théorie et applications. *Annales de Toxicologie Analytique*.
- Paré, P. W. & Tumlinson, J. H.** (1999) Plant volatiles as a defense against insect herbivores. *Plant Physiology*, 121, 325-332.
- Parliment, T. H., Kolor, M. G., Rizzo, D. J. & Herzing-Giordano, D.** (1981). Volatile Constituents of Pumpkins. Quality of selected fruits and vegetables of North America: based on a symposium sponsored by the Division of Agricultural and Food Chemistry at the second Chemical Congress of the North American Continent (180th ACS National Meeting), Las Vegas, Nevada.
- Pawliszyn, J.** (1999) *Quantitative aspects of SPME*. Hertfordshire, UK, RSC.Chromatography monographs.
- Pawliszyn, J.** (2000) Theory of solid-phase microextraction. *Journal of Chromatographic Science*, 38, 270-278.
- Peterson, M. A. & Denno, R. F.** (1998) The influence of dispersal and diet breadth on patterns of genetic isolation by distance in phytophagous insects. *The American Naturalist*, 152, 428-446.
- Pichersky, E. & Gershenzon, J.** (2002) The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. *Current Opinion in Plant Biology*, 5, 237-243.
- Pichersky, E., Noel, J. P. & Dudareva, N.** (2006) Biosynthesis of plant volatiles: Nature's diversity and ingenuity. *Science*, 311, 808-811.
- Picimbon, J. F.** (2002) Les péri-récepteurs chimiosensoriels des insectes. *Medecine/Sciences*, 18, 1089-1094.
- Piñero, J. C., Jacome, I., Vargas, R. & Prokopy, R. J.** (2006) Response of female melon fly, *Bactrocera cucurbitae*, to host-associated visual and olfactory stimuli. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, 121, 261-269.
- Pitrat, M., Chauvet, M. & Foury, C.** (1997). Diversity, history and production of cultivated cucurbits. I International Symposium on Cucurbits 492.
- Poisot, T., Bever, J. D., Nemri, A., Thrall, P. H. & Hochberg, M. E.** (2011) A conceptual framework for the evolution of ecological specialisation. *Ecology Letters*, 14, 841-851.
- Price, P. W., Bouton, C. E., Gross, P., McPherson, B. A., Thompson, J. N. & Weis, A. E.** (1980) Interactions among three trophic levels: influence of plants on interactions between insect herbivores and natural enemies. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 11, 41-65.
- Prokopy, R., Drew, R. I., Sabine, B. E., Lloyd, A. & Hamacek, E.** (1991) Effect of physiological and experiential state of *Bactrocera tryoni* flies on intra-tree foraging behavior for food (bacteria) and host fruit. *Oecologia*, 87, 394-400.
- Prokopy, R. & Roitberg, B. D.** (1984) Fruit fly foraging behavior. *Fruit flies. Their biology, natural enemies and control* 3A.(A. S. Robinson and A. M. Hooper). Elsevier, Netherlands.
- Prokopy, R. J.** (1972) Evidence for a Marking Pheromone Deterring Repeated Oviposition in Apple Maggot Flies. *Environmental Entomology*, 1, 326-332.
- Prokopy, R. J., Averill, A. L., Bardinelli, C. M., Bowdan, E. S., Cooley, S. S., Crnjar, R. M., Dundulis, E. A., Roitberg, C. A., Spatcher, P. J., Tumlinson, J. H. & Weeks,**

- B. L.** (1982) Site of production of an oviposition-detering pheromone component in *Rhagoletis pomonella* flies. *Journal of Insect Physiology*, 28, 1-7, 9-10.
- Prokopy, R. J. & Bush, G. L.** (1973) Ovipositional responses to different sizes of artificial fruit by flies of *Rhagoletis pomonella* species group. *Annals of the Entomological Society of America*, 66, 927-929.
- Prokopy, R. J. & Haniotakis, G. E.** (1975) Responses of Wild and Laboratory-cultured *Dacus oleae* to Host Plant Color. *Annals of the Entomological Society of America*, 68, 73-77.
- Prokopy, R. J., Hu, X. P., Jang, E. B., Vargas, R. I. & Warthen, J. D.** (1998) Attraction of mature *Ceratitis capitata* females to 2-heptanone, a component of coffee fruit odor. *Journal of Chemical Ecology*, 24, 1293-1304.
- Prokopy, R. J., Jácóme, I. & Bigurra, E.** (2005) An index for assigning distances between odor-baited spheres on perimeter trees of orchards for control of apple maggot flies. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, 115, 371-377.
- Prokopy, R. J., Miller, N. W., Piñero, J. C., Oride, L., Chaney, N., Revis, H. & Vargas, R. I.** (2004) How effective is GF-120 fruit fly bait spray applied to border area sorghum plants for control of melon flies (Diptera: Tephritidae)? *Florida Entomologist*, 87, 354-360.
- Prokopy, R. J., Phillips, T. W., Vargas, R. I. & Jang, E. B.** (1997) Defining sources of coffee plant odor attractive to *Ceratitis capitata* flies. *Journal of Chemical Ecology*, 23, 1577-1587.
- Prokopy, R. J. & Vargas, R. I.** (1996) Attraction of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) flies to odor of coffee fruit. *Journal of Chemical Ecology*, 22, 807-820.
- Prokopy, R. J., Wright, S. E., Black, J. L., Hu, X. P. & McGuire, M. R.** (2000) Attracticidal spheres for controlling apple maggot flies: commercial-orchard trials. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, 97, 293-299.
- Quilici, S., Atiama-Nurbel, T. & Brévault, T.** (2014) Plant odors as fruit fly attractants. *Trapping tephritid fruit flies: lures, area-wide programs and trade implications*. (N. Epsky, E. J. Jang, J. Reyes, T. Shelly and R. Vargas). Springer.
- Quilici, S. & Jeuffrault, E.** (2001) *Plantes-hôtes des mouches des fruits : Maurice, Réunion, Seychelles*. St André, La Réunion, France, PRMF/COI, Imp. Graphica.
- Quilici, S., Schmitt, C., Vidal, J., Franck, A. & Deguine, J. P.** (2013) Adult diet and exposure to semiochemicals influence male mating success in *Ceratitis rosa* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Applied Entomology*, 137, 142-153.
- Qureshi, Z. A. & Hussain, T.** (1992) Efficacy of nu-lure and protein hydrolysate baits in controlling Ethiopian melon fly. *Pakistan Journal of Agricultural Research*, 13, 150-154.
- Ranganath, H. R. & Veenakumari, K.** (1996) Tomato (*Lycopersicon esculentum* Miller): A confirmed host of the melon fly *Bactrocera* (Zeugodacus) *cucurbitae* Coquillett. *Insect Environment*, 2, 3.
- Rasgado, M. A., Malo, E. A., Cruz-Lopez, L., Rojas, J. C. & Toledo, J.** (2009) Olfactory Response of the Mexican Fruit Fly (Diptera: Tephritidae) to Citrus aurantium Volatiles. *Journal of Economic Entomology*, 102, 585-594.
- Reissig, W.** (1974) Field tests of traps and lures for the apple maggot. *Journal of Economic Entomology*, 67, 484-486.
- Reissig, W., Stanley, B., Roelofs, W. & Schwarz, M.** (1985) Tests of synthetic apple volatiles in traps as attractants for apple maggot flies (Diptera: Tephritidae) in commercial apple orchards. *Environmental Entomology*, 14, 55-59.

- Reissig, W. H., Fein, B. L. & Roelofs, W. L.** (1982) Field tests of synthetic apple volatiles as apple maggot (Diptera: Tephritidae) attractants. *Environmental Entomology*, 11, 1294-1298.
- Riffell, J. A., Lei, H., Christensen, T. A. & Hildebrand, J. G.** (2009) Characterization and coding of behaviorally significant odor mixtures. *Current Biology*, 19, 335-340.
- Robacker, D., Warfield, W. & Flath, R.** (1992) A four-component attractant for the Mexican fruit fly, *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae), from host fruit. *Journal of Chemical Ecology*, 18, 1239-1254.
- Robacker, D. C.** (1991) Specific hunger in *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae): Effects on attractiveness of proteinaceous and fruit-derived lures. *Environmental Entomology*, 20, 1680-1686.
- Robacker, D. C. & Heath, R. R.** (1996) Attraction of Mexican fruit flies (Diptera: Tephritidae) to lures emitting host-fruit volatiles in a citrus orchard. *The Florida Entomologist*, 79, 600-602.
- Robert, P. C.** (1986) Les relations plantes-insectes phytophages chez les femelles pondeuses: le rôle des stimulus chimiques et physiques. Une mise au point bibliographique. *Agronomie*, 6, 127-142.
- Rohmer, M.** (2003) Mevalonate-independent methylerythritol phosphate pathway for isoprenoid biosynthesis. Elucidation and distribution. *Pure and applied chemistry*, 75, 375-388.
- Roitberg, B. D., Cairl, R. S. & Prokopy, R. J.** (1984) Oviposition deterring pheromone influences dispersal distance in tephritid fruit flies. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, 35, 217-220.
- Root, R. B. & Kareiva, P. M.** (1984) The search for resources by cabbage butterflies (*Pieris rapae*): ecological consequences and adaptive significance of Markovian movements in a patchy environment. *Ecology*, 65, 147-165.
- Rosipal, R. & Krämer, N.** (2006) Overview and recent advances in partial least squares. *Subspace, Latent Structure and Feature Selection*, 34-51. Springer.
- Rossler, Y.** (1989) Insecticidal bait and cover sprays. *Fruit flies, their biology, natural enemies and control*. (A. S. Robinson and G. Hopper), 329-336. Elsevier, Amsterdam.
- Rull, J. & Prokopy, R.** (2000) Attraction of apple maggot flies, *Rhagoletis pomonella* (Diptera: Tephritidae) of different physiological states to odour-baited traps in the presence and absence of food. *Bulletin of Entomological Research*, 90, 77-88.
- Rull, J. & Prokopy, R. J.** (2005) Interaction between natural and synthetic fruit odor influences response of apple maggot flies to visual traps. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, 114, 79-86.
- Ruther, J. & Kleier, S.** (2005) Plant-plant signaling: ethylene synergizes volatile emission in *Zea mays* induced by exposure to (Z)-3-hexen-1-ol. *Journal of Chemical Ecology*, 31, 2217-2222.
- Ryckewaert, P., Deguine, J. P., Brévault, T. & Vayssieres, J. F.** (2010) Fruit flies (Diptera: Tephritidae) on vegetable crops in Reunion Island (Indian Ocean): state of knowledge, control methods and prospects for management. *Fruits*, 65, 113-130.
- Satpathy, S. & Rai, S.** (2002) Luring ability of indigenous food baits for fruit fly, *Bactrocera cucurbitae* (Coq.). *Journal of Entomological Research*, 26, 249-252.
- Scala, A., Allmann, S., Mirabella, R., Haring, M. A. & Schuurink, R. C.** (2013) Green Leaf Volatiles: A Plant's Multifunctional Weapon against Herbivores and Pathogens. *International journal of molecular sciences*, 14, 17781-17811.

- Schieberle, P., Ofner, S. & Grosch, W.** (1990) Evaluation of Potent Odorants in Cucumbers (*Cucumis sativus*) and Muskmelons (*Cucumis melo*) by Aroma Extract Dilution Analysis. *Journal of Food Science*, 55, 193-195.
- Schoonhoven, L. M., Loon, J. v. & Dicke, M.** (2005) *Insect-plant biology*. Oxford, UK, Oxford University Press.
- Schwab, W., Davidovich-Rikanati, R. & Lewinsohn, E.** (2008) Biosynthesis of plant-derived flavor compounds. *The Plant Journal*, 54, 712-732.
- Shalit, M., Katzir, N., Tadmor, Y., Larkov, O., Burger, Y., Shalekhet, F., Lastochkin, E., Ravid, U., Amar, O., Edelstein, M., Karchi, Z. & Lewinsohn, E.** (2001) Acetyl-CoA: Alcohol acetyltransferase activity and aroma formation in ripening melon fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 794-799.
- Shiga, M.** (1989) Current programme in Japan. *Fruit flies, their biology, Natural enemies and Control* 3B.(A. S. Robinson and G. Hopper), 365-374. Elsevier, Amsterdam.
- Siderhurst, M. S. & Jang, E. B.** (2010) Cucumber Volatile Blend Attractive to Female Melon Fly, *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett). *Journal of Chemical Ecology*, 36, 699-708.
- Sim, S. B., Mattsson, M., Feder, J. L., Cha, D. H., Yee, W. L., Goughnour, R. B., Linn Jr, C. E. & Feder, J. L.** (2012) A field test for host fruit odour discrimination and avoidance behaviour for *Rhagoletis pomonella* flies in the western United States. *Journal of Evolutionary Biology*, 25, 961-971.
- Simkin, A. J., Schwartz, S. H., Auldridge, M., Taylor, M. G. & Klee, H. J.** (2004a) The tomato carotenoid cleavage dioxygenase 1 genes contribute to the formation of the flavor volatiles β -ionone, pseudoionone, and geranylacetone. *The Plant Journal*, 40, 882-892.
- Simkin, A. J., Underwood, B. A., Auldridge, M., Loucas, H. M., Shibuya, K., Schmelz, E., Clark, D. G. & Klee, H. J.** (2004b) Circadian regulation of the PhCCD1 carotenoid cleavage dioxygenase controls emission of β -ionone, a fragrance volatile of petunia flowers. *Plant Physiology*, 136, 3504-3514.
- Simpson, S. J. & White, P. R.** (1990) Associative learning and locust feeding: evidence for a "learned hunger" for protein. *Animal Behaviour*, 40, 506-513.
- Singer, M.** (2000) Reducing ambiguity in describing plant-insect interactions: "preference", "acceptability" and "electivity". *Ecology Letters*, 3, 159-162.
- Sivinski, J., Aluja, M., Pinero, J. & Ojeda, M.** (2004) Novel analysis of spatial and temporal patterns of resource use in a group of tephritid flies of the genus *Anastrepha*. *Annals of the Entomological Society of America*, 97, 504-512.
- Stark, J. D., Vargas, R. I. & Thalman, R. K.** (1991) Diversity and abundance of oriental fruit fly parasitoids (Hymenoptera: Braconidae) in guava orchards in Kauai, Hawaii. *Journal of Economic Entomology*, 84, 1460-1467.
- Staudt, M. & Bertin, N.** (1998) Light and temperature dependence of the emission of cyclic and acyclic monoterpenes from holm oak (*Quercus ilex* L.) leaves. *Plant, Cell & Environment*, 21, 385-395.
- Steeghs, M., Bais, H. P., De Gouw, J., Goldan, P., Kuster, W., Northway, M., Fall, R. & Vivanco, J.** (2004) Proton-Transfer-Reaction Mass Spectrometry as a New Tool for Real Time Analysis of Root-Secreted Volatile Organic Compounds in Arabidopsis. *Plant Physiology*, 135, 47-58.
- Steiner, L. F. & Lee, R. K.** (1955) Large area tests of male annihilation method for oriental fruit fly control. *Journal of Economic Entomology* 48, 311-317.

- Stelinski, L. L. & Liburd, O. E.** (2002) Attraction of apple maggot flies, *Rhagoletis pomonella* (Walsh)(Diptera: Tephritidae), to synthetic fruit volatile compounds and food attractants in Michigan apple orchards. *Great Lakes Entomology*, 35, 37-46.
- Stephenson, A. G., Leyshon, B., Travers, S. E., Hayes, C. N. & Winsor, J. A.** (2004) Interrelationships among inbreeding, herbivory, and disease on reproduction in a wild gourd. *Ecology*, 85, 3023-3034.
- Stoffolano, J. G., Applebaum, S. W. & Yin, C. M. T.** (1993) The endocrine system of the Tephritidae. *Fruit flies: biology and management*.(M. Aluja and P. Liedo), 47-50. Springer Verlag, New York.
- Syed, R. A.** (1969) Studies on the ecology of some important species of fruit flies and their natural enemies in West Pakistan, Pakistan Commonwealth Institute- Biological Control Station 12.
- Tallamy, D. W. & Krischik, V. A.** (1989) Variation and function of cucurbitacins in Cucurbita: an examination of current hypotheses. *American Naturalist*, 766-786.
- Thiéry, D. & Marion-Poll, F.** (1998) Electroantennogram responses of Douglas-fir seed chalcids to plant volatiles. *Journal of Insect Physiology*, 44, 483-490.
- Thiéry, D. & Visser, J. H.** (1986) Masking of host plant odour in the olfactory orientation of the Colorado potato beetle. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, 41, 165-172.
- Thiéry, D. & Visser, J. H.** (1987) Misleading the Colorado potato beetle with an odor blend. *Journal of Chemical Ecology*, 13, 1139-1146.
- Thompson, J. N.** (1988) Evolutionary ecology of the relationship between oviposition preference and performance of offspring in phytophagous insects. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, 47, 3-14.
- Thompson, J. N. & Pellmyr, O.** (1991) Evolution of oviposition behavior and host preference in Lepidoptera. *Annual Review of Entomology*, 36, 65-89.
- Timothy, J. N.** (1993) *New opportunities in the Cucurbitaceae*. New York, Wiley.
- TNO-CIVO** (1989) *Volatile Compounds in Food- Qualitative and Quantitative Data*. Zeist, The Netherlands, Centraal Instituut Voor Voedingsonderzoek TNO,.
- Toledo, J., Malo, E. A., Cruz-López, L. & Rojas, J. C.** (2009) Field evaluation of potential fruit-derived lures for *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Economic Entomology*, 102, 2072-2077.
- Vaničková, L., do Nascimento, R. R., Hoskovec, M., Ježková, Z., Břízová, R., Tomčala, A. & Kalinová, B.** (2012) Are the Wild and Laboratory Insect Populations Different in Semiochemical Emission? The Case of the Medfly Sex Pheromone. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 7168-7176.
- Vapnik, V., Golowich, S. E. & Smola, A.** (1997) Support vector method for function approximation, regression estimation, and signal processing. *Advances in neural information processing systems*, 281-287.
- Vargas, R. I., Miyashita, D. H. & Nishida, T.** (1984) Life history and demographic parameters of three laboratory-reared tephritids (Diptera: Tephritidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 77, 651-656.
- Vargas, R. I., Stark, J. D. & Nishida, T.** (1990) Population Dynamics, Habitat Preference, and Seasonal Distribution Patterns of Oriental Fruit Fly and Melon Fly (Diptera: Tephritidae) in an Agricultural Area. *Environmental Entomology*, 19, 1820-1828.
- Vargas, R. I., Stark, J. D., Uchida, G. K. & Purcell, M.** (1993) Opiine parasitoids (Hymenoptera: Braconidae) of oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae) on Kauai island,

- Hawaii: islandwide relative abundance and parasitism rates in wild and orchard guava habitats. *Environmental Entomology*, 22, 246-253.
- Vargas, R. I., Walsh, W. A., Kanehisa, D., Jang, E. B. & Armstrong, J. W.** (1997) Demography of four Hawaiian fruit flies (Diptera: Tephritidae) reared at five constant temperatures. *Annals of the Entomological Society of America*, 90, 162-168.
- Vargas, R. I., Walsh, W. A., Kanehisa, D., Stark, J. D. & Nishida, T.** (2000) Comparative demography of three Hawaiian fruit flies (Diptera : Tephritidae) at alternating temperatures. *Annals of the Entomological Society of America*, 93, 75-81.
- Varmuza, K. & Filzmoser, P.** (2009) *Introduction to multivariate statistical analysis in chemometrics*, CRC press.
- Vayssières, J.-F., Rey, J.-Y. & Traoré, L.** (2007) Distribution and host plants of *Bactrocera cucurbitae* in West and Central Africa. *Fruits*, 62, 391-396.
- Vayssières, J. F.** (1999) Les relations insectes-plantes chez les Dacini (Diptera-Tephritidae) ravageurs des Cucurbitaceae à La Réunion, Muséum d'Histoire Naturelle de Paris. Thèse de doctorat: 205.
- Vayssières, J. F., Carel, Y., Coubes, M. & Duyck, P. F.** (2008) Development of immature stages and comparative demography of two cucurbit-attacking fruit flies in Reunion Island: *Bactrocera cucurbitae* and *Dacus ciliatus* (Diptera Tephritidae). *Environmental Entomology*, 37, 307-314.
- Vazquez-Luna, A., Rivera-Cabrera, F., Perez-Flores, L. J. & Diaz-Sobac, R.** (2011) Effect of rootstock on mango fruit susceptibility to infestation by *Anastrepha obliqua*. *Journal of Economic Entomology*, 104, 1991-1998.
- Vet, L. E. & Dicke, M.** (1992) Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. *Annual Review of Entomology*, 37, 141-172.
- Vet, L. E. M., Lewis, W. J. & Cardé, R. T.** (1995) Chemoreception and integration: Parasitoid foraging and learning. *Chemical Ecology of Insects*. (R. T. Cardé and W. J. Bell), 65-101. Chapman & Hall, New York.
- Via, S.** (1990) Ecological genetics and host adaptation in herbivorous insects: the experimental study of evolution in natural and agricultural systems. *Annual Review of Entomology*, 35, 421-446.
- Visser, J. & Avé, D.** (1978) General green leaf volatiles in the olfactory orientation of the Colorado beetle *Leptinotarsa decemlineata*. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, 24, 738-749.
- Visser, J. H.** (1986) Host odor perception in phytophagous insects. *Annual Review of Entomology*, 31, 121-144.
- Visser, J. H.** (1988) Host-plant finding by insects: Orientation, sensory input and search patterns. *Journal of Insect Physiology*, 34, 259-268.
- Visser, J. H. & Nielsen, J. K.** (1977) Specificity in the olfactory orientation of the Colorado beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, 21, 14-22.
- Wall, C. & Perry, J. N.** (1987) Range of action of moth sex-attractant sources. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, 44, 5-14.
- Warthen, J. D., Lee, C. J., Jang, E. B., Lance, D. R. & McInnis, D. O.** (1997) Volatile, Potential Attractants from Ripe Coffee Fruit for Female Mediterranean Fruit Fly. *Journal of Chemical Ecology*, 23, 1891-1900.

- Wearing, C. & Hutchins, R.** (1973) α -Farnesene, a naturally occurring oviposition stimulant for the codling moth, *Laspeyresia pomonella*. *Journal of Insect Physiology*, 19, 1251-1256.
- Webster, B., Bruce, T., Pickett, J. & Hardie, J.** (2010) Volatiles functioning as host cues in a blend become nonhost cues when presented alone to the black bean aphid. *Animal Behaviour*, 79, 451-457.
- Weems, H. V.** (1964) Melon fly (*Dacus cucurbitae* Coquillett) (Diptera Tephritidae). *Entomology circular. Division of Plant Industry, Florida Department of Agriculture and Consumer Services*, 29, 1-2.
- Whitaker, T. W. & Davis, G. N.** (1962) *Cucurbits. Botany, cultivation, and utilization*.
- White, I. M., De Meyer, M. & Stonehouse, J. M.** (2000). A review of native and introduced fruit flies (Diptera: Tephritidae) in the Indian Ocean islands of Mauritius, Réunion and Seychelles. Indian Ocean Commission regional fruit fly symposium. , Flic en Flac, Mauritius.
- White, I. M. & Elson-Harris, M. M.** (1992) *Fruit flies of economic significance: their identification and bionomics*.
- Whittaker, R. H.** (1970) The biochemical ecology of higher plants. *Chemical Ecology* 43.(E. Sondheimer and J. B. Simeone). Academic Press, New York.
- Willis, M. A. & Baker, T. C.** (1984) Effects of intermittent and continuous pheromone stimulation on the flight behaviour of the oriental fruit moth, *Grapholita molesta*. *Physiological Entomology*, 9, 341-358.
- Winterhalter, P. & Rouseff, R.** (2002) Carotenoid-derived aroma compounds: an introduction. *Carotenoid-derived aroma compounds* 802.(P. Winterhalter and R. Rouseff), 1-17. American Chemical Society, Washington.
- Xue, H. W. & Wu, W. J.** (2013) Preferences of *Bactrocera cucurbitae* (Diptera: Tephritidae) to different colors: a quantitative investigation using virtual wavelength *Acta Entomologica Sinica*, 56, 161-166.
- Yang, P., Carey, J. R. & Dowell, R. V.** (1994) Comparative demography of two cucurbit-attacking fruit flies, *Bactrocera tau* and *B. cucurbitae* (Diptera: Tephritidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 87, 538-545.
- Yu, S. J.** (1984) Interactions of allelochemicals with detoxication enzymes of insecticide-susceptible and resistant fall armyworms. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 22, 60-68.
- Yu, S. J. & Hsu, E. L.** (1993) Induction of detoxification enzymes in phytophagous insects: Role of insecticide synergists, larval age, and species. *Archives of insect biochemistry and physiology*, 24, 21-32.
- Zacharuk, R. Y.** (1985) Antennae and sensilla. *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology* 6.(G. A. Kerkut and L. I. Gilbert), 1-69. Pergamon Press, Oxford.
- Zhang, A. J., Linn, C., Wright, S., Prokopy, R., Reissig, W. & Roelofs, W.** (1999) Identification of a new blend of apple volatiles attractive to the apple maggot, *Rhagoletis pomonella*. *Journal of Chemical Ecology*, 25, 1221-1232.
- Zhou, A. & McFeeters, R. F.** (1998) Volatile compounds in cucumbers fermented in low-salt conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 2117-2122.

Liste des tableaux et figures des annexes

Annexe 1

Planche 1.1. Extractions par *headspace* dynamique

Tableau 1.1. Les composés volatils des Cucurbitaceae : travaux antérieurs

Annexe 2

Tableau 2.1. Origine des semences et caractéristiques morphologiques (poids, longueur, largeur) des 27 fruits de Cucurbitaceae à 3 stades de maturité (jeune, intermédiaire, mature)

Annexe 3

Tableau 3.1. Composition chimique de l'espace de tête du *Cucurbita moschata* (butternut)

Figure 3.1. Profil d'émission des fruits de *Cucurbita moschata* (butternut) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Tableau 3.2. Composition chimique de l'espace de tête du *Lagenaria siceraria* (calebasse)

Figure 3.2. Profil d'émission des fruits de *Lagenaria siceraria* (calebasse) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Tableau 3.3. Composition chimique de l'espace de tête du *Sechium edule* (chouchou)

Figure 3.3. Profil d'émission des fruits de *Sechium edule* (chouchou) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Tableau 3.4. Composition chimique de l'espace de tête du *Cucurbita moschata* (citrouille)

Figure 3.4. Profil d'émission des fruits de *Cucurbita moschata* (citrouille) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Tableau 3.5. Composition chimique de l'espace de tête du *Coccinia grandis* (coccinia)

Figure 3.5. Profil d'émission des fruits de *Coccinia grandis* (coccinia) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Tableau 3.6. Composition chimique de l'espace de tête du *Cucumis sativus* (concombre antilla)

Figure 3.6. Profil d'émission des fruits de *Cucumis sativus* (concombre antilla) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Tableau 3.7. Composition chimique de l'espace de tête du *Cucumis sativus* (concombre F1-L04)

Figure 3.7. Profil d'émission des fruits de *Cucumis sativus* (concombre F1-L04) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Tableau 3.8. Composition chimique de l'espace de tête du *Cucumis metuliferus* (concombre kenya)

Figure 3.8. Profil d'émission des fruits de *Cucumis metuliferus* (concombre kenya) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Tableau 3.9. Composition chimique de l'espace de tête du *Cucumis sativus* (concombre pays)

Figure 3.9. Profil d'émission des fruits de *Cucumis sativus* (concombre pays) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Tableau 3.10. Composition chimique de l'espace de tête du *Cucumis sativus* (concombre showy green)

Figure 3.10. Profil d'émission des fruits de *Cucumis sativus* (concombre showy green) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Tableau 3.11. Composition chimique de l'espace de tête du *Cucumis sativus* (concombre tropical)

Figure 3.11. Profil d'émission des fruits de *Cucumis sativus* (concombre tropical) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Tableau 3.12. Composition chimique de l'espace de tête du *Cucumis sativus* (concombre vantage)

Figure 3.12. Profil d'émission des fruits de *Cucumis sativus* (concombre vantage) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Tableau 3.13. Composition chimique de l'espace de tête du *Cucurbita pepo* (courgette luna)

Figure 3.13. Profil d'émission des fruits de *Cucurbita pepo* (courgette luna) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Tableau 3.14. Composition chimique de l'espace de tête du *Cucurbita pepo* (courgette sofia)

Figure 3.14. Profil d'émission des fruits de *Cucurbita pepo* (courgette sofia) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Tableau 3.15. Composition chimique de l'espace de tête du *Cucurbita maxima* (giraumon)

Figure 3.15. Profil d'émission des fruits de *Cucurbita maxima* (giraumon) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Tableau 3.16. Composition chimique de l'espace de tête du *Momordica charantia* (margose cultivée)

Figure 3.16. Profil d'émission des fruits de *Momordica charantia* (margose cultivée) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Tableau 3.17. Composition chimique de l'espace de tête du *Cyclanthera pedata* (margose lisse)

Figure 3.17. Profil d'émission des fruits de *Cyclanthera pedata* (margose lisse) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Tableau 3.18. Composition chimique de l'espace de tête du *Momordica charantia* (margose sauvage)

Figure 3.18. Profil d'émission des fruits de *Momordica charantia* (margose sauvage) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Tableau 3.19. Composition chimique de l'espace de tête du *Cucumis melo* (melon)

Figure 3.19. Profil d'émission des fruits de *Cucumis melo* (melon) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Tableau 3.20. Composition chimique de l'espace de tête du *Citrullus lanatus* (pastèque baby doll)

Figure 3.20. Profil d'émission des fruits de *Citrullus lanatus* (pastèque baby doll) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Tableau 3.21. Composition chimique de l'espace de tête du *Citrullus lanatus* (pastèque flower mountain)

Figure 3.21. Profil d'émission des fruits de *Citrullus lanatus* (pastèque flower mountain) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Tableau 3.22. Composition chimique de l'espace de tête du *Citrullus lanatus* (pastèque longone)

Figure 3.22. Profil d'émission des fruits de *Citrullus lanatus* (pastèque longone) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Tableau 3.23. Composition chimique de l'espace de tête du *Cucurbita pepo* (patisson)

Figure 3.23. Profil d'émission des fruits de *Cucurbita pepo* (patisson) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Tableau 3.24. Composition chimique de l'espace de tête du *Trichosanthes cucumerina* (patole)

Figure 3.24. Profil d'émission des fruits de *Trichosanthes cucumerina* (patole) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Tableau 3.25. Composition chimique de l'espace de tête du *Luffa acutangula* (pipangaille à côte)

Figure 3.25. Profil d'émission des fruits de *Luffa acutangula* (pipangaille à côte) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Tableau 3.26. Composition chimique de l'espace de tête du *Luffa cylindra* (pipangaille lisse)

Figure 3.26. Profil d'émission des fruits de *Luffa cylindra* (pipangaille lisse) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Tableau 3.27. Composition chimique de l'espace de tête du *Cucurbita maxima* (potiron)

Figure 3.27. Profil d'émission des fruits de *Cucurbita maxima* (potiron) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Planche 1.1. Extractions par *headspace* dynamique

L'ensemble de ces techniques d'extraction dynamique consiste à piéger les composés volatils sur un matériau de piégeage. Les composés volatils recueillis, sont par la suite élués du piège par un solvant et sont analysés par chromatographie gazeuse.

• "Closed-Loop Stripping"

Dans le système « closed-loop stripping » (**Figure 1.1**), les composés volatils sont recueillis à l'intérieur d'un dispositif fermé en faisant circuler l'espace de tête d'ab(ad)sorption.

L'inconvénient de ce procédé est la forte réduction d'échange d'air entre l'intérieur et l'extérieur de la chambre, ce qui affecte l'échange de gaz de la plante pendant les longues périodes d'échantillonnage. Les composés volatils, qui ne sont pas ab(ad)sorbés dans le matériau de piégeage ou qui passent au travers du piège car la surface ab(ad)sorbante est saturée, s'accumulent dans la chambre et peuvent influencer le métabolisme de la plante

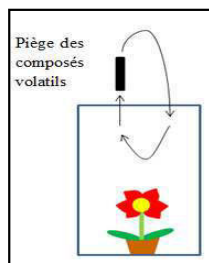


Figure 1.1. Extraction *head-space* dynamique par "Closed-Loop Stripping". (d'après (Tholl & Röse, 2006))

• "Pull systems"

Le "pull system" (**Figure 1.2**) est un piège ab(ad)sorbant connecté à une pompe à vide qui est directement positionnée à côté de la fleur. Ce procédé est adapté aux plantes qui émettent de grandes quantités de composés volatils mais il présente un fort risque de piéger de l'air ambiant contenant des impuretés, non liées à la fleur, risquant de masquer les composés mineurs des échantillons lors de l'analyse CG. L'isolement de la plante dans un petit récipient en verre ou dans un sac en

polyacétate libérant très peu de composés volatils peut réduire la quantité d'impuretés de l'air ambiant.

Bien que cette méthode soit simple à mettre en place, elle présente quelques inconvénients :

- La température peut augmenter quand la chambre est directement exposée au soleil ;
- L'humidité relative à l'intérieur de la chambre peut augmenter jusqu'à 100% dans un délai court et peut provoquer de la condensation sur les parois de la chambre ;
- L'utilisation d'un sac peut endommager les tissus de la plante lors de la pause altérant ainsi l'émission des composés volatils ;
- Des ouvertures dans la chambre peuvent fournir des sources supplémentaires d'air impur entrant dans le système.

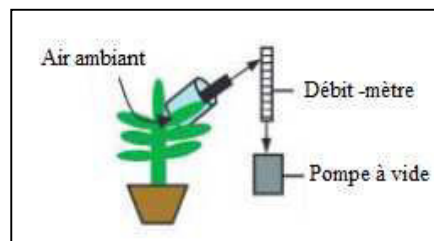


Figure 1.2. Extraction en *head-space* dynamique par "Pull systems". (d'après (Tholl *et al.*, 2006))

• "Push-pull systems "

Dans le système « push-pull » (**Figure 1.3 (a)**), de l'air purifié, pouvant être humidifié au niveau souhaité, est propulsé dans une chambre contenant la plante, avec un débit contrôlé et régulé par un débitmètre. Une quantité

définie de cet air est éliminée par une pompe à vide régulée par un deuxième débitmètre. Ainsi, un pourcentage connu des composés volatils émis est collecté. Pour éviter le vide ou une surpression du système, un dispositif de purge est placé dans la chambre. La ventilation à pression positive empêche l'air ambiant de contaminer les composés volatils recueillis.

Cette ventilation à pression positive est également utilisée dans quelques grandes chambres de collecte de verre dont le fond est constitué d'une sorte de guillotine (**Figure 1.3(b)**). La guillotine est constituée de deux lames amovibles revêtues de téflon qui ferment la partie inférieure de la chambre autour de la tige de la plante, en laissant une ouverture pour la tige lorsque les lames s'emboîtent. Ce système de collecte permet l'échantillonnage de composés volatils de certaines parties intactes de la plante en croissance tandis que la partie inférieure de la plante comprenant la terre et le pot, est complètement isolée. Les composés volatils recueillis sont par la suite élués du piège par un solvant et sont analysés par CG. Cette technique a été améliorée, avec l'automatisation par ordinateur qui permet l'analyse des échantillons à des intervalles de temps prédéfinis pendant plusieurs jours pour suivre l'évolution de l'émission de substances volatiles.

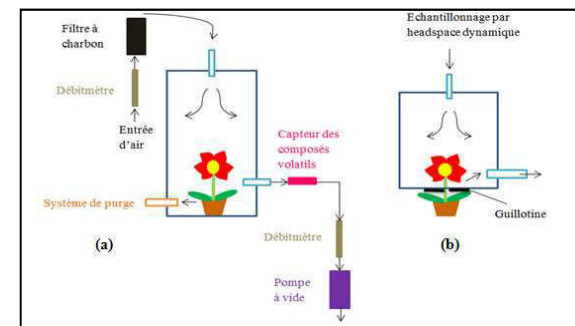


Figure 1.3. Extraction des composés volatils en "*head-space*" dynamique par "Push-Pull System". (a) Collecte avec les pièges à filtres ; (b) collecte par le système de guillotine (d'après (Tholl & Röse, 2006)).

Tableau 1.1. Les composés volatils des Cucurbitaceae : travaux antérieurs

Espèces	Organes étudiés	Techniques utilisées		Composés majoritaires	Références
		Extraction	Analyse		
<i>Citrullus lanatus</i>	Pulpe	SPME	CG-SM	(2E)-non-2-énal (6Z)-non-6-énal (2E),(6Z)-nona-2,6-diéнал 6-méthylhept-5-én-2-one (3Z)-non-3-én-1-ol 2-pentylfurane	(Beaulieu, 2006)
<i>Citrullus vulgaris</i>	Pulpe	Distillation vapeur sous vide	CG	nona-2,6-diéнал non-2-énal nona-3,6-dién-1-ol non-3-én-1-ol	(Kemp, 1975)
<i>Cucumis spp.</i> (concombre)	Pulpe	HS-SDME SPME	CG-SM	(2E),(6Z)-nona-2,6-diéнал (2E)-non-2-énal	(Ligor & Buszewski, 2008)
<i>Cucumis melo</i>	Pulpe	Distillation vapeur sous vide	CG-SM	acétate de 2-méthylbutyle (3E)-non-3-én-1-ol (6E)-non-6-én-1-ol	(Kemp <i>et al.</i> , 1973 ; Kemp <i>et al.</i> , 1974b)
	Pulpe	SPME	CG-SM	nonanol non-6-énol non-3-én-1-ol acétate d'hexyle acétate de benzyle nonanal	(Shalit <i>et al.</i> , 2001)
	Pulpe	SPME	CG-SM	hexanal camphre méthanethiolate	(Obando-Ulloa <i>et al.</i> , 2010)
	Pulpe	SPME	CG-SM	acide 4-hydroxy-1,2- benzènedicarboxylique pentadécanoate de méthyle ester butyrique 2-méthylpropyle d'acide 1,2-benzènedicarboxylique 4-hydroxybutan-2-one	(Tang <i>et al.</i> , 2010)
	Pulpe	SPME	CG-SM	acétate de benzyle acétate d'hexyle acétate de 2-méthylbutyle	(Shalit <i>et al.</i> , 2000)
<i>Cucumis melo</i> var <i>reticulatus</i>	Pulpe	SPME	CG-SM	acétate de benzyle acétate d'hexyle acétate de 2-méthylbutyle	(Shalit <i>et al.</i> , 2000)
<i>Cucumis melo</i> var dudaim	Peau et Pulpe	MELL	CG-DIF CG-SM	butanoate d'éthyle 2-méthylbutanoate d'éthyle acétate de 3-(méthylthio) propyle acétate de 2-(méthylthio) éthyle 2-méthylpropanol heptanal hexanal (3Z)-hex-3-énal	(Aubert & Pitrat, 2006)

Tableau 1.1. (suite)

<i>Cucumis melo</i> var inodorus	Pulpe (jus)	SPME	CG-SM	acétate d'éthyle hexanal 2-éthylhexan-1-ol méthyldisulfanylméthane méthanethiolate camphre acétone 2-éthylfurane	(Obando-Ulloa <i>et al.</i> , 2008)
<i>Cucumis melo</i> var reticulatus cv Sol Real	Pulpe	SPME	CG-SM	hexanal (2 <i>E</i>)-hex-2-éнал (2 <i>E</i>), (4 <i>Z</i>)-hepta-2,4-diéнал nonanal (2 <i>E</i>)-non-2-éнал (2 <i>E</i>), (4 <i>Z</i>)-nona-2,4-diéнал (2 <i>E</i>), (6 <i>Z</i>)-nona-2,6-diéнал (2 <i>E</i>)-oct-2-éнал 2-méthylbutanoate d'éthyle 2-méthylpropanoate d'éthyle 2-méthyl butanoate de méthyle	(Beaulieu & Grimm, 2001)
<i>Cucumis melo</i> var reticulatus	Pulpe (jus)	SPME	CG-SM	acétate de 3-méthylbutyle acétate de 2-méthylbutyle propanoate d'éthyle butanoate d'éthyle 2-méthyl butanoate de méthyle 2-méthyl butanoate d'éthyle eucalyptol alcool benzylique acétate de benzyle	(Beaulieu, 2006)
<i>Cucumis melo</i> var. reticulatus	Peau et Pulpe	Headspace dynamique- Super Q		acétate de (3 <i>Z</i>)-hex-3-ényle acétate d'hexanyle acétate de benzyle acétate de (3 <i>Z</i>)-oct-3-ényle acétate d'octanyle hexanoate d'isopentyle acétate de (3 <i>Z</i>)-dec-3-ényle β-caryophyllène (<i>E</i>)-β-farnesène Germacrène-D cadinène acétate de (3 <i>Z</i>)-dodéc-3-ényle	(Alagarmalai <i>et al.</i> , 2009)
<i>Cucumis melo</i> var cantalupensis	Pulpe	Extraction au dichloro- méthane	CG-DIF CG-SM	acétate de 2-méthylpropyle butanoate d'éthyle acétate de butyle acétate de 2-méthylbutyle acétate de benzyle acétate de 2-(méthylthio)éthyle acétate de 3-(méthylthio)propyle acétate d'éthyl-2-(méthylthio) alcool benzylique 3-hydroxybutan-2-one	(Aubert & Bourger, 2004)

Tableau 1.1. (suite)

<i>Cucumis sativus</i>	Pulpe	SPME	CG-DIF	2(<i>E</i>)-non-2-éнал (2 <i>E</i>),(6 <i>Z</i>)-nona-2,6-diéнал	(Palma-Harris <i>et al.</i> , 2001)
	Pulpe	SPME	CG-DIF	2,6(<i>E</i> , <i>Z</i>)-nona-2,6-diéнал	(Buescher & Buescher, 2001)
	Fruit vert	Distillation	CG-SM	2(<i>Z</i>)-non-2-éнал (2 <i>Z</i>),(6 <i>E</i>)-nona-2,6-diéнал	(Kemp <i>et al.</i> , 1974a)
	Pulpe + peau	SPME	CG-SM	nonanal nonanol (6 <i>Z</i>)-non-6-éнал (2 <i>E</i>),(6 <i>Z</i>)-nona-2,6-diéнал (2 <i>E</i>)-non-2-éнал (6 <i>Z</i>)-non-6-éanol décanal géranyl acétone tétradécanal	(Siderhurst & Jang, 2010)
<i>Cucurbita maxima</i>	Fleurs	Distillation	CG-DIF CG-SM	benzaldéhyde indole 1,4-diméthoxybenzène cadinène (3 <i>Z</i>)-hex-3-én-1-ol (2 <i>E</i>)-hex-2-én-1-ol	(Andersen, 1987)
<i>Cucurbita pepo</i>	Fleurs	HS-SPME	CG-BP/ SM-SM	1,4-diméthoxybenzène	(Mena Granero <i>et al.</i> , 2004)
	Pulpe		CG-SM	hexanal 2-hexanal <i>cis</i> -hex-3-én-1-ol	(Parliment <i>et al.</i> , 1981)
<i>Luffa acutangula</i> <i>Momordica</i> <i>charantia</i>	Fleurs	SPME	CG-SM	<i>trans</i> -β-ocimène linalol 2-aminobenzaldéhyde anthranilate de méthyle	(Fernando & Grun, 2001)
<i>Momordica</i> <i>charantia</i> L.	Pulpe	Distillation	CG-SM	myrténol <i>cis</i> -hex-3-én-1-ol alcool benzylique pent-1-én-3-ol <i>cis</i> -pent-2-én-1-ol <i>trans</i> -hex-2-éнал	(Binder <i>et al.</i> , 1989)

Tableau 1.1. (suite)

Références

- Alagarmalai, J., Nestel, D., Dragushich, D., Nemny-Lavy, E., Anshelevich, L., Zada, A. & Soroker, V. (2009) Identification of host attractants for the Ethiopian Fruit Fly, *Dacus ciliatus* Loew. *Journal of Chemical Ecology*, 35, 542-551.
- Andersen, J. F. (1987) The composition of the floral odor of *Cucurbita maxima* Duchesne (Cucurbitaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 35, 60-62.
- Aubert, C. & Bourger, N. (2004) Investigation of volatiles in Charentais cantaloupe melons (*Cucumis melo* var. cantalupensis). Characterization of aroma constituents in some cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 4522-4528.
- Aubert, C. & Pitrat, M. (2006) Volatile Compounds in the Skin and Pulp of Queen Anne's Pocket Melon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 8177-8182.
- Beaulieu, J. C. (2006) Volatile changes in cantaloupe during growth, maturation, and in stored fresh-cuts prepared from fruit harvested at various maturities. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 131, 127-139.
- Beaulieu, J. C. & Grimm, C. C. (2001) Identification of volatile compounds in cantaloupe at various developmental stages using solid phase microextraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 1345-1352.
- Binder, R. G., Flath, R. A. & Mon, T. R. (1989) Volatile components of bittermelon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37, 418-420.
- Buescher, R. H. & Buescher, R. W. (2001) Production and stability of (E,Z)-2,6-nonadienal, the major flavor volatile of cucumbers. *Journal of Food Science*, 66, 357-361.
- Fernando, L. N. & Grun, I. U. (2001) Headspace-SPME analysis of volatiles of the ridge gourd (*Luffa acutangula*) and bitter gourd (*Momordica charantia*) flowers. *Flavour and Fragrance Journal*, 16, 289-293.
- Kemp, T. R. (1975) Identification of some volatile compounds from *Citrullus vulgaris*. *Phytochemistry*, 14, 2637-2638.
- Kemp, T. R., Knavel, D. E. & Stoltz, L. P. (1973) Volatile *Cucumis melo* components: Identification of additional compounds and effects of storage conditions. *Phytochemistry*, 12, 2921-2924.
- Kemp, T. R., Knavel, D. E. & Stoltz, L. P. (1974a) Identification of some volatile compounds from cucumber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 22, 717-718.
- Kemp, T. R., Knavel, D. E., Stoltz, L. P. & Lundin, R. E. (1974b) 3,6-Nonadien-1-ol from *Citrullus vulgaris* and *Cucumis melo*. *Phytochemistry*, 13, 1167-1170.
- Ligor, T. & Buszewski, B. (2008) Single-drop microextraction and gas chromatography-mass spectrometry for the determination of volatile aldehydes in fresh cucumbers. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 391, 2283-2289.
- Mena Granero, A., Egea González, F. J., Garrido Frenich, A., Guerra Sanz, J. M. & Martínez Vidal, J. L. (2004) Single step determination of fragrances in *Cucurbita* flowers by coupling headspace solid-phase microextraction low-pressure gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1045, 173-179.
- Obando-Ulloa, J. M., Moreno, E., García-Mas, J., Nicolai, B., Lammertyn, J., Monforte, A. J. & Fernández-Trujillo, J. P. (2008) Climacteric or non-climacteric behavior in melon fruit: 1. Aroma volatiles. *Postharvest Biology and Technology*, 49, 27-37.
- Obando-Ulloa, J. M., Ruiz, J., Monforte, A. J. & Fernández-Trujillo, J. P. (2010) Aroma profile of a collection of near-isogenic lines of melon (*Cucumis melo* L.). *Food Chemistry*, 118, 815-822.
- Palma-Harris, C., McFeeters, R. F. & Fleming, H. P. (2001) Solid-phase microextraction (SPME) technique for measurement of generation of fresh cucumber flavor compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4203-4207.
- Parliment, T. H., Kolor, M. G., Rizzo, D. J. & Herzing-Giordano, D. (1981). Volatile Constituents of Pumpkins. Quality of selected fruits and vegetables of North America: based on a symposium sponsored by the Division of Agricultural and Food Chemistry at the second Chemical Congress of the North American Continent (180th ACS National Meeting), Las Vegas, Nevada.
- Shalit, M., Katzir, N., Larkov, O., Burger, Y., Shalekhet, F., Lastochkin, E., Ravid, U., Amar, O., Edelstein, M. & Lewinsohn, E. (2000). Aroma formation in muskmelons: volatile acetates in ripening fruits. VII Eucarpia Meeting on Cucurbit Genetics and Breeding 510.
- Shalit, M., Katzir, N., Tadmor, Y., Larkov, O., Burger, Y., Shalekhet, F., Lastochkin, E., Ravid, U., Amar, O., Edelstein, M., Karchi, Z. & Lewinsohn, E. (2001) Acetyl-CoA: Alcohol acetyltransferase activity and aroma formation in ripening melon fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 794-799.
- Siderhurst, M. S. & Jang, E. B. (2010) Cucumber Volatile Blend Attractive to Female Melon Fly, *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett). *Journal of Chemical Ecology*, 36, 699-708.
- Tang, M., Bie, Z., Wu, M., Yi, H. & Feng, J. (2010) Aroma Characterization of 'Flavor N°3' Melon Using Headspace-Solid Phase Microextraction Combined with Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Acta Horticulturae*, 513.

Tableau 2.1. Origine des semences et caractéristiques morphologiques (poids, longueur, largeur) des 27 fruits de Cucurbitaceae à trois stades de maturité (jeune, intermédiaire, mature)

	Noms scientifiques	Noms variétés	Producteur	Pays	Caractéristiques			Noms génériques
					fruit jeune	fruit moyen	fruit mature	
1	<i>Lagenaria siceraria</i>	calebasse longue	Cirad	France-Réunion	320 < P < 340 90 < L < 110 60 < l < 80	1200 < P < 1300 300 < L < 320 80 < l < 100	2700 < P < 2800 900 < L < 1000 110 < l < 120	calebasse
2	<i>Sechium edule</i>	chouchou	Cirad	France-Réunion	40 < P < 60 40 < L < 60 30 < l < 40	180 < P < 200 100 < L < 130 70 < l < 90	600 < P < 630 150 < L < 180 100 < l < 120	chouchou
3	<i>Cucurbita moschata</i>	citrouille pays	Cirad	France-Réunion	60 < P < 80 90 < L < 110 30 < l < 50	350 < P < 370 200 < L < 210 70 < l < 90	1300 < P < 1400 280 < L < 300 110 < l < 130	citrouille
4	<i>Coccinia grandis</i>	calebasse lierre (sauvage)	Cirad	France-Réunion	10 < P < 20 35 < L < 50 20 < l < 30		20 < P < 30 40 < L < 55 25 < l < 35	coccinia
5	<i>Cucumis sativus</i>	concombre antilla F1	Technisem	France	40 < P < 60 90 < L < 100 30 < l < 40	100 < P < 130 120 < L < 130 45 < l < 55	450 < P < 490 150 < L < 190 65 < l < 75	concombre antilla
6	<i>Cucumis sativus</i>	concombre F1-L04	Green.Co., LTD	Vietnam	49 < P < 55 100 < L < 120 20 < l < 30	170 < P < 190 150 < L < 160 40 < l < 50	350 < P < 400 170 < L < 190 55 < l < 65	concombre F1-L04
7	<i>Cucumis metuliferus</i>	concombre du Kenya	Vilmorin	France	40 < P < 48 55 < L < 70 25 < l < 30	140 < P < 160 100 < L < 110 40 < l < 55	280 < P < 300 115 < L < 125 60 < l < 70	concombre kenya
8	<i>Cucumis sativus</i>	concombre pays	Cirad	France-Réunion	20 < P < 40 50 < L < 70 20 < l < 30	100 < P < 130 120 < L < 150 40 < l < 55	350 < P < 370 160 < L < 180 70 < l < 90	concombre pays
9	<i>Cucumis sativus</i>	concombre showy green	Known-you seed Co., LTD	Taiwan	50 < P < 70 115 < L < 130 20 < l < 30	180 < P < 200 180 < L < 200 40 < l < 50	450 < P < 470 210 < L < 230 55 < l < 65	concombre showy green
10	<i>Cucumis sativus</i>	concombre tropical F1	Technisem	France	40 < P < 60 140 < L < 150 20 < l < 30	130 < P < 160 170 < L < 190 35 < l < 45	400 < P < 450 200 < L < 215 50 < l < 60	concombre tropical
11	<i>Cucumis sativus</i>	concombre vantage	Known-you seed Co., LTD	Taiwan	40 < P < 60 110 < L < 125 20 < l < 30	115 < P < 130 170 < L < 185 35 < l < 40	350 < P < 400 210 < L < 230 40 < l < 50	concombre vantage
12	<i>Cucurbita moschata</i>	courge musquée (Waltham butternut)	Vilmorin	France	25 < P < 35 50 < L < 70 25 < l < 35	270 < P < 300 110 < L < 130 50 < l < 70	680 < P < 700 150 < L < 170 80 < l < 100	butternut
13	<i>Cucurbita pepo</i>	courgette hybride F1 luna	Tropica	France	15 < P < 20 30 < L < 50 15 < l < 25	120 < P < 150 50 < L < 70 30 < l < 50	650 < P < 670 90 < L < 110 100 < l < 110	courgette luna
14	<i>Cucurbita pepo</i>	courgette sofia F1	Clause	France	15 < P < 25 50 < L < 70 10 < l < 20	35 < P < 50 90 < L < 110 25 < l < 35	230 < P < 250 180 < L < 200 45 < l < 55	courgette
15	<i>Cucurbita maxima</i>	giraumon F1 martinica	Tropica	France	450 < P < 480 80 < L < 95 80 < l < 95	2000 < P < 2200 120 < L < 140 120 < l < 140	2600 < P < 2700 130 < L < 150 150 < l < 170	giraumon
16	<i>Momordica charantia</i>	courge amère Naja	Green.Co., LTD	Vietnam	10 < P < 20 40 < L < 60 10 < l < 20	25 < P < 40 70 < L < 90 25 < l < 35	60 < P < 80 120 < L < 140 40 < l < 50	margose cultivée
17	<i>Cyclanthera pedata</i>	margose lisse	Cirad	France-Réunion	20 < P < 30 50 < L < 65 20 < l < 30	40 < P < 60 90 < L < 110 35 < L < 45	60 < P < 70 115 < L < 130 50 < l < 60	margose lisse
18	<i>Momordica charantia</i>	margose sauvage	Cirad	France-Réunion	5 < P < 10 30 < L < 40 15 < l < 25		15 < P < 25 40 < L < 50 50 < l < 60	margose sauvage
19	<i>Cucumis melo</i>	melon anasta F1	Clause	France	250 < P < 270 40 < L < 60 40 < l < 60	550 < P < 580 80 < L < 100 80 < l < 100	660 < P < 690 110 < L < 120 110 < l < 120	melon
20	<i>Citrullus lanatus</i>	pastèque baby doll F1	Technisem	France	240 < P < 260 90 < L < 110 60 < l < 75	1400 < P < 1600 160 < L < 170 125 < l < 135	2300 < P < 2400 210 < L < 230 140 < l < 155	pastèque baby doll
21	<i>Citrullus lanatus</i>	pastèque flower mountain F1	Known-you seed Co., LTD	Taiwan	250 < P < 280 80 < L < 100 60 < l < 70	1400 < P < 1700 170 < L < 190 130 < l < 140	1800 < P < 2000 220 < L < 250 150 < l < 160	pastèque flower mountain
22	<i>Citrullus lanatus</i>	pastèque longone F1	Technisem	France	240 < P < 260 80 < L < 100 50 < l < 70	1400 < P < 1500 150 < L < 170 120 < l < 140	1700 < P < 1800 220 < L < 240 110 < l < 130	pastèque longone
23	<i>Cucurbita pepo</i>	courgette patty jaune/patisson jaune	Technisem	France	25 < P < 35 25 < L < 35 25 < l < 35	130 < P < 150 40 < L < 60 40 < l < 60	460 < P < 480 70 < L < 90 70 < l < 90	patisson
24	<i>Trichosanthes cucumerina</i>	patole	Cirad	France-Réunion	20 < P < 40 80 < L < 100 15 < l < 25	80 < P < 100 250 < L < 270 30 < l < 40	250 < P < 280 350 < L < 370 40 < l < 50	patole
25	<i>Luffa acutangula</i>	pipangaille à côte	Cirad	France-Réunion	10 < P < 20 80 < L < 100 10 < l < 20	75 < P < 85 180 < L < 200 40 < l < 60	130 < P < 150 280 < L < 300 60 < l < 80	pipangaille à côte
26	<i>Luffa cylindrica</i>	pipangaille lisse	Cirad	France-Réunion	25 < P < 45 60 < L < 80 20 < l < 40	50 < P < 70 150 < L < 160 45 < l < 55	200 < P < 230 250 < L < 280 55 < l < 65	pipangaille lisse
27	<i>Cucurbita maxima</i>	potiron F1 black night	Green.Co., LTD	Vietnam	180 < P < 200 80 < L < 100 60 < l < 80	1400 < P < 1500 140 < L < 160 80 < l < 100	2800 < P < 3000 280 < L < 300 150 < l < 170	potiron

Tableau 3.1. Composition chimique de l’espace de tête du *Cucurbita moschata* (butternut)

Composés		FRUIT JEUNE					
		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Hydrocarbures		1		0		4	
2,4-diméthylheptane	823	-	-	-	-	1782259	3,5
4-méthylactane	864	-	-	-	-	1770214	3,4
nonane	900	243182	1,9	-	-	-	-
undécane	1106	-	-	-	-	-	-
dodécane	1196	-	-	-	-	1919029	3,7
tridécane	1295	-	-	-	-	2642306	5,1
tétradécane	1394	-	-	-	-	-	-
cyclopentadécane*	1476	-	-	-	-	-	-
pentadécane	1493	-	-	-	-	-	-
Alcools		3		1		1	
éthanol	483	-	-	-	-	-	-
3-méthylbutanol	734	-	-	-	-	-	-
(Z)-hex-3-én-1-ol	854	573587	4,5	-	-	-	-
hexanol	865	269048	2,1	-	-	-	-
oct-1-én-3-ol	976	2480178	19,5	341534	22,5	2193773	4,3
Aldéhydes		1		1		3	
hexanal	804	958890	7,5	95739	6,3	-	-
octanal	1002	-	-	-	-	2179073	4,2
nonanal	1102	-	-	-	-	17819284	34,7
décanal	1202	-	-	-	-	6653486	13,0
(2E)-déc-2-énal	1266	-	-	-	-	-	-
Aromatiques		0		1		0	
phénol	977	-	-	166480	11,0	-	-
Cétones		2		2		1	
pentan-3-one	697	1818843	14,3	377927	24,9	-	-
3-hydroxybutan-2-one	710	-	-	-	-	-	-
6-méthylhept-5-én-2-one	955	-	-	-	-	962582	1,9
octan-3-one	986	1584896	12,5	107891	7,1	-	-
Acides		0		0		1	
acide acétique	565	-	-	-	-	1479678	2,9
Esters		1		0		0	
acétate d'éthyle	613	1103498	8,7	-	-	-	-
Monoterpènes hydrocarbonés		2				0	
α-pinène	940	2552547	20,1	-	-	-	-
limonène	1032	341181	2,7	-	-	-	-
(Z)-β-ocimène	1036	-	-	-	-	-	-
Monoterpènes oxygénés		1		0		0	
trans-pinocarvéol	1139	199557	1,6	-	-	-	-

FRUIT MATURE					
DUREE = 3h				DUREE = 4h	
25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
1		5		6	
72864	4,2	3975386	8,2	3521740	11,1
-	-	1755332	3,6	1945170	6,1
-	-	-	-	-	-
-	-	1896400	3,9	-	-
-	-	956628	2,0	893597	2,8
-	-	1236114	2,6	1499123	4,7
-	-	-	-	1139738	3,6
-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	2041392	6,4
2		2		0	
1305586	75,7	28854651	59,8	-	-
-	-	2447217	5,1	-	-
-	-	-	-	-	-
86012	5,0	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-
0		0		3	
-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	8885719	28,0
-	-	-	-	3393756	10,7
-	-	-	-	1093097	3,4
0		0		0	
-	-	-	-	-	-
0		1		0	
-	-	-	-	-	-
-	-	1825656	3,8	-	-
-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-
0		0		1	
-	-	-	-	1321595	4,2
0		0		0	
-	-	-	-	-	-
0		2		0	
-	-	-	-	-	-
-	-	33924	0,1	-	-
-	-	1136204	2,4	-	-
-	-	-	-	-	-

Tableau 3.1. (suite)

		FRUIT JEUNE						
Composés		IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h	
			25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
			Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Composés non identifiés			2		1		4	
	553		252943	2,0	-	-	-	-
	742		-	-	-	-	-	-
	957		329305	2,6	-	-	-	-
	1058		-	-	-	-	7614392	14,8
	1108		-	-	-	-	1459952	2,8
	1157		-	-	426040	28,1	-	-
	1281		-	-	-	-	-	-
	1646		-	-	-	-	1433179	2,8
	1683		-	-	-	-	1452019	2,8
Total identifiés			95,4		71,9		76,7	
Total non-identifiés			4,6		28,1		23,3	
Total			12707667	100	1515617	100	51361236	100

IRR SPB-5: indice de rétention relatif calculé sur une colonne non polaire de type SPB-5

Composition : aire des pics de l’analyse CG –SM

Abondance : pourcentage relatif basé sur les aires des pics de l’analyse CG –SM

tr : trace, - : absent.

* Tentative d’identification

FRUIT MATURE					
DUREE = 3h				DUREE = 4h	
25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
1		2		2	
-	-	-	-	-	-
260439	15,1	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-
-	-	3123314	6,5	4334664	13,7
-	-	-	-	-	-
-	-	1001228	2,1	-	-
-	-	-	-	1646898	5,2
-	-	-	-	-	-
84,9		91,5		81,1	
15,1		8,5		18,9	
1724904	100	48242061	100	31716495	100

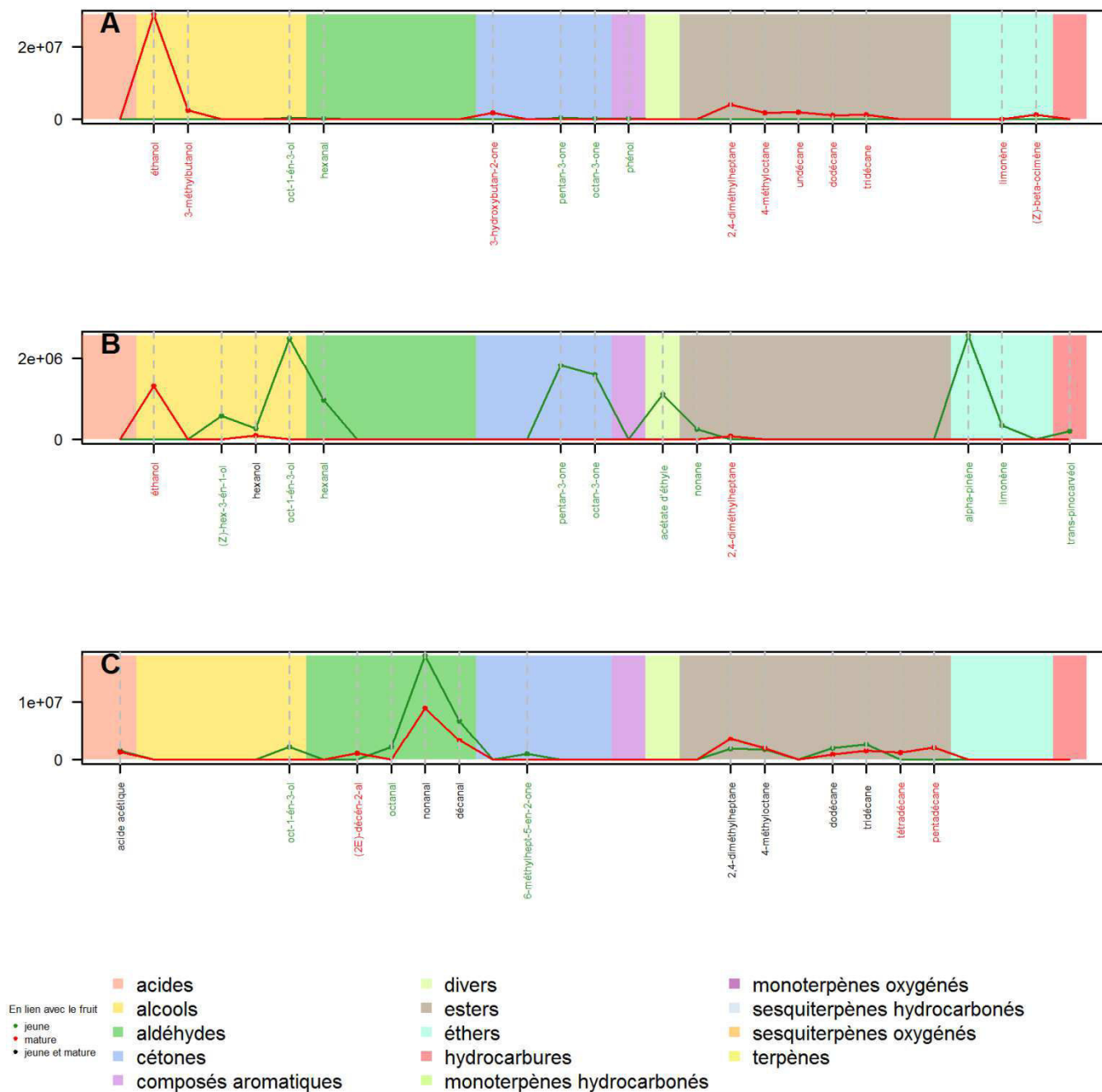


Figure 3.1. Profil d'émission des fruits de *Cucurbita moschata* (butternut) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Valeurs exprimées en aire sous les pics ; les composés annotés en vert sont présents uniquement chez le fruit au stade jeune, ceux en rouge chez le fruit mature, ceux en noir sont présents chez les 2 stades.

Tableau 3.2. Composition chimique de l’espace de tête du *Lagenaria siceraria* (calebasse)

Composés		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
		DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Hydrocarbures		3		3	3	1		0		0		1	
octane	803	983853	5,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2,4-diméthylheptane	823	3334738	17,9	218369	2,6	-	-	-	-	-	-	-	-
4-méthyloctane	864	1605045	8,6	-	-	323968	4,1	-	-	-	-	-	-
dodécane	1196	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	228780	13,9
tridécane	1275	-	-	315344	3,7	-	-	-	-	-	-	-	-
pentadécane	1493	-	-	228545	2,7	-	-	-	-	-	-	-	-
Alcools		1		1	1	0		0		0		0	
éthanol	483	7178361	38,6	1499751	17,5	-	-	-	-	-	-	-	-
Aldéhydes		3		1	1	4		0		0		1	
hexanal	804	-	-	770071	9,0	527742	6,7	-	-	-	-	-	-
octanal	1002	169524	0,9	-	-	149464	1,9	-	-	-	-	-	-
nonanal	1102	1822859	9,8	-	-	1426778	18,2	-	-	-	-	-	-
décanal	1202	476751	2,6	-	-	562650	7,2	-	-	-	-	358651	21,7
Aromatiques		1		1	1	0	0	0		0		0	
vératrole (1,2-méthoxybenzène)	1149	368766	2,0	404081	4,7	-	-	-	-	-	-	-	-
Cétones		0		0	0	1		0		0		0	
6-méthylhept-5-én-2-one	986	-	-	-	-	141710	1,8	-	-	-	-	-	-
Esters		0		1	1	0		1		1		1	
acétate d'éthyle	613	-	-	630326	7,4	-	-	50889	21,9	262756	100,0	567934	34,4
Monoterpènes hydrocarbonés		0		1	1	1		0		0		1	
limonène	1032	674761	3,6	87131	1,0	204931	2,6	-	-	-	-	495759	30,0
Divers		1	0	0	0	0		0		0		0	
2-méthylfurane	613	480975	2,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Composés non identifiés		1		5	5	3		1		0		0	
	1027	-	-	-	-	-	-	181470	78,1	-	-	-	-
	1058	1493093	8,0	-	-	839655	10,7	-	-	-	-	-	-
	1103	-	-	339374	4,0	-	-	-	-	-	-	-	-
	1426	-	-	-	-	3579104	45,7	-	-	-	-	-	-
	1428	-	-	1605620	18,8	-	-	-	-	-	-	-	-
	1429	-	-	1701051	19,9	-	-	-	-	-	-	-	-
	1438	-	-	223326	2,6	-	-	-	-	-	-	-	-
	1445	-	-	522913	6,1	-	-	-	-	-	-	-	-
	1714	-	-	-	-	83294	1,1	-	-	-	-	-	-
Total identifiés		92,0		48,6		42,6		21,9		100,0		100,0	
Total non-identifiés		8,0		51,4		57,4		78,1		0,0		0,0	
Total		18588733	100	8545912	100	7839305	100	232361	100	262757	100	1651127	100

IRR SPB-5: indice de rétention relatif calculé sur une colonne non polaire de type SPB-5

Composition : aire des pics de l’analyse CG –SM

Abondance : pourcentage relatif basé sur les aires des pics de l’analyse CG –SM

tr : trace, - : absent.

* Tentative d'identification

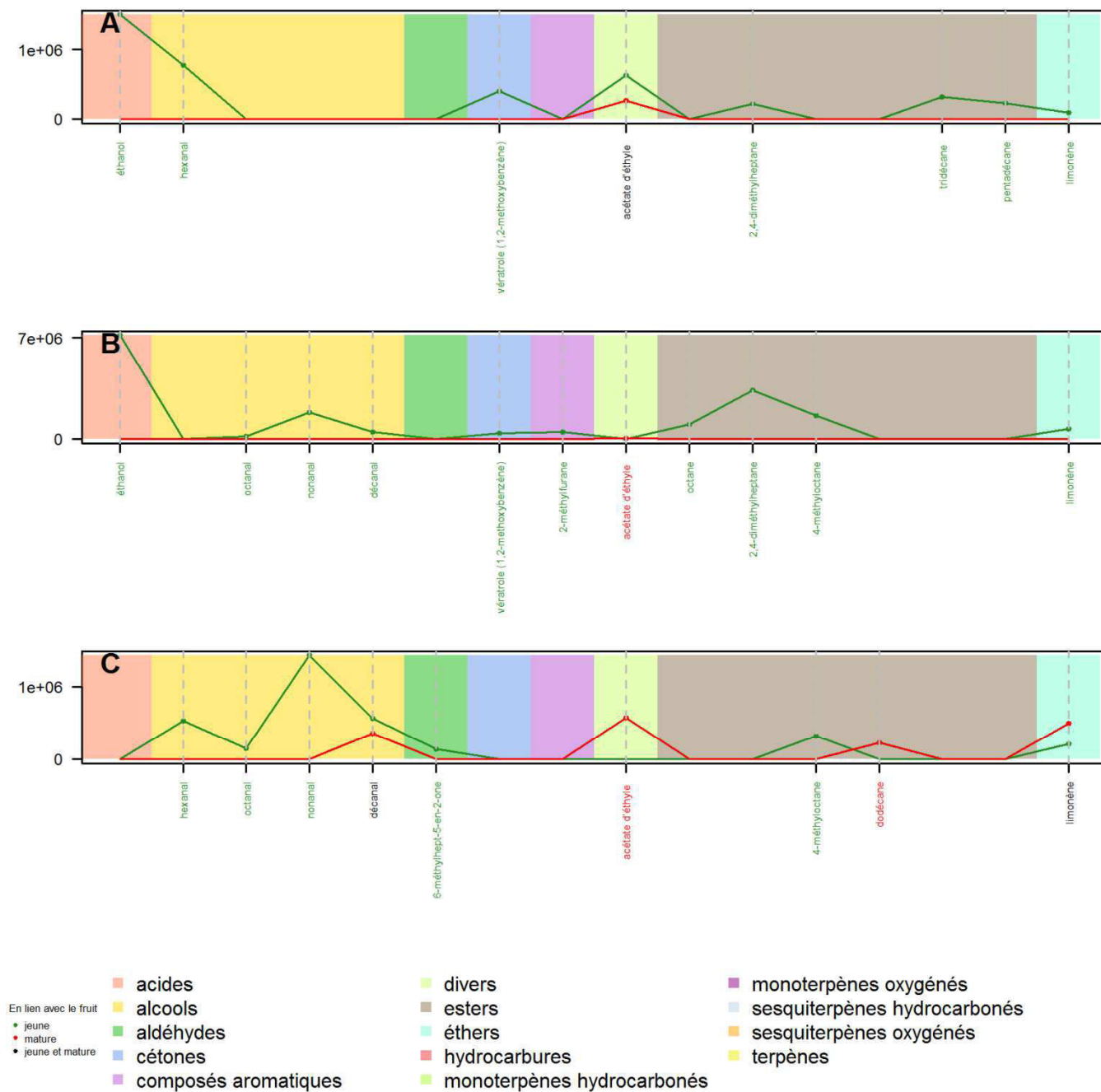


Figure 3.2. Profil d'émission des fruits de *Lagenaria siceraria* (calebasse) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Valeurs exprimées en aire sous les pics ; les composés annotés en vert sont présents uniquement chez le fruit au stade jeune, ceux en rouge chez le fruit mature, ceux en noir sont présents chez les 2 stades.

Tableau 3.3. Composition chimique de l’espace de tête du *Sechium edule* (chouchou)

Composés		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
		DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Hydrocarbures		5		2		2		1		1		2	
2,4-diméthylheptane	823	1340970	4,03	-	-	320379	21,46	-	-	-	-	848933	24,65
4-méthyloctane	864	-	-	-	-	150608	10,09	-	-	-	-	337628	9,80
undécane	1106	382713	1,15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4,8-diméthylnona-1,3,7-triène	1113	3138862	9,44	877436	4,80	-	-	615368	5,11	922334	5,04	-	-
dodécane	1196	857988	2,58	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
tridécan	1275	693793	2,09	262718	1,44	-	-	-	-	-	-	-	-
Alcools		5		4		0		4		4		0	
éthanol	483	776980	2,34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(Z)-hex-3-én-1-ol	858	6534978	19,65	1860243	10,17	-	-	1055078	8,76	1574093	8,60	-	-
hexanol	865	2434295	7,32	668077	3,65	-	-	737103	6,12	623762	3,41	-	-
oct-1-én-3-ol	976	11443455	34,41	9109869	49,83	-	-	6436538	53,45	9761873	53,33	-	-
octan-3-ol	994	-	-	-	-	-	-	251475	2,09	710891	3,88	-	-
octanol	1066	471502	1,42	842920	4,61	-	-	-	-	-	-	-	-
Aldéhydes		1		0	0	1		1		1		2	
hexanal	804	1321421	3,97	-	-	-	-	515419	4,28	297316	1,62	-	-
nonanal	1102	-	-	-	-	370375	24,81	-	-	-	-	1503316	43,65
décanal	1202	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	145734	4,23
Cétones		1		1		0		1		1		0	
octan-3-one	984	1444360	4,34	359841	1,97	-	-	464943	3,86	1343271	7,34	-	-
Esters		0		0		0		0		1		0	
2-éthylhexanoate de méthyle	1043	-	-	-	-	-	-	-	-	384670	2,10	-	-
Monoterpènes hydrocarbonés		3		3		0		3		4		0	
δ-3-carène	1021	624214	1,88	-	-	-	-	1098690	9,12	644030	3,52	-	-
α-terpinène	1023	-	-	843688	4,61	-	-	-	-	-	-	-	-
cymène (o ou ρ)	1029	910147	2,74	2522841	13,80	-	-	-	-	257054	1,40	-	-
limonène	1032	422866	1,27	-	-	-	-	623306	5,18	509533	2,78	-	-
(Z)-β-ocimène	1036	-	-	-	-	-	-	244021	2,03	775312	4,24	-	-
γ terpinène	1065	-	-	935213	5,12	-	-	-	-	-	-	-	-
Composés non identifiés		1		0		2		1		1		1	
	1010	-	-	-	-	313307	20,99	-	-	-	-	-	-
	1058	461715	1,39	-	-	337926	22,64	-	-	-	-	608182	17,66
	1157	-	-	-	-	-	-	-	-	501010	2,74	-	-
Total identifiés		98,6		100,0		56,4		100,0		97,3		82,3	
Total non-identifiés		1,4		0,0		43,6		0,0		2,7		17,7	
Total		33260275	100	18282856	100	1492600	100	12041952	100	18305162	100	3443798	100

IRR SPB-5: indice de rétention relatif calculé sur une colonne non polaire de type SPB-5

Composition : aire des pics de l’analyse CG –SM

Abondance : pourcentage relatif basé sur les aires des pics de l’analyse CG –SM

tr : trace, - : absent.

* Tentative d’identification

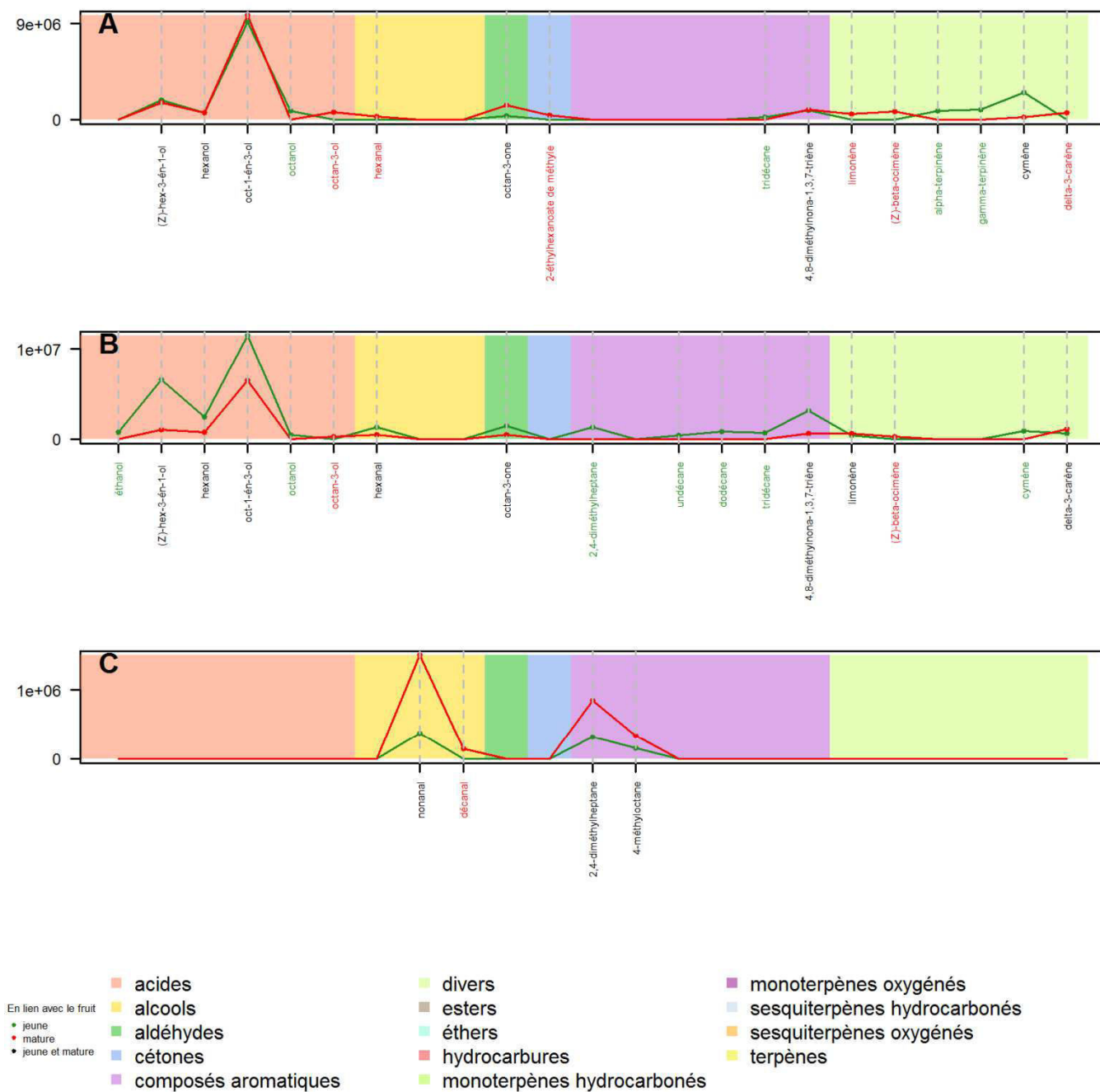


Figure 3.3. Profil d'émission des fruits de *Secchium edule* (chouchou) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Valeurs exprimées en aire sous les pics ; les composés annotés en vert sont présents uniquement chez le fruit au stade jeune, ceux en rouge chez le fruit mature, ceux en noir sont présents chez les 2 stades.

Tableau 3.4. Composition chimique de l’espace de tête du *Cucurbita moschata* (citrouille)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		In situ		25 ± 1°C		37°C		In situ	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Hydrocarbures		2		2		1		2		6		3	
2-méthylpentane	573	300933	16,87	971970	55,05	-	-	1813688	15,75	-	-	-	-
3-méthylpentane	580	89112	5,00	533285	30,21	-	-	9489913	82,41	-	-	-	-
2,4-diméthylheptane	823	-	-	-	-	131072	27,27	-	-	-	-	178860	7,16
2,3,4-triméthylhexane	863	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	103114	4,13
dihydrocyclopenta-8,9-diène*	1076	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	57533	2,30
tridécano	1295	-	-	-	-	-	-	-	-	180321	2,06	-	-
tétradécano	1394	-	-	-	-	-	-	-	-	79309	0,91	-	-
pentadécano	1493	-	-	-	-	-	-	-	-	238830	2,73	-	-
hexadécano	1593	-	-	-	-	-	-	-	-	382344	4,37	-	-
heptadécano	1692	-	-	-	-	-	-	-	-	896575	10,25	-	-
octadécano	1791	-	-	-	-	-	-	-	-	147945	1,69	-	-
Alcools		1		1		0		1		4		0	
éthanol	483	784276	43,98	260287	14,74	-	-	211643	1,84	4184861	47,86	-	-
alcool isopentylique	731	-	-	-	-	-	-	-	-	97203	1,11	-	-
(Z)-hex-3-én-1-ol	854	-	-	-	-	-	-	-	-	260906	2,98	-	-
hexanol	865	-	-	-	-	-	-	-	-	256925	2,94	-	-
Aldéhydes		0		0		1		0		1		1	
nonanal	1102	-	-	-	-	349638	72,73	-	-	-	-	424678	17,00
Aromatiques		0		0		0		0		0		0	
benzaldéhyde	963	-	-	-	-	-	-	-	-	105815	1,21	-	-
alcool benzylique	1033	-	-	-	-	-	-	-	-	177693	2,03	-	-
Cétones		1		0		0		0		1		0	
3-hydroxybutan-2-one	710	295070	16,55	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acides		0		0		0		0		0		1	
acide acétique	565	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	70107	2,81
Esters		1		0		0		0		0		0	
acétate d'éthyle	613	208358	11,68	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Monoterpènes hydrocarbonés		1		0		0		0		2		3	
α-pinène	940	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	530944	21,26
sabinène	978	-	-	-	-	-	-	-	-	89549	1,02	-	-
β-pinène	984	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	716006	28,67
limonène	1032	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50073	2,00
(Z)-β-ocimène	1036	105627	5,92	-	-	-	-	-	-	102944	1,18	-	-

Tableau 3.4. (suite)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		In situ		25 ± 1°C		37°C		In situ	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Composés non identifiés		0		0		0		1		5		2	
	1010	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	149372	5,98
	1058	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	217044	8,69
	1457	-	-	-	-	-	-	-	-	180788	2,07	-	-
	1619	-	-	-	-	-	-	-	-	349920	4,00	-	-
	1646	-	-	-	-	-	-	-	-	387321	4,43	-	-
	1698	-	-	-	-	-	-	-	-	409150	4,68	-	-
	1801	-	-	-	-	-	-	-	-	215860	2,47	-	-
Total identifiés		100,0		100,0		100,0		100,0		82,4		85,3	
Total non-identifiés		0,0		0,0		0,0		0,0		17,6		14,7	
Total		1783380	100	1765543	100	480711	100	11515246	100	8744272	100	2497738	100

IRR SPB-5: indice de rétention relatif calculé sur une colonne non polaire de type SPB-5

Composition : aire des pics de l’analyse CG –SM

Abondance : pourcentage relatif basé sur les aires des pics de l’analyse CG –SM

tr : trace, - : absent.

* Tentative d’identification

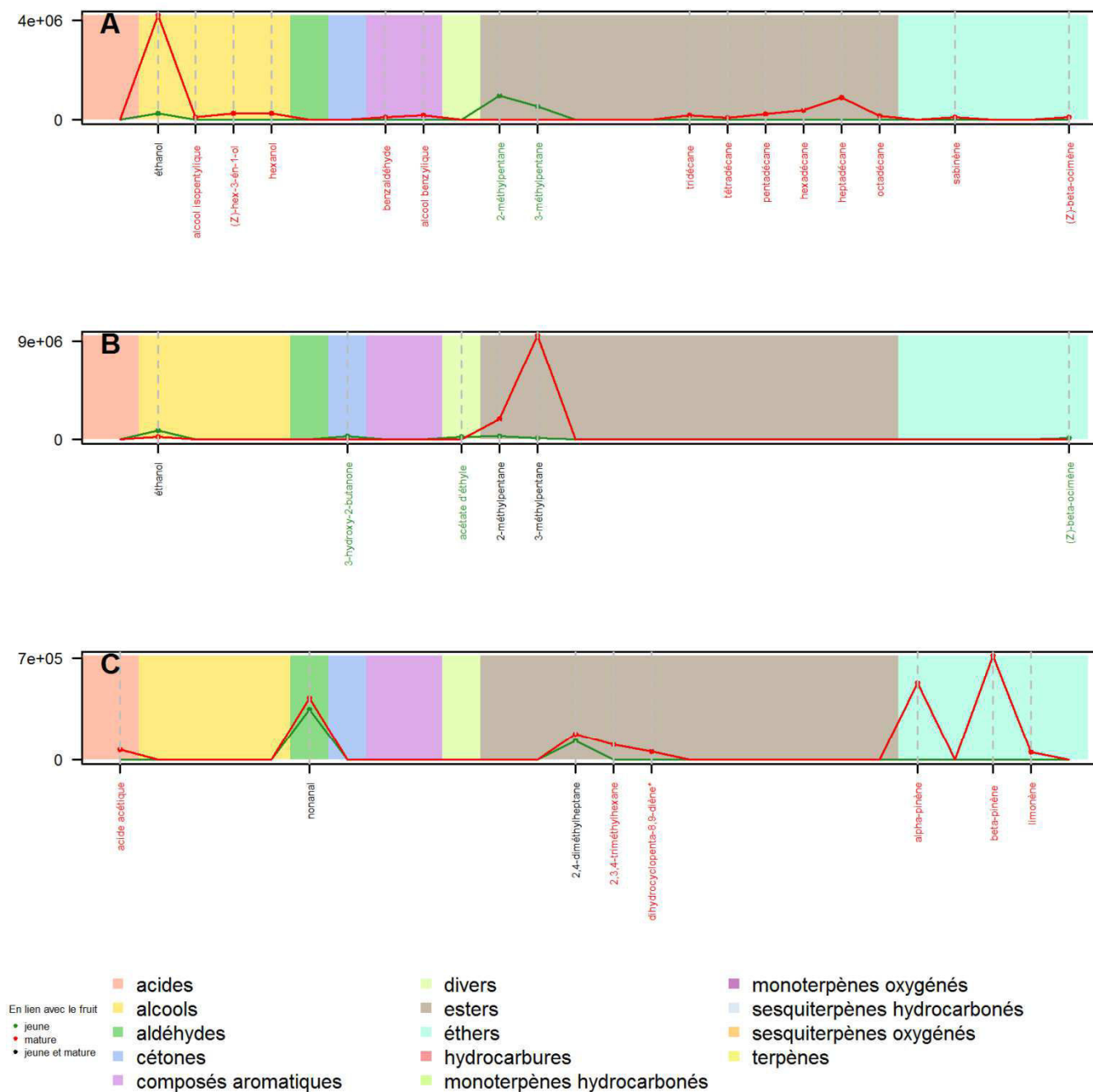


Figure 3.4. Profil d'émission des fruits de *Cucurbita moschata* (citrouille) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Valeurs exprimées en aire sous les pics ; les composés annotés en vert sont présents uniquement chez le fruit au stade jeune, ceux en rouge chez le fruit mature, ceux en noir sont présents chez les 2 stades.

Tableau 3.5. Composition chimique de l’espace de tête du *Coccinia grandis* (coccinia)

Composés		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
		DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Hydrocarbures		1		1		7		1		0		4	
2-méthylpentane	573	-	-	-	-	-	-	456111	13,86	-	-	-	-
2,4-diméthylheptane	823	-	-	-	-	1766659	0,93	-	-	-	-	1883196	3,07
4-méthyloctane	864	-	-	-	-	1806865	0,95	-	-	-	-	-	-
4,8-diméthylnona-1,3,7-triène	1113	2452469	2,04	354991	2,64	-	-	-	-	-	-	-	-
dodécane	1196	-	-	-	-	39277974	20,59	-	-	-	-	849897	1,39
tridécan	1295	-	-	-	-	1339968	0,70	-	-	-	-	-	-
tétradécène	1387	-	-	-	-	2457587	1,29	-	-	-	-	-	-
tétradécane	1394	-	-	-	-	7115115	3,73	-	-	-	-	1113007	1,82
pentadécane	1493	-	-	-	-	795439	0,42	-	-	-	-	1487800	2,43
Alcools		3		2		1		1		0		1	
éthanol	483	1133694	0,94	-	-	863860	0,45	-	-	-	-	1558279	2,54
pent-1-én-3-ol	688	-	-	-	-	-	-	639687	19,44	-	-	-	-
(Z)-hex-3-én-1-ol	854	38224317	31,75	2211823	16,44	-	-	-	-	-	-	-	-
hexanol	865	34334910	28,52	3076072	22,87	-	-	-	-	-	-	-	-
Aldéhydes		1		1		6		0		0		2	
hexanal	804	14788240	12,28	238088	1,77	1452109	0,76	-	-	-	-	-	-
heptanal	900	-	-	-	-	1450140	0,76	-	-	-	-	-	-
octanal	1002	-	-	-	-	8123463	4,26	-	-	-	-	-	-
nonanal	1102	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12865727	20,98
décanal	1202	-	-	-	-	8644767	4,53	-	-	-	-	25333588	41,32
(2E)-déc-2-énal	1266	-	-	-	-	3057463	1,60	-	-	-	-	-	-
dodécanal	1409	-	-	-	-	1272502	0,67	-	-	-	-	-	-
Acides		0		0		1		0		0		1	
acide acétique	565	-	-	-	-	10133155	5,31	-	-	-	-	1096391	1,79
Esters		3		4		0		0		1		0	
acétate d'éthyle	613	2392975	1,99	760577	5,65	-	-	1076378	32,72	78736	40,61	-	-
acétate d'hex-(3E)-ényle	1005	8525163	7,08	509373	3,79	-	-	-	-	-	-	-	-
acétate d'hexyle	1011	4279561	3,55	336468	2,50	-	-	-	-	-	-	-	-
isovalérate de (3Z)-hex-3-ényle	1230	-	-	245378	1,82	-	-	-	-	-	-	-	-
Monoterpènes hydrocarbonés		1		1		0		0		1		2	
α-pinène	940	-	-	-	-	2761984	1,45	-	-	-	-	3803500	6,20
β-pinène	984	-	-	-	-	9827781	5,15	-	-	-	-	-	-
limonène	1031	970718	0,81	-	-	9038250	4,74	-	-	115122	59,38	1398352	2,28
(E)-caryophyllène	1430	2	-	4598955	34,19	-	-	-	-	-	-	-	-

Tableau 3.5. (suite)

Composés		IRR SPB-5	FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE									
			DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h					
			25 ± 1°C		37°C		In situ		25 ± 1°C		37°C		In situ					
		Composition		Abondance		Composition		Abondance		Composition		Abondance		Composition		Abondance		
Divers			1		2		0						0					
éthylfurane (isomère 2 ou 3 non identifié)		702	6349196		5,27		651541		4,84		-		-		-		-	
2-pentylfurane		992	2952156		2,45		468806		3,49		-		-		-		-	
Composés non identifiés			3		0		20						2		0		4	
		564	1558455		1,29		-		-		-		-					
		750	-		-		-		-		-		-					
		895	1712712		1,42		-		-		-		-					
		1003	-		-		-		-		-		-		1471962		2,40	
		1010	-		-		-		-		2555968		1,34		-		-	
		1058	-		-		-		-		11596898		6,08		2901563		4,73	
		1062	-		-		-		-		5600282		2,94		-		-	
		1069	-		-		-		-		3138117		1,64		-		-	
		1077	-		-		-		-		3425430		1,80		-		-	
		1084	-		-		-		-		2691660		1,41		-		-	
		1094	725451		0,60		-		-		-		-		-		-	
		1108	-		-		-		-		2806964		1,47		-		-	
		1277	-		-		-		-		1097843		0,58		-		-	
		1281	-		-		-		-		17480506		9,16		3592386		5,86	
		1289	-		-		-		-		2487758		1,30		-		-	
		1295	-		-		-		-		2090162		1,10		-		-	
		1303	-		-		-		-		2203768		1,16		-		-	
		1324	-		-		-		-		1049084		0,55		-		-	
		1327	-		-		-		-		10627910		5,57		1954164		3,19	
		1336	-		-		-		-		2292936		1,20		-		-	
		1346	-		-		-		-		975460		0,51		-		-	
		1365	-		-		-		-		1080054		0,57		-		-	
		1540	-		-		-		-		2577120		1,35		-		-	
		1646	-		-		-		-		2745883		1,44		-		-	
		1663	-		-		-		-		1071508		0,56		-		-	
Total identifiés			96,7				100,0				58,3				83,8			
Total non-identifiés			3,3				0,0				41,7				16,2			
Total			120400031		100		13452082		100		190780420		100		3289821		100	

IRR SPB-5: indice de rétention relatif calculé sur une colonne non polaire de type SPB-5

Composition : aire des pics de l’analyse CG –SM

Abondance : pourcentage relatif basé sur les aires des pics de l’analyse CG –SM

tr : trace, - : absent.

* Tentative d'identification

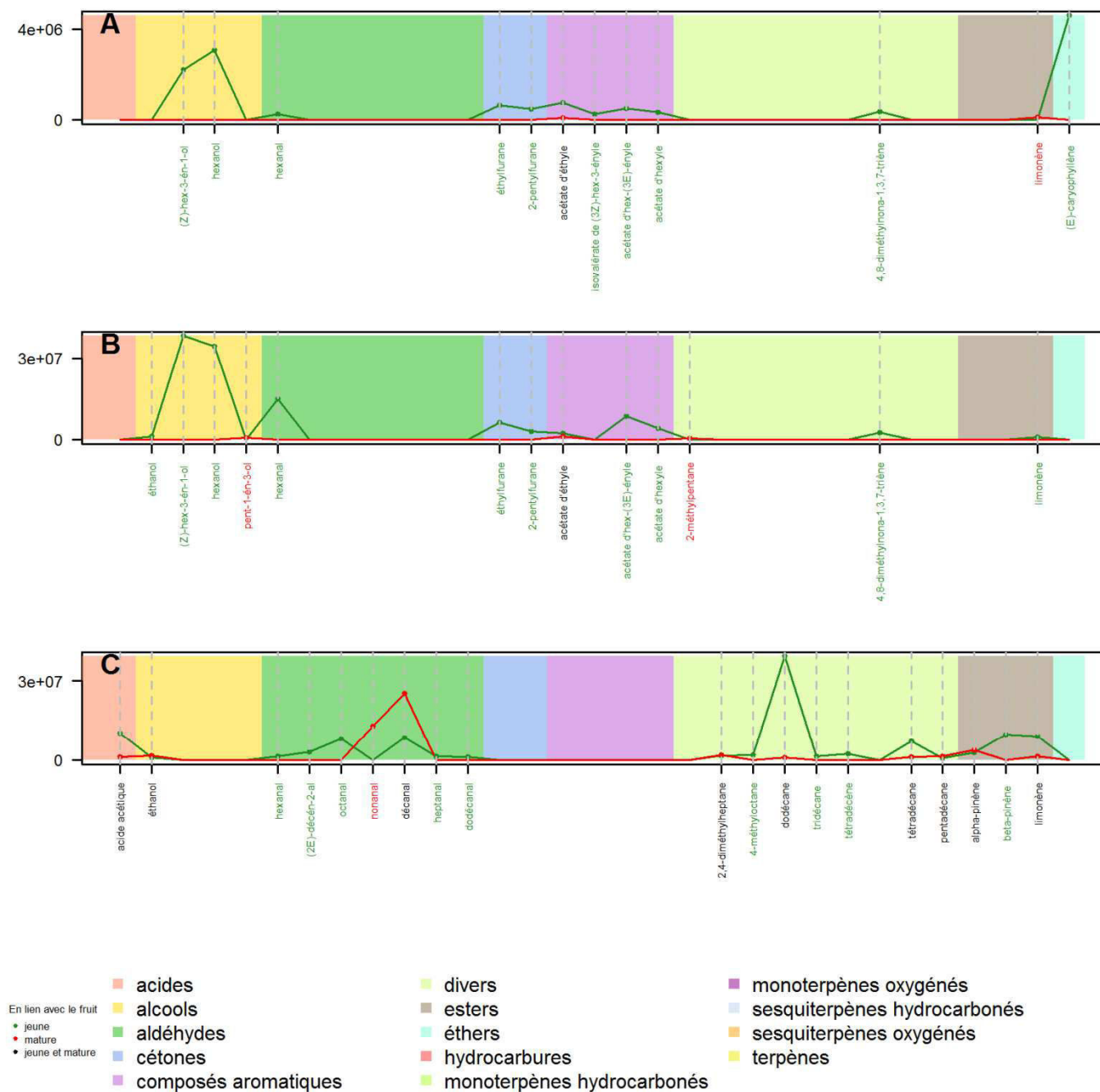


Figure 3.5. Profil d'émission des fruits de *Coccinia grandis* (coccinia) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Valeurs exprimées en aire sous les pics ; les composés annotés en vert sont présents uniquement chez le fruit au stade jeune, ceux en rouge chez le fruit mature, ceux en noir sont présents chez les 2 stades.

Tableau 3.6. Composition chimique de l’espace de tête du *Cucumis sativus* (concombre antilla)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Hydrocarbures		1		3		0		0		5		1	
2,4-diméthylheptane	823	330789	9,78	-	-	-	-	-	-	-	-	261772	2,37
tridécano	1295	-	-	242911	0,72	-	-	-	-	-	-	-	-
tétradécène	1387	-	-	2436899	7,21	-	-	-	-	745478	3,11	-	-
tétradécane	1394	-	-	1397254	4,13	-	-	-	-	265752	1,11	-	-
cyclopentadécane*	1476	-	-	-	-	-	-	-	-	459259	1,92	-	-
hexadécane	1593	-	-	-	-	-	-	-	-	401810	1,68	-	-
heptadécane	1692	-	-	-	-	-	-	-	-	314613	1,31	-	-
Alcools		2		1		0		2		4		1	
éthanol	483	117386	3,47	2082331	6,16	-	-	13311	0,10	300929	1,25	64453	0,58
hexanol	865	411201	12,16	-	-	-	-	1115973	8,57	-	-	-	-
nonanol	1166	-	-	-	-	-	-	-	-	7471427	31,15	-	-
(2 <i>E</i>),(6 <i>Z</i>)-nona-2,6-dién-1-ol	1163	-	-	-	-	-	-	331493	2,55	-	-	-	-
décano	1266	-	-	-	-	-	-	-	-	98140	0,41	-	-
undécano	1370	-	-	-	-	-	-	144833	1,11	-	-	-	-
4-méthylpentanol	854	-	-	-	-	-	-	-	-	467990	1,95	-	-
Aldéhydes		1		5		1		6		3		3	
hexanal	804	610962	18,07	312560	0,92	-	-	940883	7,23	330194	1,38	-	-
octanal	1002	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	453670	4,11
nonanal	1102	-	-	985119	2,91	531584	22,10	3270270	25,12	3769762	15,72	5459472	49,50
(2 <i>E</i>),(6 <i>Z</i>)-nona-2,6-diéna	1151	-	-	-	-	-	-	857857	6,59	-	-	-	-
(2 <i>E</i>)-non-2-éna	1157	-	-	413769	1,22	-	-	973686	7,48	245212	1,02	-	-
décanal	1202	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2195123	19,90
tridécanal	1505	-	-	-	-	-	-	-	-	383452	1,60	-	-
tétradécanal	1607	-	-	1091278	3,23	-	-	51675	0,40	1078663	4,50	-	-
pentadécanal	1708	-	-	4751232	14,05	-	-	211326	1,62	4208434	17,55	-	-
Cétones		0		0		0		0		0		1	
6-méthylhept-5-én-2-one	985	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	491331	4,45
Acides		0		0		1		0		0		1	
acide acétique	565	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	689562	6,25
Esters		0		3		0		1		1		0	
acétate d'éthyle	613	-	-	1193152	3,53	-	-	-	-	-	-	-	-
acétate d'hex-(3 <i>E</i>)-ényle	1002	-	-	121827	0,36	-	-	431781	3,32	399923	1,67	-	-
acétate d'hexyle	1011	-	-	424369	1,25	-	-	-	-	-	-	-	-

Tableau 3.6. (suite)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		In situ		25 ± 1°C		37°C		In situ	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Monoterpènes hydrocarbonés		1		5		3		0		2		0	
α-pinène	940	-	-	726585	2,15	-	-	-	-	-	-	-	-
β-pinène	984	-	-	534023	1,58	-	-	-	-	-	-	-	-
limonène	1031	-	-	526588	1,56	151912	6,31	-	-	-	-	-	-
(E)-caryophyllène	1430	639499	18,91	6432661	19,02	1427826	59,35	-	-	386829	1,61	-	-
α-humulène	1455	-	-	5749657	17,00	294363	12,24	-	-	1224032	5,10	-	-
Divers		0		0		0		0		1		0	
2-pentylfurane	993	-	-	-	-	-	-	-	-	297687	1,24	-	-
Composés non identifiés		4		7		0		2		5		3	
	647	280920	8,31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	940	90933	2,69	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	979	-	-	361552	1,07	-	-	-	-	-	-	-	-
	1019	-	-	158784	0,47	-	-	-	-	-	-	-	-
	1027	548525	16,22	237344	0,70	-	-	-	-	-	-	-	-
	1058	351037	10,38	-	-	-	-	-	-	-	-	689125	6,25
	1100	-	-	234868	0,69	-	-	-	-	-	-	-	-
	1157	-	-	-	-	-	-	-	-	255302	1,06	-	-
	1169	-	-	1885084	5,57	-	-	4468104	34,33	144785	0,60	-	-
	1281	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	240046	2,18
	1291	-	-	682275	2,02	-	-	-	-	-	-	-	-
	1307	-	-	838349	2,48	-	-	205392	1,58	-	-	-	-
	1642	-	-	-	-	-	-	-	-	180319	0,75	-	-
	1646	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	485240	4,40
	1698	-	-	-	-	-	-	-	-	167427	0,70	-	-
	1883	-	-	-	-	-	-	-	-	384310	1,60	-	-
Total identifiés		62,4		87,0		100,0		64,1		95,3		87,2	
Total non-identifiés		37,6		13,0		0,0		35,9		4,7		12,8	
Total		3381260		100		33820492		100		23981745		100	
								13016595		100		11029803	

IRR SPB-5: indice de rétention relatif calculé sur une colonne non polaire de type SPB-5

Composition : aire des pics de l’analyse CG –SM

Abondance : pourcentage relatif basé sur les aires des pics de l’analyse CG –SM

tr : trace, - : absent.

* Tentative d’identification

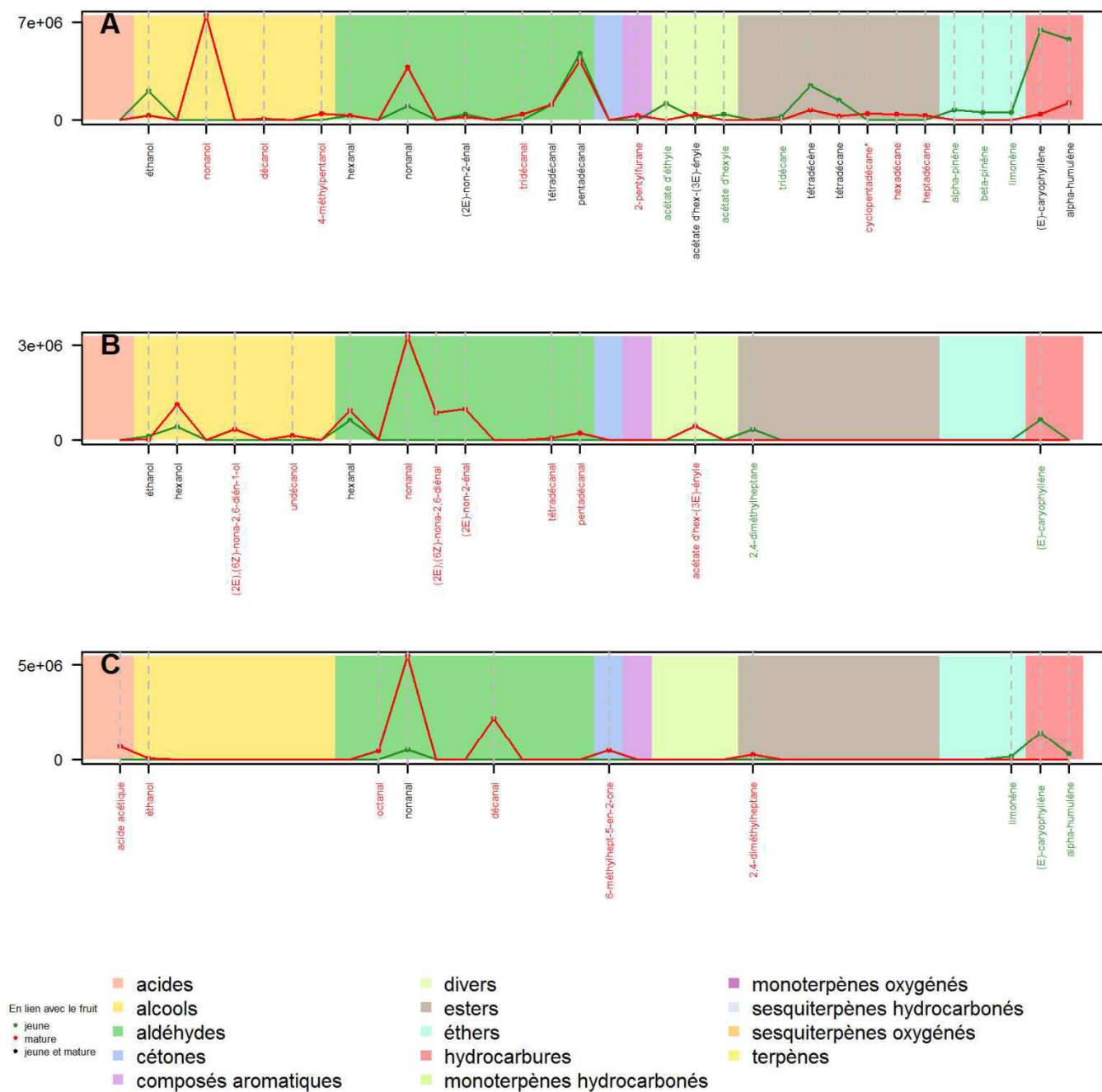


Figure 3.6. Profil d'émission des fruits de *Cucumis sativus* (concombre antilla) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Valeurs exprimées en aire sous les pics ; les composés annotés en vert sont présents uniquement chez le fruit au stade jeune, ceux en rouge chez le fruit mature, ceux en noir sont présents chez les 2 stades.

Tableau 3.7. Composition chimique de l’espace de tête du *Cucumis sativus* (concombre F1-L04)

Composés		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
		DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Hydrocarbures		1		2		2		2		0		5	
2-méthylpentane	573	-	-	-	-	-	-	138660	0,2	-	-	-	-
2,4 diméthylheptane	821	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13124643	13,3
4-méthyloctane	864	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6937263	7
dodécane	1196	-	-	-	-	219676	11,1	-	-	-	-	2373746	2,4
tridécène	1287	-	-	50371	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-
tétradécène	1387	-	-	310353	9,1	-	-	62967	tr	-	-	-	-
tétradécane	1394	-	-	-	-	309732	15,7	-	-	-	-	1845212	1,9
pentadécane	1493	114459	8,6	-	-	-	-	-	-	-	-	2871761	2,9
Alcools		1		1		0		4		3		0	
éthanol	483	158845	12	372515	10,9	-	-	61574	tr	81215	0,7	-	-
1-hexanol	865	-	-	-	-	-	-	2925827	3,4	261435	2,2	-	-
nona-2,6-dién-1-ol	1162	-	-	-	-	-	-	749293	0,9	-	-	-	-
(Z) - non-6-én-1-ol	1167	-	-	-	-	-	-	18773740	21,6	2409774	20,8	-	-
Aldéhydes		1		3		2		5		4		3	
hexanal	802	-	-	-	-	-	-	1982121	2,3	315521	2,8	-	-
hex-2-éнал (isomère (2Z/2E) non	855	-	-	-	-	-	-	968077	1,1	-	-	-	-
octanal	998	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2919385	3
nonanal	1102	-	-	112803	3,3	741184	37,5	36432122	41,9	2877437	24,8	25885532	26,3
(E,Z) -nona-2,6-diéнал	1151	-	-	-	-	-	-	4669543	5,4	132544	1,2	-	-
(2E)- non-2-éнал	1157	-	-	-	-	-	-	5312732	6,1	333906	2,9	-	-
décanal	1202	-	-	-	-	337421	17,1	-	-	-	-	9500260	9,6
tétradécanal	1607	-	-	179481	5,2	-	-	-	-	-	-	-	-
pentadécanal	1708	48537	3,6	969717	28,4	-	-	-	-	-	-	-	-
Monoterpènes hydrocarbonés		3		3		0		2		3		1	
β-pinène	984	-	-	202659	5,9	-	-	-	-	-	-	-	-
limonène	1031	-	-	-	-	-	-	-	-	362590	3,2	1238474	1,3
caryophyllène	1430	171075	12,9	442165	12,9	-	-	1415342	1,6	3051046	26,3	-	-
(E)-α-bergamotène	1439	105690	7,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α-humulène	1465	245995	18,5	453565	13,3	-	-	601816	0,7	1176274	10,2	-	-
Esters		2		0		0		2		1		1	
acétate d’éthyle	614	90611	6,8	-	-	-	-	-	-	-	-	1691934	1,7
acétate de 3-méthylbutyle	876	240238	18,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
acétate d’hexyle	1011	-	-	-	-	-	-	11218437	12,9	49437	0,5	-	-

Tableau 3.7 (suite)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
dodécanoate d'isopropyle	1619	-	-	-	-	-	-	434542	0,5	-	-	-	-
Acides carboxyliques		0		0		0		0		0		1	
acide acétique	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2012662	2
Cétones		0		0		0		0		0		1	
6-méthylhept-5-én-2-one	985	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1930113	2
Divers		0		0		0		1		1		0	
2-pentylfurane	992	-	-	-	-	-	-	581346	0,7	403141	3,5	-	-
Composés non identifiés		1		2		1		1		0		0	
	782	-	-	146828	4,3	-	-	-	-	-	-	-	-
	853	-	-	-	-	-	-	-	-	106435	0,9	-	-
	1058	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14958744	15,2
	1108	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1854782	1,9
	1166	-	-	179481	5,2	-	-	-	-	-	-	-	-
	1277	-	-	-	-	366518	18,6	-	-	-	-	-	-
	1281	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4155450	4,2
	1301	-	-	-	-	-	-	669730	0,7	-	-	-	-
	1327	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2673713	2,7
	1386	153626	11,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1646	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1656311	1,7
	1663	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	927224	0,9
Total identifiés			88,4		90,5		81,4		99,3		99,1		73,4
Total non-identifiés			11,6		9,5		18,6		0,7		0,9		26,6
Total		1329076	100	3419938	100	1974531	100	86997869	100	11560755	100	98557209	100

IRR SPB-5: indice de rétention relatif calculé sur une colonne non polaire de type SPB-5

Composition : aire des pics de l’analyse CG –SM

Abondance : pourcentage relatif basé sur les aires des pics de l’analyse CG –SM

tr : trace, - : absent.

* Tentative d'identification

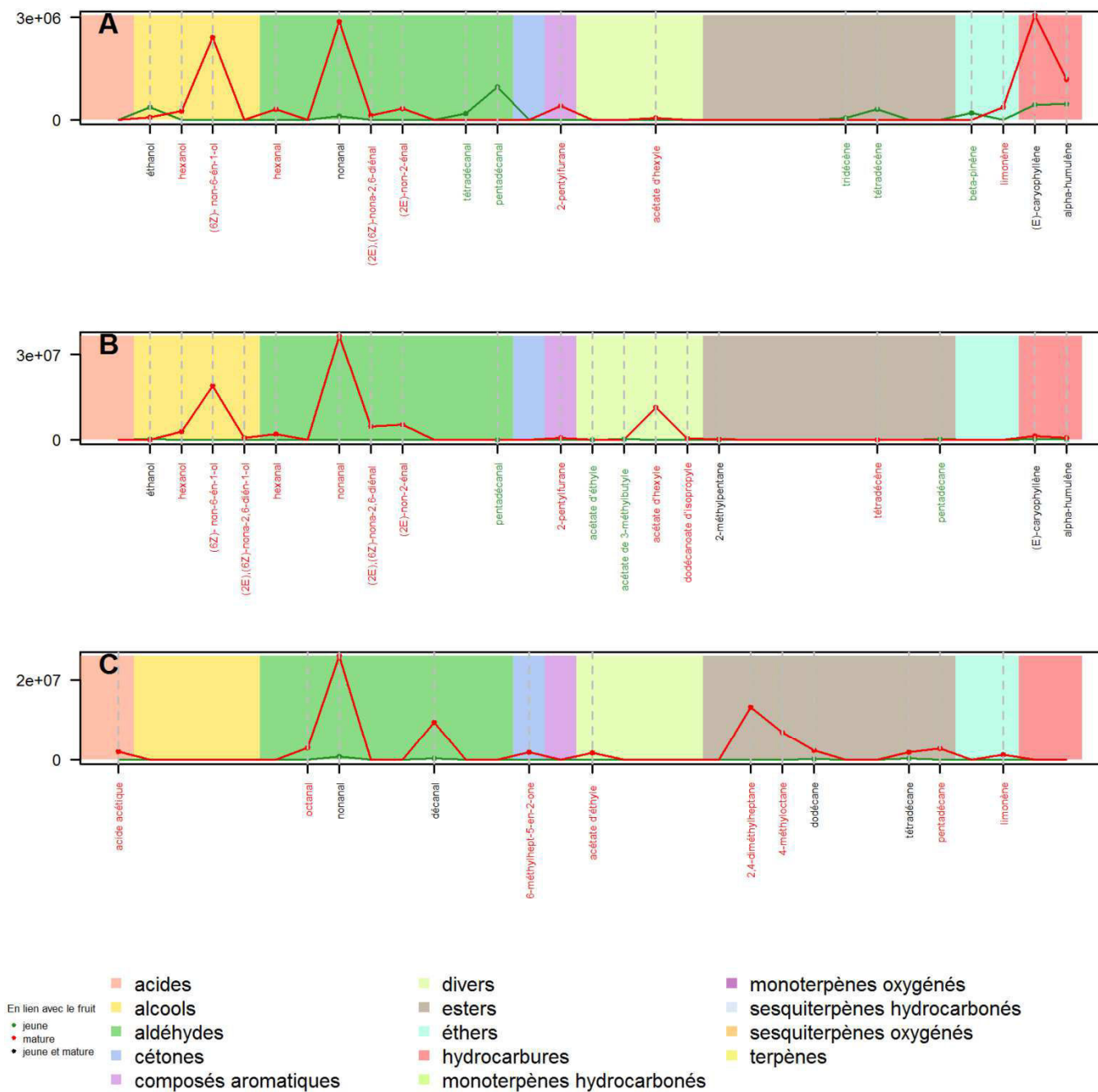


Figure 3.7. Profil d'émission des fruits de *Cucumis sativus* (concombre F1-L04) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Valeurs exprimées en aire sous les pics ; les composés annotés en vert sont présents uniquement chez le fruit au stade jeune, ceux en rouge chez le fruit mature, ceux en noir sont présents chez les 2 stades.

Tableau 3.8. Composition chimique de l'espace de tête du *Cucumis metuliferus* (concombre kenya)

Composés		IRR SPB-5		FRUIT JEUNE					
				DUREE = 3h				DUREE = 4h	
				25 ± 1°C		37°C		In situ	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance		
Hydrocarbures		5		7		4			
2-méthylpentane	573	2437713	9,93	-	-	-	-		
3-méthylpentane	580	640880	2,61	-	-	-	-		
octane	803	-	-	1649600	1,68	-	-		
2,4-diméthylheptane	823	571265	2,33	606425	0,62	961567	10,96		
4-méthyloctane	864	-	-	-	-	593704	6,77		
nonane	900	-	-	943475	0,96	-	-		
décane	999	-	-	175470	0,18	-	-		
undécane	1106	425332	1,73	1400373	1,43	2031191	23,16		
4,8-diméthylnona-1,3,7-triène	1113	9840246	40,10	41131586	41,96	-	-		
dodécane	1196	-	-	-	-	365252	4,16		
tétradécène	1387	-	-	-	-	-	-		
pentadécane	1493	-	-	481848	0,49	-	-		
Alcools		4		5		0			
éthanol	483	-	-	-	-	-	-		
(Z)-hex-3-én-1-ol	854	344798	1,40	-	-	-	-		
hexanol	865	811492	3,31	2448494	2,50	-	-		
(3E),(6Z)-nona-3,6-dién-1-ol	1149	-	-	4473394	4,56	-	-		
(3Z)- non-3-én-1-ol	1157	668653	2,72	4647309	4,74	-	-		
(2E),(6Z)-nona-2,6-dién-1-ol	1163	-	-	1512914	1,54	-	-		
(6Z)- non-6-én-1-ol	1164	894203	3,64	4331741	4,42	-	-		
Aldéhydes		1		2		1			
hexanal	804	578074	2,36	-	-	-	-		
hex-2-énal	852	-	-	657924	0,67	-	-		
nonanal	1102	-	-	-	-	-	-		
décanal	1202	-	-	1001223	1,02	373274	4,26		
pentadécanal	1708	-	-	-	-	-	-		
Aromatiques		1		3		0			
toluène	786	-	-	-	-	-	-		
phénol	981	794887	3,24	730085	0,74	-	-		
mésitylène	994	-	-	175470	0,18	-	-		
vératrole (1,2-méthoxybenzène)	1141	870814	3,55	1563714	1,60	-	-		
Cétones		2		2		0			
pentan-3-one	697	449457	1,83	1102454	1,12	-	-		
6-méthylhept-5-én-2-one	985	-	-	1079106	1,10	-	-		
octan-3-one	988	1269266	5,17	-	-	-	-		

Composés		IRR SPB-5		FRUIT MATURE					
				DUREE = 3h				DUREE = 4h	
				25 ± 1°C		37°C		In situ	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance		
0		2		3					
-	-	-	-	-	-	-	-		
-	-	-	-	-	-	-	-		
-	-	-	-	-	-	-	-		
-	-	-	-	1175893	11,24	-	-		
-	-	-	-	696721	6,66	-	-		
-	-	-	-	-	-	-	-		
-	-	-	-	-	-	-	-		
-	-	-	-	-	-	-	-		
-	-	-	-	-	-	-	-		
-	-	142837	2,31	-	-	-	-		
-	-	-	-	326777	3,12	-	-		
-	-	384536	6,23	-	-	-	-		
-	-	-	-	-	-	-	-		
3		2		0					
3369881	1,04	863296	13,98	-	-	-	-		
18521597	5,71	-	-	-	-	-	-		
13205892	4,07	613876	9,94	-	-	-	-		
-	-	-	-	-	-	-	-		
-	-	-	-	-	-	-	-		
-	-	-	-	-	-	-	-		
-	-	-	-	-	-	-	-		
1		3		3					
8654877	2,67	380563	6,16	252362	2,41	-	-		
-	-	260629	4,22	-	-	-	-		
-	-	-	-	2786438	26,63	-	-		
-	-	-	-	581513	5,56	-	-		
-	-	225436	3,65	-	-	-	-		
1		0		0					
3664787	1,13	-	-	-	-	-	-		
-	-	-	-	-	-	-	-		
-	-	-	-	-	-	-	-		
-	-	-	-	-	-	-	-		
0		0		0					
-	-	-	-	-	-	-	-		
-	-	-	-	-	-	-	-		
-	-	-	-	-	-	-	-		

Tableau 3.8. (suite)

Composés		FRUIT JEUNE					
		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Esters		0		1		0	
acétate d'éthyle	613	-	-	2088228	2,13	-	-
acétate d'hex-(3Z)-ényle	1005	-	-	-	-	-	-
Monoterpènes hydrocarbonés		1		2		1	
α-pinène	940	-	-	-	-	-	-
sabinène	978	436534	1,78	502458	0,51	-	-
β-pinène	984	-	-	-	-	-	-
cymène (o ou p)	1026	-	-	-	-	-	-
limonène	1032	-	-	3104882	3,17	295302	3,37
(Z)-β-ocimène	1036	-	-	-	-	-	-
Monoterpènes hydrocarbonés		1		2		1	
β-myrcène	988	-	-	-	-	-	-
(E)-β-ocimène	1046	-	-	-	-	-	-
α-terpinolène	1086	-	-	-	-	-	-
allo-ocimène	1132	-	-	-	-	-	-
Monoterpènes oxygénés		0		1		0	
linalol	1095	-	-	3384275	3,45	-	-
Sesquiterpènes hydrocarbonés		3		4		0	
α-copaène	1377	-	-	554801	0,57	-	-
7-épi-sesquithujène	1391	-	-	-	-	-	-
(E)-α-bergamotène	1411	236855	0,97	1004135	1,02	-	-
(E)-caryophyllène	1430	575776	2,35	4096897	4,18	-	-
(E)-β farnésène	1454	-	-	-	-	-	-
α-humulène	1455	565869	2,31	3665133	3,74	-	-
(Z) β-farnésène	1506	-	-	-	-	-	-
Sesquiterpènes oxygénés		1		0		0	
eucalyptol	1042	251073	1,02	-	-	-	-
Divers		0		1		0	
3-méthylfurane	646	-	-	-	-	-	-
éthylfurane (isomère 2 ou 3 non identifié)	702	-	-	580106	0,59	-	-
Composés non identifiés		2		6		3	
	583	-	-	-	-	-	-
	750	-	-	-	-	-	-
	781	-	-	-	-	-	-

FRUIT MATURE					
DUREE = 3h				DUREE = 4h	
25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
0		0		1	
-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	268641	2,57
9		5		1	
2996953	0,92	-	-	-	-
1620400	0,50	-	-	-	-
1742765	0,54	-	-	-	-
5793950	1,79	-	-	-	-
175729210	54,20	204190	3,31	259980	2,48
28615232	8,83	793900	12,85	-	-
9		5		1	
31898131	9,84	754794	12,22	-	-
-	-	159906	2,59	-	-
1784464	0,55	19616	0,32	-	-
2178590	0,67	-	-	-	-
0		0		0	
-	-	-	-	-	-
4		1		0	
-	-	-	-	-	-
1027700	0,32	-	-	-	-
10258465	3,16	535466	8,67	-	-
-	-	-	-	-	-
2413883	0,74	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-
1373715	0,42	-	-	-	-
0		0		0	
-	-	-	-	-	-
1		0		0	
1686757	0,52	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-
5		4		4	
2364893	0,73	-	-	-	-
2136264	0,66	-	-	-	-
-	-	269036	4,36	-	-

Tableau 3.8. (suite)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
	786	-	-	501870	0,51	-	-	-	-	-	-	-	-
	790	-	-	4031913	4,11	-	-	1008574	0,31	-	-	-	-
	793	-	-	-	-	-	-	-	-	145036	2,35	-	-
	853	-	-	308853	0,32	-	-	-	-	-	-	-	-
	931	-	-	-	-	-	-	1251548	0,39	-	-	-	-
	1003	-	-	343972	0,35	-	-	-	-	-	-	-	-
	1058	848585	3,46	3228993	3,29	2747714	31,33	-	-	-	-	2526862	24,15
	1096	-	-	509151	0,52	-	-	-	-	-	-	-	-
	1108	-	-	-	-	360367	4,11	-	-	-	-	320612	3,06
	1157	1030406	4,20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1281	-	-	-	-	1041353	11,87	-	-	-	-	830547	7,94
	1289	-	-	-	-	-	-	948227	0,29	-	-	-	-
	1457	-	-	-	-	-	-	-	-	215676	3,49	-	-
	1465	-	-	-	-	-	-	-	-	207578	3,36	-	-
	1646	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	438057	4,19
Total identifiés		92,3		90,9		52,7		97,6		86,4		60,7	
Total non-identifiés		7,7		9,1		47,3		2,4		13,6		39,3	
Total		24542194	100	98018301	100	8769730	100	324246788	100	6176391	100	10464413	100

IRR SPB-5: indice de rétention relatif calculé sur une colonne non polaire de type SPB-5

Composition : aire des pics de l’analyse CG –SM

Abondance : pourcentage relatif basé sur les aires des pics de l’analyse CG –SM

tr : trace, - : absent.

* Tentative d'identification

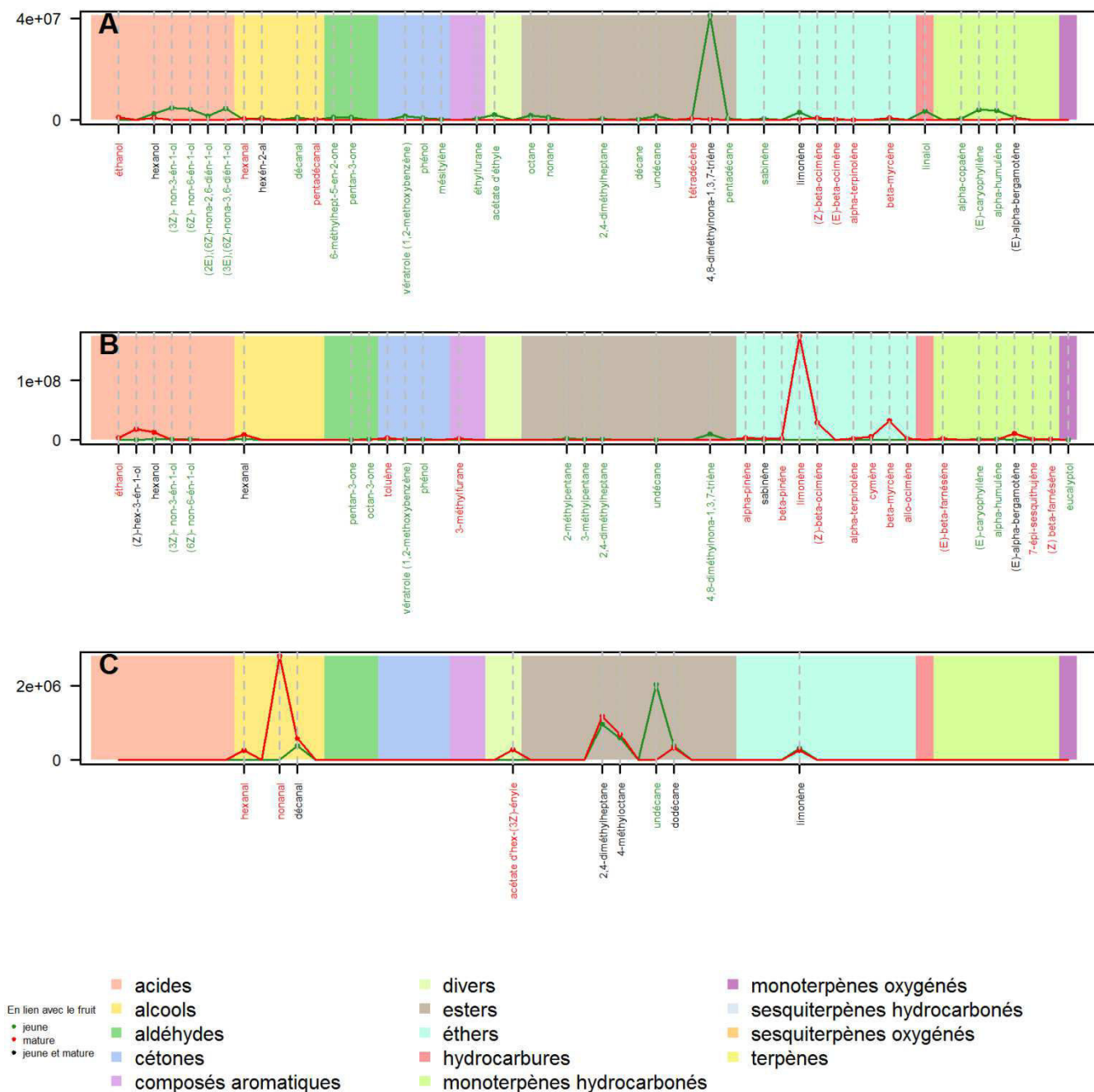


Figure 3.8. Profil d'émission des fruits de *Cucumis metuliferus* (concombre kenya) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Valeurs exprimées en aire sous les pics ; les composés annotés en vert sont présents uniquement chez le fruit au stade jeune, ceux en rouge chez le fruit mature, ceux en noir sont présents chez les 2 stades.

Tableau 3.9. Composition chimique de l'espace de tête du *Cucumis sativus* (concombre pays)

		FRUIT JEUNE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Hydrocarbures		8		2		4	
heptane	700	-	-	-	-	343543	3,48
2,4-diméthylheptane	823	838474	1,74	-	-	1720502	17,45
4-méthyloctane	864	-	-	-	-	-	-
para-mentha-1(7),8-diène	1004	574776	1,20	-	-	-	-
undécane	1106	490638	1,02	-	-	333954	3,39
4,8-diméthylnona-1,3,7-triène	1113	2608772	5,43	-	-	-	-
dodécane	1196	992400	2,06	-	-	547354	5,55
tridécane	1295	1024309	2,13	-	-	-	-
tétradécène	1387	2175402	4,52	1007321	9,77	-	-
tétradécane	1394	926508	1,93	907640	8,81	-	-
Alcools		5		2		0	
éthanol	483	480262	1,00	1103420	10,71	-	-
(Z)-hex-3-én-1-ol	854	5407792	11,25	-	-	-	-
hexanol	865	2489298	5,18	-	-	-	-
oct-1-én-3-ol	976	12541466	26,08	-	-	-	-
octan-3-ol	994	926816	1,93	-	-	-	-
(2E),(6Z)-nona-2,6-dién-1-ol	1163	-	-	-	-	-	-
(6Z)- non-6-én-1-ol	1164	-	-	-	-	-	-
nonanol	1166	-	-	-	-	-	-
décanol	1266	-	-	306484	2,97	-	-
Aldéhydes		5		4		3	
hexanal	804	1043318	2,17	296667	2,88	127131	1,29
nonanal	1102	1213454	2,52	-	-	2743846	27,82
(2E),(6Z)-nona-2,6-diéal	1151	-	-	-	-	-	-
(2E)-non-2-éal	1157	-	-	-	-	-	-
décanal	1202	-	-	-	-	612527	6,21
undécanal	1306	-	-	-	-	-	-
tridécanal	1505	328765	0,68	380090	3,69	-	-
tétradécanal	1607	603745	1,26	1165672	11,31	-	-
pentadécanal	1708	2495062	5,19	3931439	38,15	-	-
Cétones		1		0		0	
octan-3-one	988	2693723	5,60	-	-	-	-

FRUIT MATURE					
DUREE = 3h				DUREE = 4h	
25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
3		1		2	
-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	435449	15,16
-	-	-	-	271154	9,44
-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-
152837	0,25	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-
519952	0,84	415513	2,02	-	-
283696	0,46	-	-	-	-
4		3		0	
1305178	2,11	716990	3,48	-	-
-	-	-	-	-	-
1077613	1,74	229397	1,11	-	-
-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-
967153	1,56	-	-	-	-
16362343	26,40	-	-	-	-
-	-	2747779	13,33	-	-
-	-	-	-	-	-
7		6		0	
1101015	1,78	285741	1,39	-	-
13738476	22,16	1420078	6,89	-	-
5778026	9,32	64089	0,31	-	-
4854448	7,83	292510	1,42	-	-
-	-	-	-	-	-
646295	1,04	-	-	-	-
326302	0,53	258946	1,26	-	-
830709	1,34	740700	3,59	-	-
-	-	-	-	-	-
0		0		0	
-	-	-	-	-	-

Tableau 3.9. (suite)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Esters		1		1		1		1		0		1	
acétate d'éthyle	613	-	-	-	-	1138663	11,55	718271	1,16	-	-	356964	12,43
benzoate d'éthyle	1169	188477	0,39	760496	7,38	-	-	-	-	-	-	-	-
Monoterpènes hydrocarbonés		3		2		1		1		1		1	
α-terpinène	1014	281198	0,58	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
cymène (<i>o</i> ou <i>p</i>)	1026	1460046	3,04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
limonène	1031	827923	1,72	-	-	502212	5,09	355385	0,57	866315	4,20	187587	6,53
Sesquiterpènes hydrocarbonés		2		1		0		2		2		0	
(<i>E</i>)-caryophyllène	1430	582833	1,21	-	-	-	-	3329607	5,37	4010975	19,46	-	-
α-humulène	1455	1828520	3,80	446249	4,33	-	-	6011879	9,70	5594456	27,14	-	-
Composés non identifiés		6		0		5		4		3		3	
	781	-	-	-	-	-	-	364589	0,59	183358	0,89	-	-
	793	-	-	-	-	-	-	515916	0,83	-	-	-	-
	1003	-	-	-	-	110788	1,12	-	-	-	-	-	-
	1031	-	-	-	-	-	-	157627	0,25	-	-	-	-
	1051	-	-	-	-	112635	1,14	-	-	-	-	-	-
	1058	819481	1,70	-	-	-	-	-	-	-	-	967888	33,69
	1108	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	176037	6,13
	1157	-	-	-	-	-	-	-	-	267031	1,30	-	-
	1169	302337	0,63	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1281	439380	0,91	-	-	616174	6,25	-	-	-	-	477643	16,63
	1291	533238	1,11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1299	-	-	-	-	168764	1,71	-	-	-	-	-	-
	1307	451890	0,94	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1497	513636	1,07	-	-	784329	7,95	-	-	-	-	-	-
	1714	-	-	-	-	-	-	2588672	4,18	2516322	12,21	-	-
Total identifiés		93,6		100,0		81,8		94,1		85,6		43,6	
Total non-identifiés		6,4		0,0		18,2		5,9		14,4		56,4	
Total		48083962	100	10305488	100	9862432	100	61986008	100	20610215	100	2872727	100

IRR SPB-5: indice de rétention relatif calculé sur une colonne non polaire de type SPB-5

Composition : aire des pics de l'analyse CG –SM

Abondance : pourcentage relatif basé sur les aires des pics de l'analyse CG –SM

tr : trace, - : absent.

* Tentative d'identification

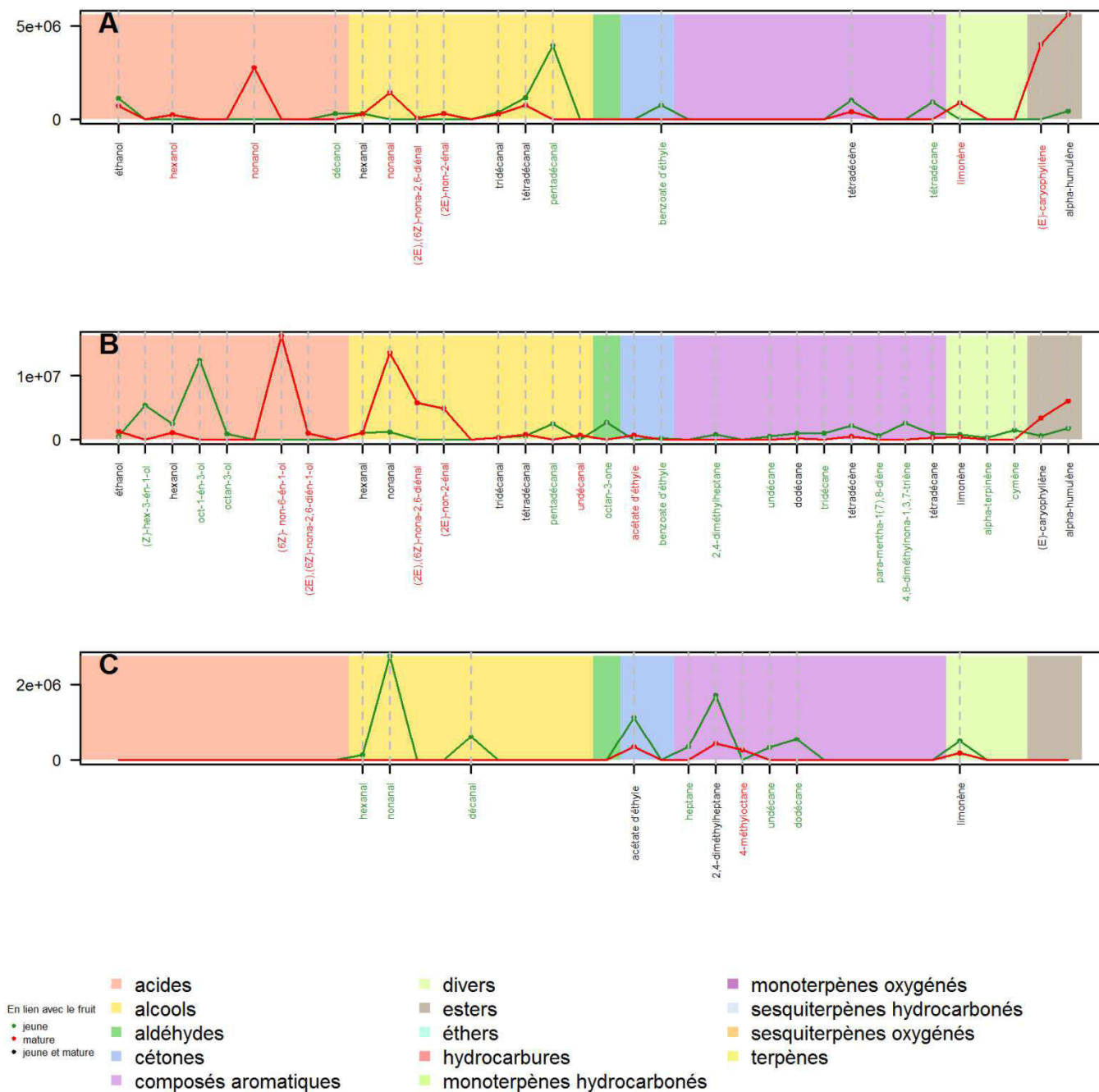


Figure 3.9. Profil d'émission des fruits de *Cucumis sativus* (concombre pays) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Valeurs exprimées en aire sous les pics ; les composés annotés en vert sont présents uniquement chez le fruit au stade jeune, ceux en rouge chez le fruit mature, ceux en noir sont présents chez les 2 stades.

Tableau 3.10. Composition chimique de l'espace de tête du *Cucumis sativus* (concombre showy green)

Composés		IRR SPB-5	FRUIT JEUNE										
			DUREE = 3h				DUREE = 4h						
			25 ± 1°C		37°C		In situ						
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	FRUIT MATURE					
		25 ± 1°C		37°C		In situ		25 ± 1°C		37°C		In situ	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Hydrocarbures		2		7		2							
2-méthylpentane	573	94765	4,68	-	-	-	-						
hexane	600	-	-	-	-	-	-						
(2-méthylbutylidène)-cyclopentane*	1010	-	-	-	-	301129	5,56						
dihydrocyclopenta-8,9-diène*	1076	-	-	-	-	120504	2,22						
tridécène	1287	-	-	510915	3,24	-	-						
tridécane	1295	-	-	376503	2,39	-	-						
tétradécène	1387	81991	4,05	2602154	16,49	-	-						
tétradécane	1394	-	-	2943993	18,66	-	-						
pentadécane	1493	-	-	966646	6,13	-	-						
1-formyl-4-hydroxyméthylcyclohexane*	1562	-	-	332604	2,11	-	-						
heptadécane	1692	-	-	104683	0,66	-	-						
Alcools		1		1		0							
éthanol	483	10915	0,54	457964	2,90	-	-						
nonanol	1102	-	-	-	-	-	-						
Aldéhydes		1		2		2							
hexanal	804	-	-	-	-	-	-						
octanal	1002	-	-	-	-	-	-						
nonanal	1102	81991	4,05	-	-	1035464	19,11						
décanal	1202	-	-	-	-	121338	2,24						
tridécanal	1505	-	-	-	-	-	-						
tétradécanal	1607	-	-	399765	2,53	-	-						
pentadécanal	1708	-	-	2198278	13,93	-	-						
Acides		0		0		0							
acide acétique	565	-	-	-	-	-	-						
Esters		0		0		1							
acétate d'éthyle	613	-	-	-	-	-	-						
salicylate de méthyle	1198	-	-	-	-	83689	1,54						
Monoterpènes hydrocarbonés		2		2		3							
α-pinène	940	632513	31,24	814329	5,16	1616679	29,84						
β-pinène	984	252687	12,48	570535	3,62	1743636	32,18						
limonène	1032	-	-	-	-	94129	1,74						
Monoterpènes oxygénés		0		1		0							
dihydromyrcénol	1069	-	-	-	-	-	-						

Tableau 3.10. (suite)

Composés		IRR SPB-5	FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
			DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
			25 ± 1°C		37°C		In situ		25 ± 1°C		37°C		In situ	
			Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Sesquiterpènes hydrocarbonés			2		2		0		1		3		0	
(E)-caryophyllène	1430		111815	5,52	980996	6,22	-	-	-	-	371372	7,11	-	-
α-humulène	1455		498040	24,60	1416685	8,98	-	-	69038	39,56	370618	7,09	-	-
(Z)-γ-bisabolène	1519		-	-	-	-	-	-	-	-	59985	1,15	-	-
Composés non identifiés			3		3		1		0		3		1	
	1010		128331	6,34	413686	2,62	301129	5,56	-	-	-	-	-	-
	1058		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	181616	3,93
	1169		91301	4,51	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1188		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1567		-	-	609102	3,86	-	-	-	-	50758	0,97	-	-
	1708		135042	6,67	-	-	-	-	-	-	85911	1,64	-	-
	1883		-	-	80137	0,51	-	-	-	-	-	-	-	-
Total identifiés			82,5		93,0		94,4		100,0		94,1		96,1	
Total non-identifiés			17,5		7,0		5,6		0,0		5,9		3,9	
Total			2024635	100	15778986	100	5417704	100	174532	100	5226665	100	4620757	100

IRR SPB-5: indice de rétention relatif calculé sur une colonne non polaire de type SPB-5

Composition : aire des pics de l’analyse CG –SM

Abondance : pourcentage relatif basé sur les aires des pics de l’analyse CG –SM

tr : trace, - : absent.

* Tentative d'identification

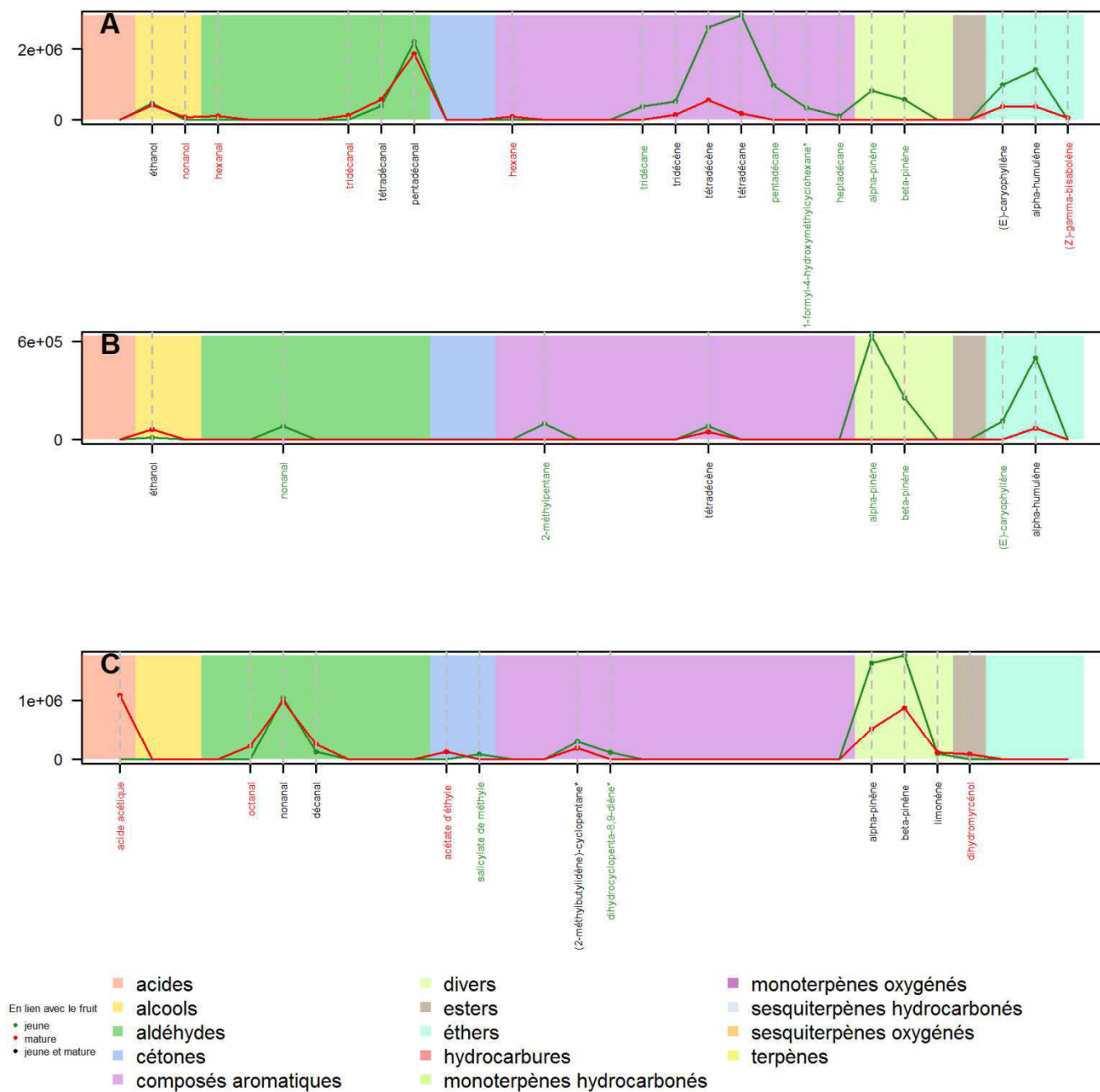


Figure 3.10. Profil d'émission des fruits de *Cucumis sativus* (concombre showy green) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Valeurs exprimées en aire sous les pics ; les composés annotés en vert sont présents uniquement chez le fruit au stade jeune, ceux en rouge chez le fruit mature, ceux en noir sont présents chez les 2 stades.

Tableau 3.11. Composition chimique de l’espace de tête du *Cucumis sativus* (concombre tropical)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Hydrocarbures		5		12		4		6		4		3	
2-méthylpentane	576	-	-	-	-	-	-	1557990	9,98	-	-	-	-
2,4-diméthylheptane	821	999977	1,15	441462	0,22	438453	3,22	-	-	-	-	188569	4,09
4-méthyloctane	864	855666	0,98	-	-	319893	2,35	-	-	-	-	158579	3,44
nonane	901	-	-	874497	0,44	-	-	-	-	-	-	-	-
4,8-diméthylnona-1,3,7-triène	1113	-	-	6287462	3,13	-	-	-	-	11069595	5,06	-	-
4,8-diméthylocta-1,3,7-triène	1131	-	-	313191	0,16	-	-	218754	1,40	-	-	-	-
dodécane	1196	-	-	1503919	0,75	997953	7,33	-	-	-	-	-	-
2,6,11-triméthylododécane*	1275	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
tridécène	1290	-	-	8657263	4,31	1994778	14,64	-	-	-	-	-	-
tridécane	1295	283209	0,32	3128589	1,56	-	-	-	-	-	-	-	-
tétradécène	1387	1621092	1,86	23700358	11,80	-	-	591749	3,79	4716633	2,16	254729	5,52
tétradécane	1394	524922	0,60	11936006	5,94	-	-	237877	1,52	2662576	1,22	-	-
(<i>1E</i>),(8 <i>Z</i>),10-hexadéca-1,8,10-triène *	1569	-	-	2633131	1,31	-	-	-	-	-	-	-	-
(<i>5E</i>)-octadéc-5-ène*	1591	-	-	377599	0,19	-	-	-	-	-	-	-	-
hexadécane	1593	-	-	397809	0,20	-	-	-	-	-	-	-	-
7-méthylocta-3,4-diène*	1884	-	-	-	-	-	-	-	-	13512845	6,18	-	-
<i>n</i> -hénéicosane	2100	-	-	-	-	-	-	359480	2,30	-	-	-	-
docosane	2200	-	-	-	-	-	-	775603	4,97	-	-	-	-
Alcools		2		4		0		1		3		0	
éthanol	483	-	-	-	-	-	-	-	-	924539	0,42	-	-
hexanol	865	-	-	844152	0,42	-	-	-	-	-	-	-	-
(<i>2E</i>),(6 <i>Z</i>)-nona-2,6-dién-1-ol	1163	1692614	1,94	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(<i>6Z</i>)- non-6-én-1-ol	1164	34184958	39,17	6061310	3,02	-	-	1870065	11,98	16282692	7,45	-	-
décanol	1266	-	-	350197	0,17	-	-	-	-	1112735	0,51	-	-
dodécanol	1466	-	-	406339	0,20	-	-	-	-	-	-	-	-
Aldéhydes		6		7		1		5		5		3	
hexanal	804	839410	0,96	2480129	1,23	-	-	362025	2,32	677614	0,31	-	-
octanal	1002	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	298531	6,47
nonanal	1102	21399335	24,52	4000077	1,99	-	-	1119600	7,17	4669260	2,14	476912	10,34
(<i>2E</i>),(6 <i>Z</i>)-nona-2,6-diénal	1153	9810263	11,24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(<i>2E</i>)-non-2-énal	1157	6177763	7,08	293379	0,15	-	-	-	-	-	-	-	-
décanal	1202	-	-	-	-	463369	3,40	-	-	-	-	252310	5,47
undécanal	1306	-	-	447873	0,22	-	-	-	-	-	-	-	-
tridécanal	1505	-	-	8840695	4,40	-	-	588742	3,77	-	-	-	-
tétradécanal	1607	785859	0,90	10916975	5,44	-	-	537062	3,44	12637628	5,78	-	-
pentadécanal	1708	4181832	4,79	29101489	14,49	-	-	1548777	9,92	47218144	21,60	-	-
heptadécanal	1908	-	-	-	-	-	-	-	-	1055522	0,48	-	-

Tableau 3.11. (suite)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		In situ		25 ± 1°C		37°C		In situ	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Acides		0		0		0		0		0		1	
acide acétique	565	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1074700	23,30
Esters		0		2		0		0		1		1	
diacétate de 1,1 dodécanediyle	1409	-	-	758564	0,38	-	-	-	-	-	-	-	-
acétate d'éthyle	613	-	-	2359280	1,17	-	-	-	-	743681	0,34	127390	2,76
Monoterpènes hydrocarbonés		1		2		0		1		1		3	
α-pinène	940	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	524831	11,38
camphène	956	-	-	-	-	-	-	177850	1,14	-	-	-	-
β-pinène	984	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	867500	18,81
cymène (o ou p)	1029	-	-	1971720	0,98	-	-	-	-	-	-	-	-
limonène	1031	243176	0,28	1456981	0,73	-	-	-	-	-	-	119823	2,60
(Z)-β-ocimène	1036	-	-	-	-	-	-	-	-	4602127	2,10	-	-
Monoterpènes oxygénés		0		1		0		0		1		1	
linalol	1095	-	-	552094	0,27	-	-	-	-	4053030	1,85	-	-
Sesquiterpènes hydrocarbonés		1		4		2		2		7		1	
(E)-caryophyllène	1430	1615589	1,85	23695753	11,80	2196497	16,12	2129697	13,64	30069844	13,75	117526	2,55
(E)-β farnésène	1454	-	-	-	-	-	-	-	-	3205206	1,47	-	-
α-humulène	1455	-	-	27770652	13,83	352057	2,58	2107159	13,50	29149279	13,33	-	-
β-bisabolène	1505	-	-	-	-	-	-	-	-	1682712	0,77	-	-
(Z)-γ-bisabolène	1519	-	-	248969	0,12	-	-	-	-	4248688	1,94	-	-
δ-cadinène	1523	-	-	924812	0,46	-	-	-	-	111047	0,05	-	-
(E)-γ-bisabolène	1531	-	-	-	-	-	-	-	-	1876725	0,86	-	-
Sesquiterpènes oxygénés		0		0		0		0		1		0	
époxyde II d'humulène	1608	-	-	-	-	-	-	-	-	1777307	0,81	-	-
Ethers										1			
éther éthylique	529	-	-	-	-	-	-	-	-	2203939	1,01	-	-
Composés non identifiés		3		13		5		1		8		1	
	750	-	-	2232216	1,11	-	-	-	-	-	-	-	-
	781	-	-	-	-	-	-	1430612	9,16	1500986	0,69	-	-
	790	-	-	812103	0,40	-	-	-	-	-	-	-	-
	797	-	-	1607025	0,80	-	-	-	-	-	-	-	-
	985	-	-	3303478	1,64	-	-	-	-	-	-	-	-
	1058	915388	1,05	607896	0,30	2527946	18,56	-	-	-	-	150078	3,25
	1103	-	-	-	-	2852732	20,94	-	-	-	-	-	-
	1108	-	-	-	-	622689	4,57	-	-	-	-	-	-
	1154	-	-	555055	0,28	-	-	-	-	1496090	0,68	-	-
	1157	873632	1,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1281	-	-	964945	0,48	-	-	-	-	-	-	-	-
	1299	-	-	-	-	236897	1,74	-	-	-	-	-	-

Tableau 3.11. (suite)

Composés		IRR SPB-5		FRUIT JEUNE								FRUIT MATURE					
				DUREE = 3h				DUREE = 4h				DUREE = 3h				DUREE = 4h	
				25 ± 1°C		37°C		In situ				25 ± 1°C		37°C		In situ	
				Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance			Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
1307		270996	0,31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
1497		-	-	1753137	0,87	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
1562		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1791205	0,82	-	-		
1567		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2105201	0,96	-	-		
1574		-	-	2633131	1,31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
1578		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	922117	0,42	-	-		
1581		-	-	962478	0,48	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
1583		-	-	796736	0,40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
1602		-	-	585097	0,29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
1646		-	-	-	-	619354	4,55	-	-	-	-	-	-	-	-		
1658		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1047381	0,48	-	-		
1695		-	-	297936	0,15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
1783		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1015376	0,46	-	-		
1890		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8505669	3,89	-	-		
Total identifiés		97,6		91,5		49,6				90,8		91,6		96,7			
Total non-identifiés		2,4		8,5		50,4				9,2		8,4		3,3			
Total		87275694 100		200843992 100		13622626 100				15613052 100		218647421 100		4611489 100			

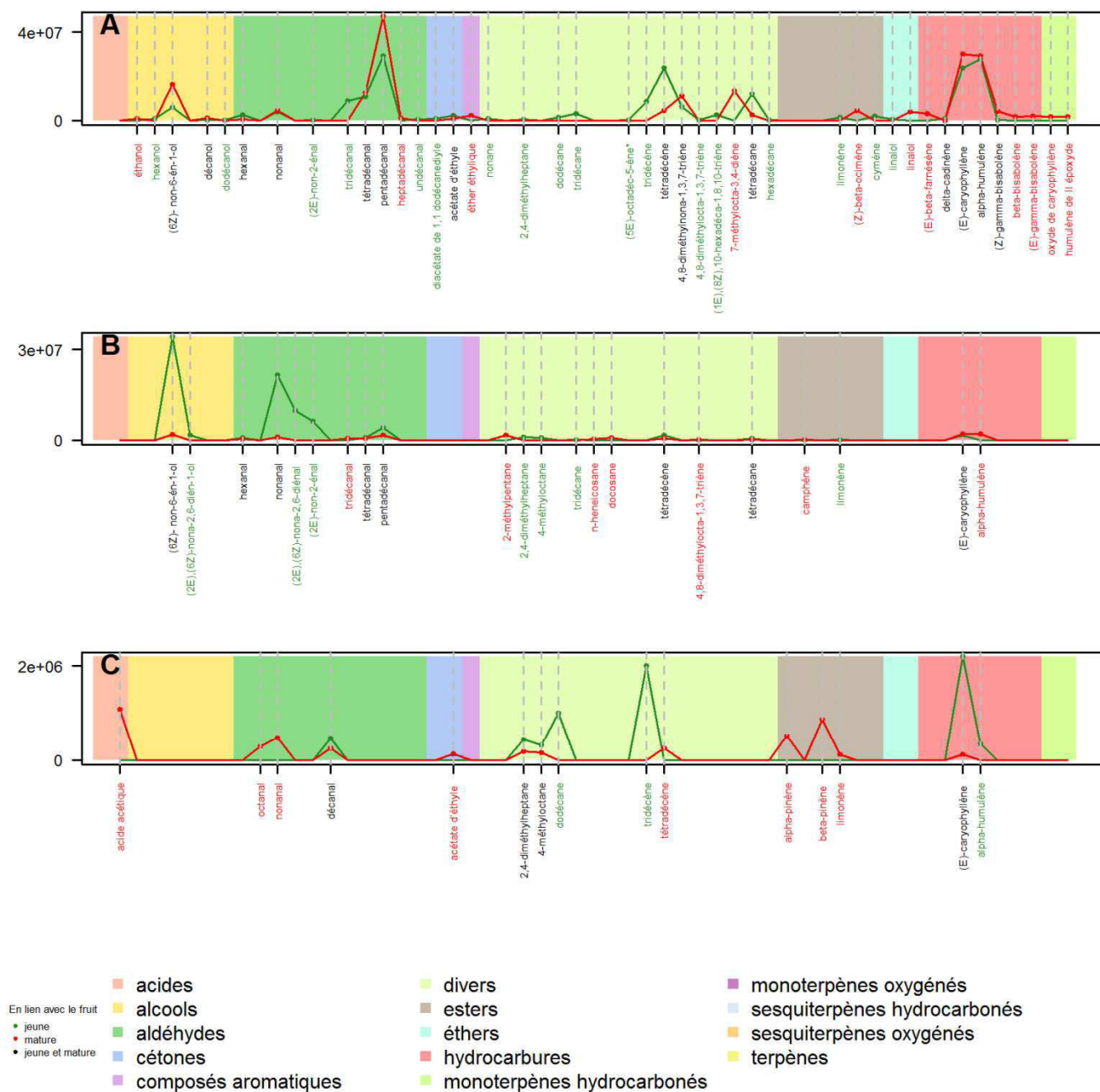


Figure 3.11. Profil d'émission des fruits de *Cucumis sativus* (concombre tropical) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Valeurs exprimées en aire sous les pics ; les composés annotés en vert sont présents uniquement chez le fruit au stade jeune, ceux en rouge chez le fruit mature, ceux en noir sont présents chez les 2 stades.

Tableau 3.12. Composition chimique de l’espace de tête du *Cucumis sativus* (concombreantage)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
		DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
Composés	IRR SPB-5	25 ± 1°C		37°C		In situ		25 ± 1°C		37°C		In situ	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Hydrocarbures		5		3		5		0		1		3	
2-méthylpentane	573	440039	7,46	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3-méthylpentane	580	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
heptane	700	305084	5,17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2,4-diméthylheptane	833	-	-	-	-	148675	0,98	-	-	-	-	88012	0,88
4,8-diméthylnona-1,3,7-triène	1113	298595	5,06	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
dodécane	1196	-	-	-	-	442618	2,93	-	-	-	-	511670	5,11
tridécane	1275	-	-	-	-	246498	1,63	-	-	-	-	304322	3,04
tétradécène	1387	635039	10,76	1092216	18,55	-	-	-	-	358783	2,04	-	-
tétradécane	1394	435972	7,39	947304	16,09	337068	2,23	-	-	-	-	-	-
pentadécane	1493	-	-	320172	5,44	503177	3,33	-	-	-	-	-	-
Alcools		1		2		1		1		1		1	
éthanol	484	667097	11,30	837971	14,23	253962	1,68	-	-	-	-	441349	4,40
(6Z)- non-6-én-1-ol	1164	-	-	362280	6,15	-	-	3022221	31,41	4812746	27,37	-	-
Aldéhydes		1		1		2		3		4		3	
hexanal	804	193111	3,27	-	-	-	-	231607	2,41	-	-	-	-
octanal	1002	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	131476	1,31
nonanal	1102	-	-	326575	5,55	694749	4,60	3597693	37,40	2547589	14,49	2391120	23,86
(2E),(6Z)-nona-2,6-diéнал	1151	-	-	-	-	-	-	949918	9,87	559103	3,18	-	-
(2E)-non-2-éнал	1157	-	-	-	-	-	-	-	-	939912	5,35	-	-
décanal	1202	-	-	-	-	328317	2,17	-	-	-	-	626624	6,25
pentadécanal	1708	-	-	-	-	-	-	-	-	2725251	15,50	-	-
Aromatiques		1		0		0		0		0		0	
phénol	981	473464	8,02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Esters		1		0		0		0		0		0	
acétate d'éthyle	613	425171	7,20	-	-	-	-	-	-	-	-	171287	1,71
Monoterpènes hydrocarbonés		1		0		0		0		0		1	
limonène	1031	863721	14,63	-	-	346531	2,29	-	-	-	-	496194	4,95
Sesquiterpènes hydrocarbonés		2		2		5		2		2		0	
(E)-caryophyllène	1430	341115	5,78	626861	10,65	8884453	58,79	442509	4,60	1961551	11,16	-	-
(E)-β farnésène	1454	-	-	-	-	400091	2,65	-	-	-	-	-	-
α-humulène	1455	587315	9,95	1373459	23,33	1872652	12,39	1376419	14,31	3383092	19,24	-	-
β-bisabolène	1505	-	-	-	-	134442	0,89	-	-	-	-	-	-
(Z)-γ-bisabolène	1519	-	-	-	-	267975	1,77	-	-	-	-	-	-

Tableau 3.12. (suite)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés		DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Composés non identifiés		2		0		1		0		1		10	
801		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	88204	0,88
1058		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	138417	1,38
1100		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	279146	2,79
1108		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	205643	2,05
1157		40575	0,69	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1281		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2438188	24,33
1289		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1291		196102	3,32	-	-	-	-	-	-	-	-	219179	2,19
1295		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	154296	1,54
1307		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	182800	1,82
1324		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	842454	8,41
1327		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	310225	3,10
1540		-	-	-	-	250312	1,66	-	-	-	-	-	-
1557		-	-	-	-	-	-	-	-	294242	1,67	-	-
Total identifiés		96,0		100,0		98,3		100,0		98,3		51,5	
Total non-identifiés		4,0		0,0		1,7		0,0		1,7		48,5	
Total		5902409	100	5886843	100	15111529	100	9620373	100	17582277	100	10020621	100

IRR SPB-5: indice de rétention relatif calculé sur une colonne non polaire de type SPB-5

Composition : aire des pics de l’analyse CG –SM

Abondance : pourcentage relatif basé sur les aires des pics de l’analyse CG –SM

tr : trace, - : absent.

* Tentative d’identification

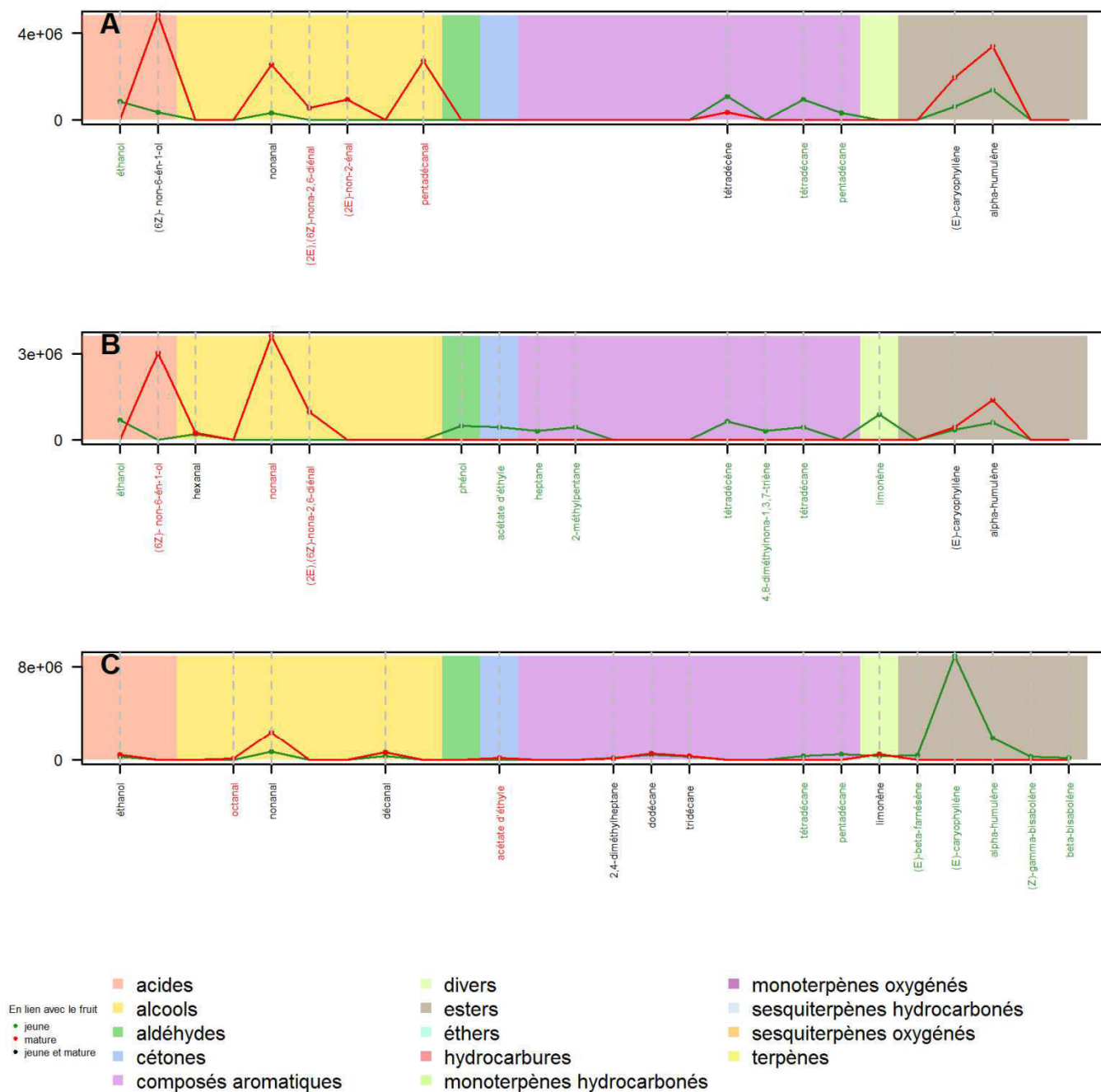


Figure 3.12. Profil d'émission des fruits de *Cucumis sativus* (concombre vantage) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Valeurs exprimées en aire sous les pics ; les composés annotés en vert sont présents uniquement chez le fruit au stade jeune, ceux en rouge chez le fruit mature, ceux en noir sont présents chez les 2 stades.

Tableau 3.13. Composition chimique de l’espace de tête du *Cucurbita pepo* (courgette luna)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		In situ		25 ± 1°C		37°C		In situ	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Hydrocarbures		3		5		4		0		1		1	
octane	800	254450	7,51	32050158	64,65	-	-	-	-	-	-	-	-
2,4-diméthylheptane	823	382831	11,31	4252277	8,58	161625	2,99	-	-	767613	16,58	-	-
4-méthyloctane	864	153948	4,55	526295	1,06	157623	2,92	-	-	-	-	-	-
nonane	900	-	-	1598153	3,22	-	-	226728	6,44	-	-	-	-
undécane	1106	-	-	499423	1,01	1822477	33,76	-	-	-	-	-	-
dodécane	1196	-	-	-	-	406224	7,53	-	-	-	-	-	-
Alcools		0		2		0		1		2		1	
éthanol	483	-	-	-	-	-	-	1404628	100,00	334921	9,51	126606	2,73
(Z)-hex-3-én-1-ol	854	-	-	763277	1,54	-	-	-	-	-	-	-	-
4-méthylpentanol	860	-	-	-	-	-	-	166360	4,72	-	-	-	-
oct-1-én-3-ol	976	-	-	2164050	4,37	-	-	-	-	-	-	-	-
Aldéhydes		0		0		1		0		2		4	
hexanal	804	-	-	-	-	-	-	-	-	460804	13,08	172553	3,73
octanal	1002	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	135219	2,92
nonanal	1102	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1158687	25,02
décanal	1202	-	-	-	-	283563	5,25	-	-	165366	4,69	704138	15,21
Aromatiques		0		0		0		0		1		0	
p-xylène	1390	-	-	-	-	-	-	0	0,00	152794	4,34	-	-
Cétones		0		2		0		0		2		1	
3-hydroxy-2-butanone	710	-	-	250052	0,50	-	-	-	-	-	-	-	-
pentan-3-one	697	-	-	-	-	-	-	-	-	174445	4,95	-	-
6-méthylhept-5-én-2-one	985	-	-	-	-	-	-	-	-	171957	4,88	78086	1,69
octan-3-one	988	-	-	317680	0,64	-	-	-	-	-	-	-	-
Monoterpènes hydrocarbonés		1		2		0		0		1		1	
β-pinène	984	-	-	593511	1,20	-	-	-	-	-	-	-	-
limonène	1031	1258768	37,17	-	-	-	-	-	-	121529	3,45	158308	3,42
α-terpinolène	1086	-	-	292112	0,59	-	-	-	-	-	-	-	-
Sesquiterpènes hydrocarbonés		0		7		0		0		0		0	
α-gurjunène	1409	-	-	331730	0,67	-	-	-	-	-	-	-	-
aromadendrène	1441	-	-	186382	0,38	-	-	-	-	-	-	-	-
germacrène-D	1484	-	-	226960	0,46	-	-	-	-	-	-	-	-
trans-muurola-4(14),5-diène	1493	-	-	2487702	5,02	-	-	-	-	-	-	-	-
bicyclogermacrène	1500	-	-	771025	1,56	-	-	-	-	-	-	-	-

Tableau 3.13. (suite)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
γ-cadinène	1513	-	-	238290	0,48	-	-	-	-	-	-	-	-
δ-cadinène	1523	-	-	610419	1,23	-	-	-	-	-	-	-	-
Divers		1		1		0		0		1		0	
2-méthylfurane	613	-	-	852704	1,72	-	-	-	-	-	-	-	-
3-méthylfurane	580	-	-	-	-	-	-	-	-	1038862	29,49	-	-
1,4-diméthoxybenzène	1163	1074584	31,74	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Composés non identifiés		1		1		3		0		2		3	
	750	-	-	561722	1,13	-	-	-	-	-	-	-	-
	864	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	425895	9,20
	979	-	-	-	-	-	-	-	-	370508	10,52	-	-
	1019	-	-	-	-	-	-	-	-	138420	3,93	-	-
	1058	261532	7,72	-	-	1442940	26,73	-	-	-	-	703864	15,20
	1108	-	-	-	-	308143	5,71	-	-	-	-	-	-
	1281	-	-	-	-	815561	15,11	-	-	-	-	199902	4,32
Total identifiés			92,3		98,9		52,5		100,0		85,6		71,3
Total non-identifiés			7,7		1,1		47,5		0,0		14,4		28,7
Total		3386116	100	49573937	100	5398160	100	1404629	100	3522705	100	4630881	100

IRR SPB-5: indice de rétention relatif calculé sur une colonne non polaire de type SPB-5

Composition : aire des pics de l’analyse CG –SM

Abondance : pourcentage relatif basé sur les aires des pics de l’analyse CG –SM

tr : trace, - : absent.

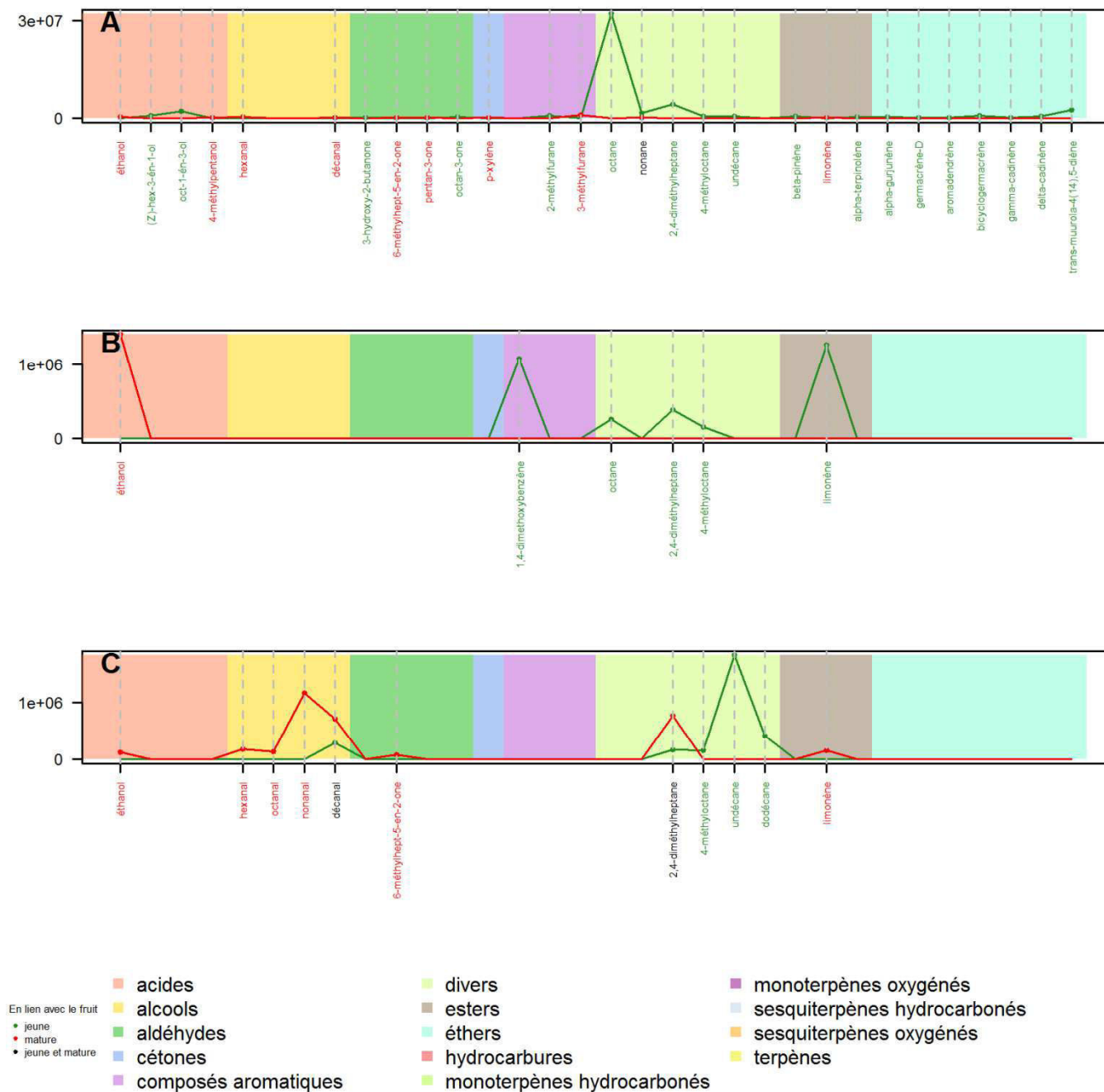


Figure 3.13. Profil d'émission des fruits de *Cucurbita pepo* (courgette luna) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Valeurs exprimées en aire sous les pics ; les composés annotés en vert sont présents uniquement chez le fruit au stade jeune, ceux en rouge chez le fruit mature, ceux en noir sont présents chez les 2 stades.

Tableau 3.14. Composition chimique de l’espace de tête du *Cucurbita pepo* (courgette sofia)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Hydrocarbures		3		3		9		2		2		3	
pentane	500	-	-	-	-	-	-	1013041	19,59	-	-	-	-
2-méthylpentane	573	-	-	-	-	-	-	425628	8,23	-	-	-	-
octane	800	-	-	2237276	11,61	-	-	-	-	270951	21,14	-	-
2,4-diméthylheptane	823	382976	17,13	518364	2,69	2825060	2,84	-	-	-	-	63783	1,68
cycloocta-1,3,5,7-tétraène	837	-	-	-	-	600634	0,60	-	-	-	-	-	-
4-méthyloctane	864	176828	7,91	-	-	2484736	2,50	-	-	-	-	70893	1,87
nonane	900	-	-	1139907	5,91	-	-	-	-	257873	20,12	-	-
décane	1000	-	-	-	-	282982	0,28	-	-	-	-	-	-
undécane	1106	205816	9,21	-	-	4984392	5,01	-	-	-	-	1796787	47,39
dodécane	1196	-	-	-	-	4394700	4,42	-	-	-	-	-	-
6-éthyl-2-méthyloctane*	1097	-	-	-	-	1346859	1,35	-	-	-	-	-	-
tridécane	1295	-	-	-	-	1816744	1,83	-	-	-	-	-	-
tétradécane	1394	-	-	-	-	1529204	1,54	-	-	-	-	-	-
pentadécane	1493	-	-	154990	0,80	-	-	-	-	-	-	-	-
Alcools		1		3		1		0		2		0	
éthanol	483	-	-	6325901	32,82	-	-	-	-	100019	7,80	-	-
oct-1-én-3-ol	976	489711	21,90	2209019	11,46	1590272	1,60	-	-	-	-	-	-
octan-3-ol	994	-	-	145043	0,75	-	-	-	-	80677	6,29	-	-
Aldéhydes		0		0		3		1		0		1	
hexanal	804	-	-	-	-	417720	0,42	-	-	-	-	-	-
octanal	1002	-	-	-	-	996078	1,00	164021	3,17	-	-	-	-
décanal	1202	-	-	-	-	3565982	3,58	-	-	-	-	352176	9,29
Aromatiques		0		0		1		0		0		0	
mésitylène	994	-	-	-	-	282982	0,28	-	-	-	-	-	-
Esters		1		0		1		0		0		0	
acétate d'éthyle	613	451799	20,21	-	-	301679	0,30	-	-	-	-	-	-
Monoterpènes hydrocarbonés		1		3		1		4		2		1	
α-pinène	940	-	-	126682	0,66	-	-	-	-	-	-	-	-
sabinène	978	-	-	-	-	-	-	164297	3,18	356623	27,82	-	-
β-pinène	984	-	-	1120556	5,81	-	-	115221	2,23	-	-	-	-
limonène	1031	223956	10,02	2484540	12,89	1297273	1,30	2943590	56,92	93434	7,29	-	-
(Z)-β-ocimène	1036	-	-	-	-	-	-	72253	1,40	-	-	-	-

Tableau 3.14. (suite)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Monoterpènes oxygénés		0		0		1		0		0		0	
tétrahydro-lavendulol	1157	-	-	-	-	450320	0,45	-	-	-	-	-	-
Divers		0		1		0		1		0		0	
3-méthylfurane	580	-	-	-	-	-	-	185507	3,59	-	-	-	-
2-méthylfurane	613	-	-	1038355	5,39	-	-	-	-	-	-	-	-
Composés non identifiés		2		4		13		1		1		2	
	700	-	-	640655	3,32	-	-	87655	1,70	-	-	-	-
	801	147359	6,59	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	864	-	-	435958	2,26	-	-	-	-	-	-	-	-
	1051	-	-	-	-	948753	0,95	-	-	-	-	-	-
	1058	-	-	380888	1,98	25560372	25,69	-	-	-	-	1196709	31,56
	1077	-	-	-	-	-	-	-	-	122233	9,54	-	-
	1103	-	-	-	-	22748463	22,86	-	-	-	-	-	-
	1108	-	-	-	-	4236509	4,26	-	-	-	-	311435	8,21
	1157	-	-	-	-	1314688	1,32	-	-	-	-	-	-
	1193	-	-	-	-	496171	0,50	-	-	-	-	-	-
	1277	-	-	-	-	682488	0,69	-	-	-	-	-	-
	1281	157183	7,03	319248	1,66	10992638	11,05	-	-	-	-	-	-
	1289	-	-	-	-	1167123	1,17	-	-	-	-	-	-
	1295	-	-	-	-	830327	0,83	-	-	-	-	-	-
	1303	-	-	-	-	863054	0,87	-	-	-	-	-	-
	1307	-	-	-	-	250684	0,25	-	-	-	-	-	-
	1391	-	-	-	-	238990	0,24	-	-	-	-	-	-
Total identifiés		86,4		90,8		29,3		98,3		90,5		60,2	
Total non-identifiés		13,6		9,2		70,7		1,7		9,5		39,8	
Total		2235633 100		19277393 100		99497898 100		5171220 100		1281815 100		3791787 100	

IRR SPB-5: indice de rétention relatif calculé sur une colonne non polaire de type SPB-5

Composition : aire des pics de l’analyse CG –SM

Abondance : pourcentage relatif basé sur les aires des pics de l’analyse CG –SM

tr : trace, - : absent.

* Tentative d’identification

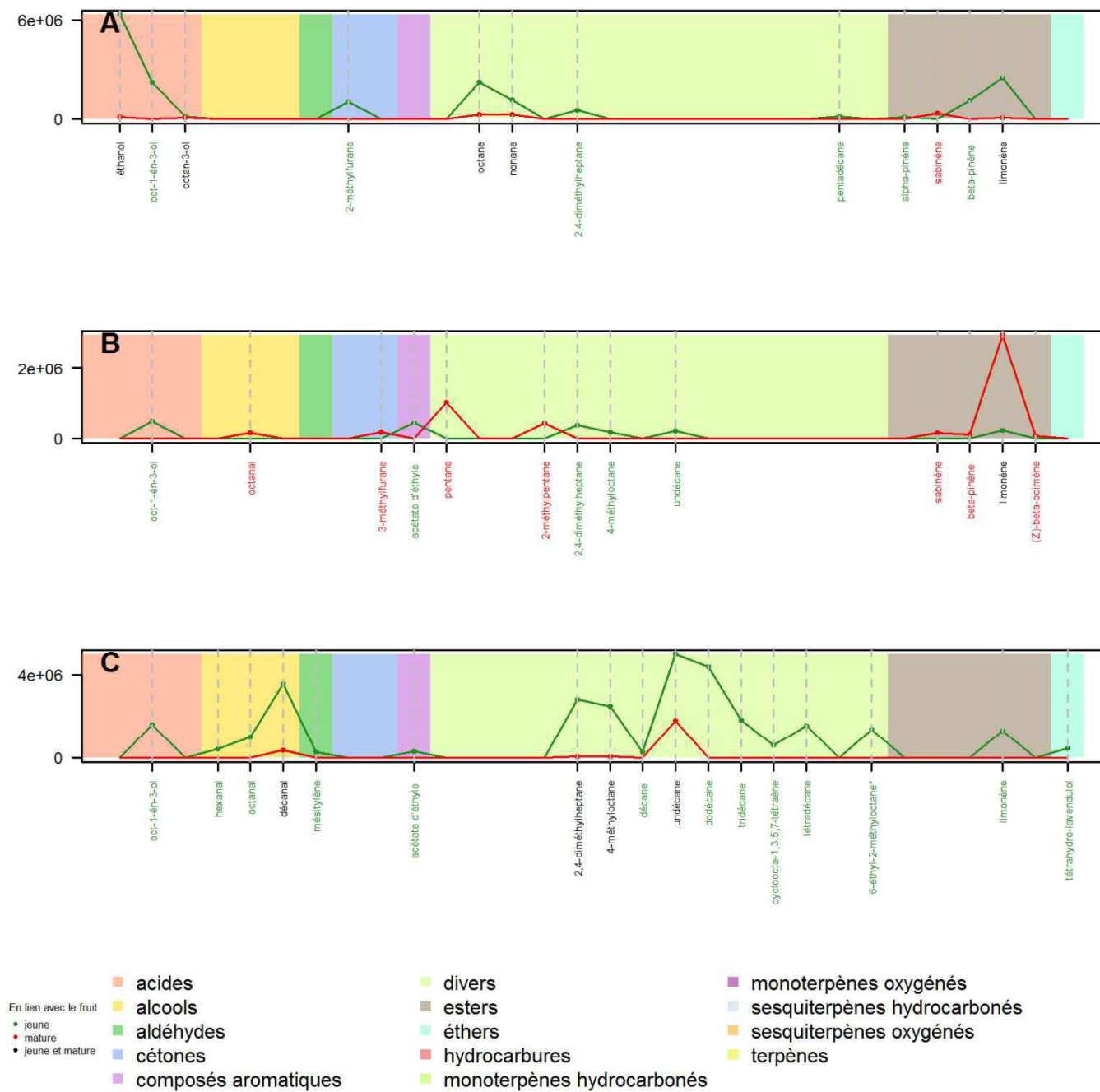


Figure 3.14. Profil d'émission des fruits de *Cucurbita pepo* (courgette sofia) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Valeurs exprimées en aire sous les pics ; les composés annotés en vert sont présents uniquement chez le fruit au stade jeune, ceux en rouge chez le fruit mature, ceux en noir sont présents chez les 2 stades.

Tableau 3.15. Composition chimique de l’espace de tête du *Cucurbita maxima* (giraumon)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Hydrocarbures		4		0		4		0		0		3	
octane	800	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	375759	5,14
2,4-diméthylheptane	823	1066323	9,67	-	-	277186	3,20	-	-	-	-	1171463	16,03
4-méthyloctane	862	1038230	9,42	-	-	458628	5,29	-	-	-	-	488693	6,69
undécane	1106	2368163	21,48	-	-	2431977	28,04	-	-	-	-	-	-
dodécane	1196	400604	3,63	-	-	496265	5,72	-	-	-	-	-	-
Alcools		0		2		0		4		1		0	
éthanol	483	-	-	-	-	-	-	778358	3,47	-	-	-	-
(Z)-hex-3-én-1-ol	854	-	-	278165	44,42	-	-	3047616	13,58	238322	13,55	-	-
hexanol	865	-	-	227732	36,37	-	-	4989461	22,23	-	-	-	-
(6Z)- non-6-én-1-ol	1164	-	-	-	-	-	-	712046	3,17	-	-	-	-
Aldéhydes		2		0		1		3		1		3	
hexanal	804	209611	1,90	-	-	-	-	7199413	32,08	376216	21,40	-	-
heptanal	900	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	335405	4,59
octanal	1002	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	609144	8,33
nonanal	1102	-	-	-	-	-	-	138951	0,62	-	-	-	-
décanal	1202	288311	2,62	-	-	592912	6,84	224143	1,00	-	-	1564770	21,41
Aromatiques		0		0		0		0		0		1	
toluène	786	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	931507	12,75
Cétones		0		0		0		1		1		1	
pentan-3-one	697	-	-	-	-	-	-	-	-	174229	9,91	-	-
3-hydroxybutan-2-one	710	-	-	-	-	-	-	996454	4,44	-	-	-	-
6-me thylheptan-2-one	985	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	322312	4,41
Acides		0		0		0		0		0		1	
acide acétique	565	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	749188	10,25
Esters		1		1		0		0		1		1	
acétate d'éthyle	613	333711	3,03	120272	19,21	-	-	-	-	241318	13,72	-	-
acétate d'hexyle	1011	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	349328	4,78
Divers		0		0		0		1		0		0	
3-méthylfurane	580	-	-	-	-	-	-	461873	2,06	-	-	-	-
Composés non identifiés		3		0		4		3		3		1	
	549	-	-	-	-	-	-	1122126	5,00	-	-	-	-
	575	-	-	-	-	-	-	1357458	6,05	-	-	-	-
	700	-	-	-	-	-	-	1415394	6,31	-	-	-	-

Tableau 3.15. (suite)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
	864	-	-	-	-	-	-	-	-	270301	15,37	-	-
	1058	3547164	32,18	-	-	1877805	21,65	-	-	-	-	410878	5,62
	1108	441796	4,01	-	-	360621	4,16	-	-	-	-	-	-
	1281	1330085	12,07	-	-	1791748	20,66	-	-	-	-	-	-
	1327	-	-	-	-	386358	4,45	-	-	-	-	-	-
	1422	-	-	-	-	-	-	-	-	348697	19,83	-	-
	1457	-	-	-	-	-	-	-	-	109326	6,22	-	-
Total identifiés		51,8		100,0		49,1		82,6		58,6		94,4	
Total non-identifiés		48,2		0,0		50,9		17,4		41,4		5,6	
Total		11024004	100	626172	100	8673505	100	22443305	100	1758416	100	7308455	100

IRR SPB-5: indice de rétention relatif calculé sur une colonne non polaire de type SPB-5

Composition : aire des pics de l’analyse CG –SM

Abondance : pourcentage relatif basé sur les aires des pics de l’analyse CG –SM

tr : trace, - : absent.

* Tentative d'identification

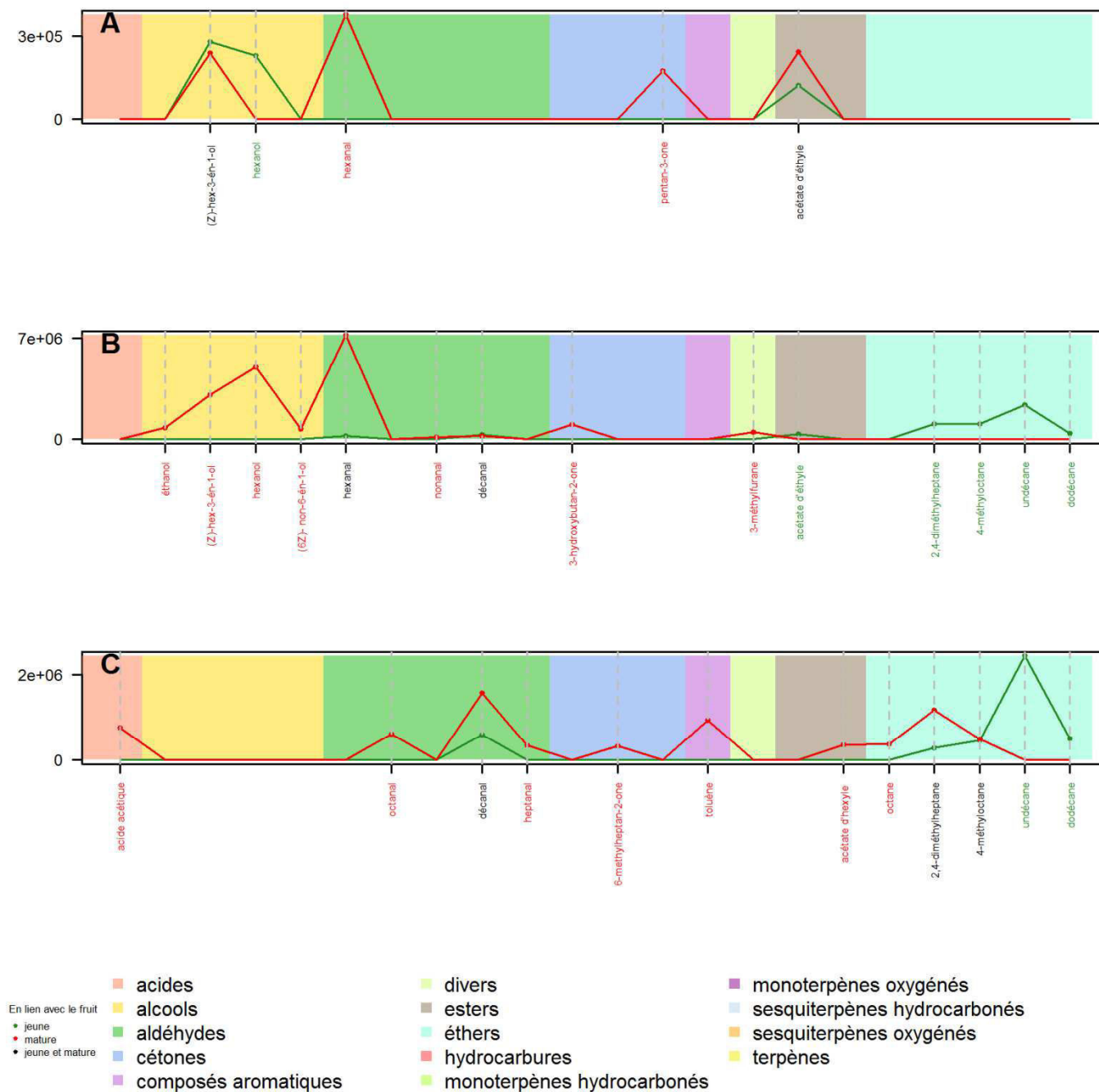


Figure 3.15. Profil d'émission des fruits de *Cucurbita maxima* (giraumon) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Valeurs exprimées en aire sous les pics ; les composés annotés en vert sont présents uniquement chez le fruit au stade jeune, ceux en rouge chez le fruit mature, ceux en noir sont présents chez les 2 stades.

Tableau 3.16. Composition chimique de l’espace de tête du *Momordica charantia* (margose cultivée)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
		5		5		1		2		6		4	
Hydrocarbures													
penta-1,3-diène*	536	-	-	-	-	-	-	-	-	566185	3,30	-	-
2-methylpentane	573	2318075	7,97	296686	2,52	117192	37,52	58504	1,42	216984	1,26	-	-
3-methylpentane	580	1348395	4,63	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
octane	800	-	-	-	-	-	-	-	-	226078	1,32	-	-
2,4-diméthylheptane	833	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1052103	9,25
4-méthyloctane	864	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	450978	3,96
nonane	900	-	-	-	-	-	-	-	-	166782	0,97	-	-
3-éthylocta-1,5-diène*	998	1459992	5,02	1647129	13,96	-	-	-	-	411559	2,40	-	-
4,8-diméthylnona-1,3,7-triène	1113	1104058	3,79	2931864	24,85	-	-	-	-	-	-	-	-
dodécane	1196	201055	0,69	68950	0,58	-	-	-	-	-	-	244216	2,15
tridécano	1295	-	-	229063	1,94	-	-	-	-	-	-	-	-
pentadécane	1493	-	-	-	-	-	-	67545	1,64	-	-	920837	8,09
Alcools		3		2		0		1		4		1	
pent-1-én-3-ol	688	217651	0,75	-	-	-	-	-	-	251865	1,47	-	-
(Z)-hex-3-én-1-ol	854	4688297	16,11	-	-	-	-	491193	11,93	4518555	26,34	-	-
(2E)-hex-2-énol	854	-	-	731463	6,20	-	-	-	-	-	-	-	-
hexanol	865	773038	2,66	345416	2,93	-	-	-	-	1773885	10,34	-	-
pent-2-én-1-ol	765	-	-	-	-	-	-	-	-	240521	1,40	-	-
nonanol	1166	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	284188	2,50
Aldéhydes		0		1		2		1		0		2	
hexanal	804	-	-	184120	1,56	-	-	132674	3,22	-	-	-	-
nonanal	1102	-	-	-	-	138951	44,49	-	-	-	-	4291506	37,73
décanal	1202	-	-	-	-	56207	17,99	-	-	-	-	1340721	11,79
Cétones		1		0		0		1		1		1	
pentan-3-one	697	980253	3,37	-	-	-	-	355396	8,63	1169692	6,82	0	0,00
Esters		2		4		0		1		2		0	
acétate d'éthyle	613	1048959	3,61	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
acétate d'hex-(3Z)-ényle	1019	402856	1,38	217421	1,84	-	-	-	-	-	-	-	-
3-hexényl-2-méthylbutanoate	1229	-	-	668507	5,67	-	-	148561	3,61	-	-	-	-
pentanoate de cyclohexyle*	1232	-	-	-	-	-	-	-	-	107093	0,62	-	-
(3Z)-tiglate d'hex-3-ényle	1319	-	-	1293565	10,97	-	-	-	-	301996	1,76	-	-
tiglate d'hexyle	1330	-	-	295486	2,50	-	-	-	-	-	-	-	-
Monoterpènes hydrocarbonés		5		4		0		4		8		0	
α-pinène	940	5026213	17,27	266529	2,26	-	-	1849188	44,91	1882202	10,97	-	-
sabinène	978	486832	1,67	-	-	-	-	107315	2,61	288374	1,68	-	-
β-pinène	984	-	-	266665	2,26	-	-	-	-	359183	2,09	-	-

Tableau 3.16. (suite)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
		DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
Composés	IRR SPB-5	25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
δ-3-carène	1000	-	-	-	-	-	-	-	-	47392	0,28	-	-
cymène (<i>o</i> ou <i>p</i>)	1029	-	-	199722	1,69	-	-	-	-	82544	0,48	-	-
limonène	1031	2846176	9,78	638610	5,41	-	-	350717	8,52	1798905	10,49	-	-
(<i>Z</i>)-β-ocimène	1036	-	-	-	-	-	-	221406	5,38	1149081	6,70	-	-
(<i>E</i>)-β-ocimène	1046	2655258	9,13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α-terpinolène	1086	604884	2,08	-	-	-	-	-	-	459239	2,68	-	-
Monoterpènes oxygénés		1		0		0		0		1		0	
myrténol	1194	407409	1,40	-	-	-	-	-	-	1153628	6,72	-	-
Divers		0		0		0		1		0		0	
2-méthylfurane	613	-	-	-	-	-	-	334917	8,13	-	-	-	-
Composés non identifiés		4		7		0		0		2		4	
	564	1326093	4,56	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	790	239917	0,82	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	801	542653	1,87	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	940	-	-	288932	2,45	-	-	-	-	-	-	-	-
	979	-	-	240580	2,04	-	-	-	-	-	-	-	-
	985	418458	1,44	-	-	-	-	-	-	151997	0,89	-	-
	994	-	-	37503	0,32	-	-	-	-	-	-	-	-
	998	-	-	-	-	-	-	-	-	315940	1,84	-	-
	1008	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	978096	8,60
	1058	-	-	263249	2,23	-	-	-	-	-	-	-	-
	1204	-	-	310650	2,63	-	-	-	-	-	-	-	-
	1232	-	-	312417	2,65	-	-	-	-	-	-	-	-
	1281	-	-	61951	0,53	-	-	-	-	-	-	827350	7,27
	1327	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	179318	1,58
	1663	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	806431	7,09
Total identifiés		91,3		87,2		100,0		100,0		97,3		75,5	
Total non-identifiés		8,7		12,8		0,0		0,0		2,7		24,5	
Total		29096538		100		11796496		100		312352		100	

		DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
Composés	IRR SPB-5	25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
δ-3-carène	1000	-	-	-	-	-	-	-	-	47392	0,28	-	-
cymène (<i>o</i> ou <i>p</i>)	1029	-	-	199722	1,69	-	-	-	-	82544	0,48	-	-
limonène	1031	2846176	9,78	638610	5,41	-	-	350717	8,52	1798905	10,49	-	-
(<i>Z</i>)-β-ocimène	1036	-	-	-	-	-	-	221406	5,38	1149081	6,70	-	-
(<i>E</i>)-β-ocimène	1046	2655258	9,13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α-terpinolène	1086	604884	2,08	-	-	-	-	-	-	459239	2,68	-	-
Monoterpènes oxygénés		1		0		0		0		1		0	
myrténol	1194	407409	1,40	-	-	-	-	-	-	1153628	6,72	-	-
Divers		0		0		0		1		0		0	
2-méthylfurane	613	-	-	-	-	-	-	334917	8,13	-	-	-	-
Composés non identifiés		4		7		0		0		2		4	
	564	1326093	4,56	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	790	239917	0,82	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	801	542653	1,87	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	940	-	-	288932	2,45	-	-	-	-	-	-	-	-
	979	-	-	240580	2,04	-	-	-	-	-	-	-	-
	985	418458	1,44	-	-	-	-	-	-	151997	0,89	-	-
	994	-	-	37503	0,32	-	-	-	-	-	-	-	-
	998	-	-	-	-	-	-	-	-	315940	1,84	-	-
	1008	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	978096	8,60
	1058	-	-	263249	2,23	-	-	-	-	-	-	-	-
	1204	-	-	310650	2,63	-	-	-	-	-	-	-	-
	1232	-	-	312417	2,65	-	-	-	-	-	-	-	-
	1281	-	-	61951	0,53	-	-	-	-	-	-	827350	7,27
	1327	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	179318	1,58
	1663	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	806431	7,09
Total identifiés		91,3		87,2		100,0		100,0		97,3		75,5	
Total non-identifiés		8,7		12,8		0,0		0,0		2,7		24,5	
Total		29096538		100		11796496		100		312352		100	

IRR SPB-5: indice de rétention relatif calculé sur une colonne non polaire de type SPB-5

Composition : aire des pics de l'analyse CG –SM

Abondance : pourcentage relatif basé sur les aires des pics de l'analyse CG –SM

tr : trace, - : absent.

* Tentative d'identification

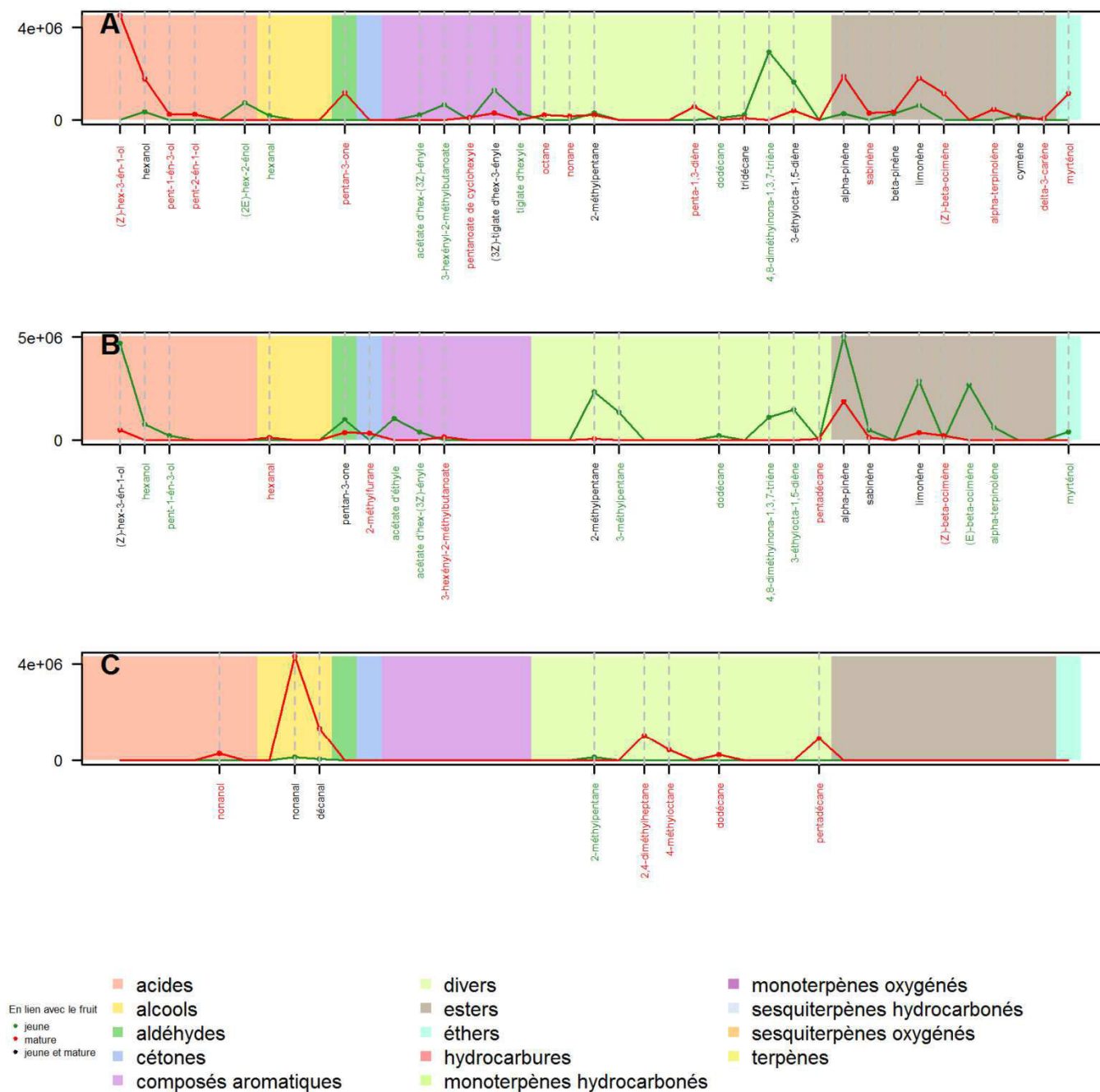


Figure 3.16. Profil d'émission des fruits de *Momordica charantia* (margose cultivée) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Valeurs exprimées en aire sous les pics ; les composés annotés en vert sont présents uniquement chez le fruit au stade jeune, ceux en rouge chez le fruit mature, ceux en noir sont présents chez les 2 stades.

Tableau 3.17. Composition chimique de l'espace de tête du *Cyclanthera pedata* (margose lisse)

		FRUIT JEUNE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Hydrocarbures		4		0		1	
2-méthylpentane	573	120273	0,18	-	-	-	-
octane	800	706946	1,03	-	-	-	-
2,4-diméthylheptane	823	-	-	-	-	210392	0,64
4-méthyloctane	864	-	-	-	-	-	-
décane	999	-	-	-	-	-	-
4,8-diméthylnona-1,3,7-triène	1113	-	-	-	-	-	-
dodécane	1196	229513	0,33	-	-	-	-
tridécane	1295	-	-	-	-	-	-
tétradécène	1397	-	-	-	-	-	-
tétradécane	1394	-	-	-	-	-	-
pentadécane	1493	-	-	-	-	-	-
hexadécane	1593	11123	0,02	-	-	-	-
heptadécane	1692	-	-	-	-	-	-
octadécane	1791	-	-	-	-	-	-
Alcools		7		8		0	
éthanol	483	236055	0,34	148469	0,49	-	-
(3 <i>Z</i>)-hex-3-én-1-ol	854	2123599	3,09	387618	1,27	-	-
hexanol	865	7042451	10,26	-	-	-	-
oct-1-én-3-ol	976	11843067	17,25	5205345	17,02	-	-
octan-3-ol	994	874284	1,27	893334	2,92	-	-
octanol	1066	-	-	62944	0,21	-	-
(2 <i>E</i>),(6 <i>Z</i>)-nona-2,6-dién-1-ol	1163	485181	0,71	460050	1,50	-	-
(6 <i>Z</i>)- non-6-én-1-ol	1164	15444800	22,49	10852004	35,49	-	-
nonanol	1166	-	-	1011978	3,31	-	-
undécanol	1370	-	-	-	-	-	-
Aldéhydes		3		2		3	
hexanal	804	844700	1,23	-	-	-	-
octanal	1002	-	-	-	-	2111449	6,39
nonanal	1102	-	-	69430	0,23	7996941	24,19
(2 <i>E</i>)-non-2-éнал	1157	377251	0,55	116776	0,38	-	-
décanal	1202	126509	0,18	-	-	1368383	4,14
heptanal	900	-	-	-	-	-	-

FRUIT MATURE					
DUREE = 3h				DUREE = 4h	
25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
4		5		8	
39247	0,08	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	967187	1,24
-	-	-	-	1177728	1,51
-	-	-	-	803138	1,03
213149	0,45	184075	0,20	-	-
272565	0,58	-	-	1866367	2,39
-	-	-	-	574080	0,73
-	-	-	-	1208692	1,55
-	-	117861	0,13	3562235	4,56
-	-	270816	0,30	5106733	6,54
-	-	391145	0,43	-	-
-	-	506705	0,56	-	-
441727	0,94	-	-	-	-
5		8		1	
86329	0,18	82012	0,09	-	-
6348316	13,46	2773902	3,05	-	-
9412372	19,96	3808619	4,19	-	-
3757205	7,97	8931289	9,82	1327357	1,70
-	-	3781626	4,16	-	-
-	-	134472	0,15	-	-
-	-	-	-	-	-
6810253	14,44	31766139	34,91	-	-
-	-	-	-	-	-
-	-	220464	0,24	-	-
3		2		7	
644450	1,37	157580	0,17	742879	0,95
-	-	-	-	3128070	4,00
-	-	-	-	14220397	18,20
94396	0,20	46786	0,05	-	-
245682	0,52	-	-	6184338	7,92
-	-	-	-	1634006	2,09

Tableau 3.17. (suite)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
undécanal	1306	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	581547	0,74
dodécanal	1409	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	720540	0,92
Aromatiques		1		0		0		0		0		3	
toluène	790	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	611570	0,78
anisole	913	302364	0,44	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
tétra-propylène*	1080	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	436041	0,56
<i>p</i> -xylène	1390	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	964355	1,23
Cétones		1		1		0		0		0		1	
6-méthylhept-5-én-2-one	985	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1717638	2,20
octan-3-one	986	2469729	3,60	1015300	3,32	-	-	-	-	-	-	-	-
Acides		0		0		1		0		0		2	
acide acétique	565	-	-	-	-	1899444	5,74	-	-	-	-	3379538	4,33
acide octanoïque	1167	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	932092	1,19
Esters		4		8		0		7		15		0	
acétate d'éthyle	613	235522	0,34	-	-	-	-	230646	0,49	243257	0,27	-	-
méthanoate d'hexyle	870	-	-	844392	2,76	-	-	-	-	-	-	-	-
acétate d'hex-(3 <i>E</i>)-ényle	1005	-	-	-	-	-	-	449666	0,95	270628	0,30	-	-
acétate d'hexyle	1011	391261	0,57	73130	0,24	-	-	507573	1,08	422597	0,46	-	-
propanoate de (3 <i>Z</i>)-hex-3-ényle *	1096	251303	0,37	231873	0,76	-	-	687879	1,46	-	-	-	-
propanoate d'hexyle	1101	-	-	-	-	-	-	-	-	2477295	2,72	-	-
isobutanoate de (3 <i>Z</i>)-hex-3-ényle	1147	-	-	-	-	-	-	-	-	324331	0,36	-	-
isobutanoate d'hexyle	1147	-	-	-	-	-	-	-	-	509987	0,56	-	-
2-méthylpropanoate d'hexyle	1152	158559	0,23	144301	0,47	-	-	-	-	-	-	-	-
butanoate d'hexyle	1187	2015090	2,93	930435	3,04	-	-	1196496	2,54	3148202	3,46	-	-
butanoate de (3 <i>Z</i>)-hex-3-ényle	1187	1185543	1,73	507001	1,66	-	-	1721382	3,65	2010102	2,21	-	-
isovalérate de (3 <i>Z</i>)-hex-3-ényle	1230	303187	0,44	315711	1,03	-	-	719477	1,53	2144755	2,36	-	-
2- méthylbutanoate d'hexyle	1233	702023	1,02	812538	2,66	-	-	-	-	-	-	-	-
but-2-énoate d'hexyle	1238	-	-	-	-	-	-	-	-	614096	0,67	-	-
pentanoate d'hexyle	1298	-	-	-	-	-	-	-	-	872059	0,96	-	-
tiglate de (3 <i>Z</i>)-hex-3-ényle	1319	-	-	-	-	-	-	-	-	2892798	3,18	-	-
2-méthylbut-2-énoate de (3 <i>Z</i>)-hex-3-ényle	1322	-	-	803288	2,63	-	-	-	-	-	-	-	-
tiglate d'hexyle	1330	-	-	-	-	-	-	-	-	5189779	5,70	-	-
2-méthylbut-2-énoate d'hexyle	1333	-	-	1932790	6,32	-	-	-	-	-	-	-	-

Tableau 3.17. (suite)

		FRUIT JEUNE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
hexanoate de (3Z)-hex-3-ényle	1378	-	-	307232	1,00	-	-
hexanoate d'hexyle	1380	1700535	2,48	801502	2,62	-	-
Monoterpènes hydrocarbonés		5		3		3	
α-pinène	940	2469729	3,60	723440	2,37	5468635	16,54
camphène	956	177542	0,26	-	-	-	-
β-pinène	984	4598790	6,70	-	-	8723203	26,38
limonène	1032	2794763	4,07	907723	2,97	1220835	3,69
(Z)-β-ocimène	1036	385382	0,56	215667	0,71	-	-
α-terpinolène	1080	-	-	-	-	-	-
Divers		1		0		0	
éthylfurane (isomère 2 ou 3 non identifié)	702	373482	0,54	-	-	-	-
Composés non identifiés		5		2		2	
	700	-	-	78698	0,26	-	-
	793	712735	1,04	-	-	-	-
	853	-	-	-	-	-	-
	940	-	-	-	-	-	-
	965	-	-	-	-	-	-
	1010	-	-	-	-	1512830	4,58
	1058	5370116	7,82	723834	2,37	-	-
	1069	-	-	-	-	-	-
	1077	136737	0,20	-	-	-	-
	1100	-	-	-	-	-	-
	1132	179509	0,26	-	-	-	-
	1169	-	-	-	-	-	-
	1232	-	-	-	-	-	-
	1281	-	-	-	-	-	-
	1289	-	-	-	-	-	-
	1295	-	-	-	-	-	-
	1303	-	-	-	-	-	-
	1307	-	-	-	-	-	-
	1324	1403411	2,04	-	-	-	-
	1327	-	-	-	-	-	-
	1330	-	-	-	-	-	-
	1336	-	-	-	-	-	-

FRUIT MATURE					
DUREE = 3h				DUREE = 4h	
25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
Composition	Abundance	Composition	Abundance	Composition	Abundance
-	-	1211725	1,33	-	-
-	-	2222313	2,44	-	-
6		4		1	
3919699	8,31	1086393	1,19	-	-
223954	0,47	-	-	-	-
2910999	6,17	2042177	2,24	-	-
3176450	6,74	1923581	2,11	847899	1,09
1752746	3,72	779695	0,86	-	-
292595	0,62	-	-	-	-
1		1		0	
163558	0,35	242681	0,27	-	-
1		5		14	
-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	563573	0,72
-	-	-	-	630815	0,81
-	-	-	-	1241000	1,59
-	-	-	-	834935	1,07
-	-	1054322	1,16	4563663	5,84
-	-	-	-	795384	1,02
-	-	-	-	-	-
-	-	682034	0,75	-	-
-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	1254004	1,60
880895	1,87	3883577	4,27	-	-
-	-	-	-	7047471	9,02
-	-	-	-	897880	1,15
-	-	-	-	743527	0,95
-	-	-	-	771309	0,99
-	-	-	-	4737163	6,06
-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	948822	1,21
-	-	1324479	1,46	-	-
-	-	-	-	408066	0,52

Tableau 3.17. (suite)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		In situ		25 ± 1°C		37°C		In situ	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
		1646	-	-	-	-	2552171	7,72	-	-	-	-	-
	1698	-	-	-	-	-	-	-	-	237975	0,26	-	-
Total identifiés		88,6		97,4		87,7		98,1		92,1		67,4	
Total non-identifiés		11,4		2,6		12,3		1,9		7,9		32,6	
Total		68662818	100	30576827	100	33064292	100	47160482	100	90984364	100	78132068	100

IRR SPB-5: indice de rétention relatif calculé sur une colonne non polaire de type SPB-5

Composition : aire des pics de l’analyse CG –SM

Abondance : pourcentage relatif basé sur les aires des pics de l’analyse CG –SM

tr : trace, - : absent.

* Tentative d'identification

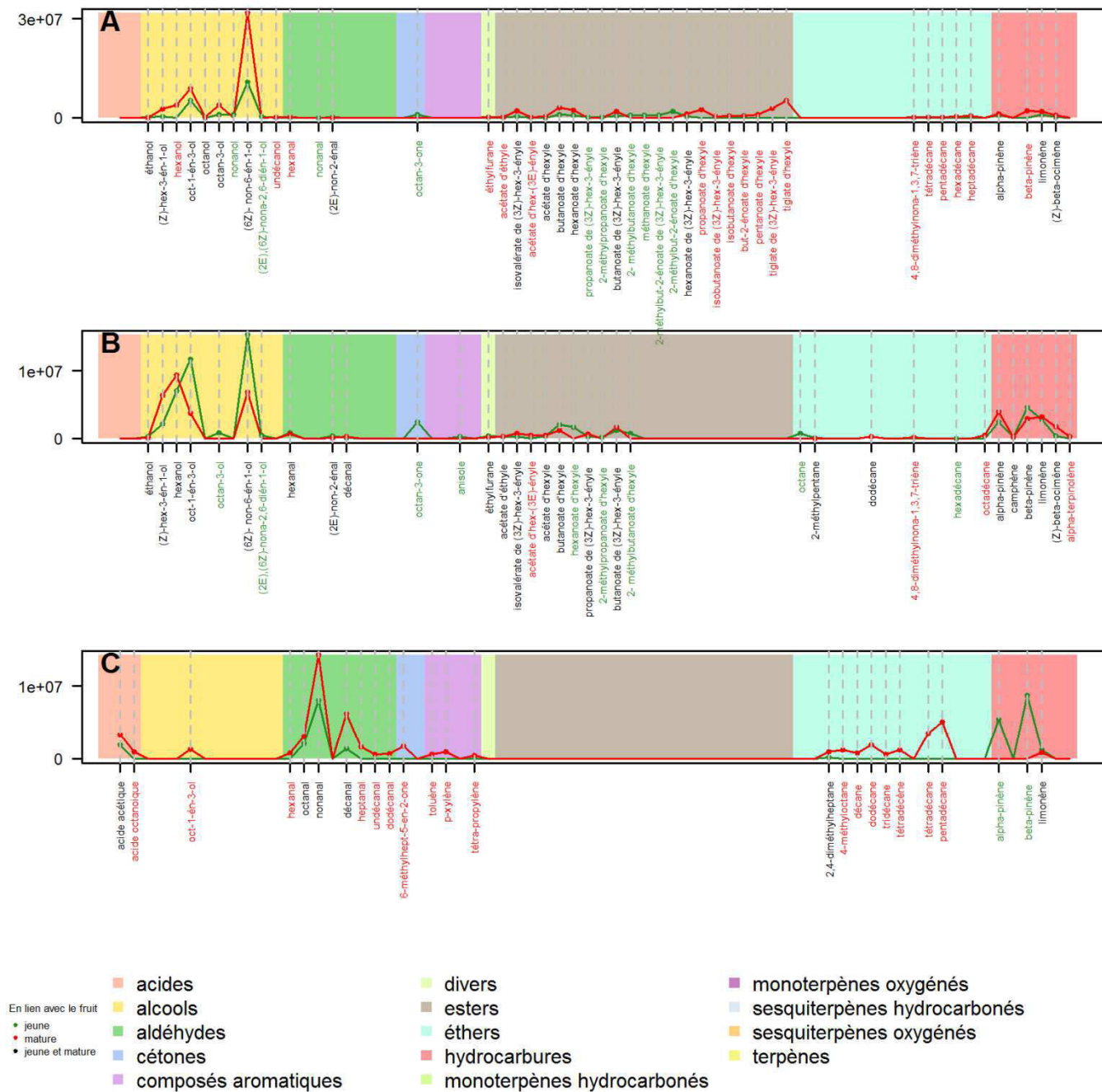


Figure 3.17. Profil d'émission des fruits de *Cyclanthera pedata* (margose lisse) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Valeurs exprimées en aire sous les pics ; les composés annotés en vert sont présents uniquement chez le fruit au stade jeune, ceux en rouge chez le fruit mature, ceux en noir sont présents chez les 2 stades.

Tableau 3.18. Composition chimique de l'espace de tête du *Momordica charantia* (margose sauvage)

		FRUIT JEUNE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Hydrocarbures		4		4		3	
undécène	179	515267	3,28	-	-	-	-
octane	800	-	-	166100	3,90	-	-
2,4-diméthylheptane	823	-	-	-	-	-	-
4-méthyloctane	864	-	-	-	-	-	-
nonane	900	-	-	144628	3,40	-	-
3-éthyl octa-1,5-diène*	998	-	-	741127	17,41	-	-
undécane	1106	-	-	-	-	-	-
4,8-diméthyl nona-1,3,7-triène	1113	646539	4,12	848889	19,94	-	-
dodécane	1196	-	-	-	-	149092	2,43
tridécane	1295	198704	1,27	-	-	130827	2,13
tétradécane	1394	134913	0,86	-	-	317676	5,17
pentadécane	1493	-	-	-	-	-	-
hexadécane	1593	-	-	-	-	-	-
heptadécane	1692	-	-	-	-	-	-
Alcools		2		3		0	
éthanol	484	-	-	220909	5,19	-	-
hexanol	865	6206445	39,55	-	-	-	-
hex-4-én-1-ol	871	2683612	17,10	301215	7,07	-	-
oct-1-én-3-ol	976	-	-	660033	15,50	-	-
octanol	1006	-	-	-	-	-	-
nonanol	1166	-	-	-	-	-	-
Aldéhydes		2		1		3	
hexanal	804	858232	5,47	-	-	-	-
hex-2-énal	846	2683612	17,10	301215	7,07	-	-
octanal	1002	-	-	-	-	431698	7,03
nonanal	1102	-	-	-	-	1714164	27,92
décanal	1202	-	-	-	-	747312	12,17
dodéc-3-énal*	1364	-	-	-	-	-	-
undécanal	1306	-	-	-	-	-	-
dodécanal	1409	-	-	-	-	-	-
tridécanal	1505	-	-	-	-	-	-
tétradécanal	1607	-	-	-	-	-	-
		FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Hydrocarbures		3		0		5	
-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-
456027	29,74	-	-	-	-	-	-
280309	18,28	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-
117975	7,69	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	972331	5,62
-	-	-	-	-	-	1045495	6,04
-	-	-	-	-	-	6104628	35,28
-	-	-	-	-	-	388164	2,24
-	-	-	-	-	-	813735	4,70
Alcools		0		1		2	
-	-	-	-	390106	7,07	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	635047	3,67
-	-	-	-	-	-	290701	1,68
Aldéhydes		0		0		7	
-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	1775613	10,26
-	-	-	-	-	-	894671	5,17
-	-	-	-	-	-	741257	4,28
-	-	-	-	-	-	125394	0,72
-	-	-	-	-	-	214491	1,24
-	-	-	-	-	-	293880	1,70
-	-	-	-	-	-	247721	1,43

Tableau 3.18. (suite)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Aromatiques		0		0		2		0		0		1	
mésitylène	994	-	-	-	-	107222	1,75	-	-	-	-	-	-
<i>p</i> -xylène	1390	-	-	-	-	606498	9,88	-	-	-	-	239647	1,39
Cétones		0		1		0		0		2		0	
pentan-3-one	697	-	-	234147	5,50	-	-	-	-	-	-	-	-
3-hydroxybutan-2-one	710	-	-	-	-	-	-	955703	17,33	-	-	-	-
Esters		0		0		0		0		1		0	
acétate d'éthyle	613	-	-	-	-	-	-	-	-	1112334	20,16	-	-
Monoterpènes hydrocarbonés		3		0		1		0		1		0	
α-pinène	940	437698	2,79	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
limonène	1032	192953	1,23	-	-	144609	2,35	-	-	1204755	21,84	-	-
(Z)-β-ocimène	1036	229459	1,46	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Divers		1		1		0		0		0		0	
3-méthylfurane	580	441295	2,81	109769	2,58	-	-	-	-	-	-	-	-
Composés non identifiés		2		1		6		1		2		3	
	553	-	-	-	-	-	-	-	-	717768	13,01	-	-
	564	-	-	-	-	-	-	-	-	1135530	20,59	-	-
	750	954959	6,09	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	998	24550	0,16	529537	12,44	-	-	-	-	-	-	-	-
	1058	-	-	-	-	-	-	679224	44,29	-	-	-	-
	1100	-	-	-	-	173489	2,83	-	-	-	-	-	-
	1243	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	191263	1,11
	1262	-	-	-	-	408622	6,65	-	-	-	-	2103149	12,16
	1281	-	-	-	-	417798	6,80	-	-	-	-	-	-
	1497	-	-	-	-	470026	7,65	-	-	-	-	-	-
	1511	-	-	-	-	147719	2,41	-	-	-	-	-	-
	1598	-	-	-	-	173766	2,83	-	-	-	-	-	-
	1683	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	224896	1,30
Total identifiés		93,8		87,6		70,8		55,7		66,4		85,4	
Total non-identifiés		6,2		12,4		29,2		44,3		33,6		14,6	
Total		15692981	100	4257576	100	6140530	100	1533536	100	5516203	100	17302096	100

IRR SPB-5: indice de rétention relatif calculé sur une colonne non polaire de type SPB-5

Composition : aire sous les pics de l'analyse CG –SM

Abondance : pourcentage relatif basé sur les aires des pics de l'analyse CG –SM

tr : trace, - : absent.

* Tentative d'identification

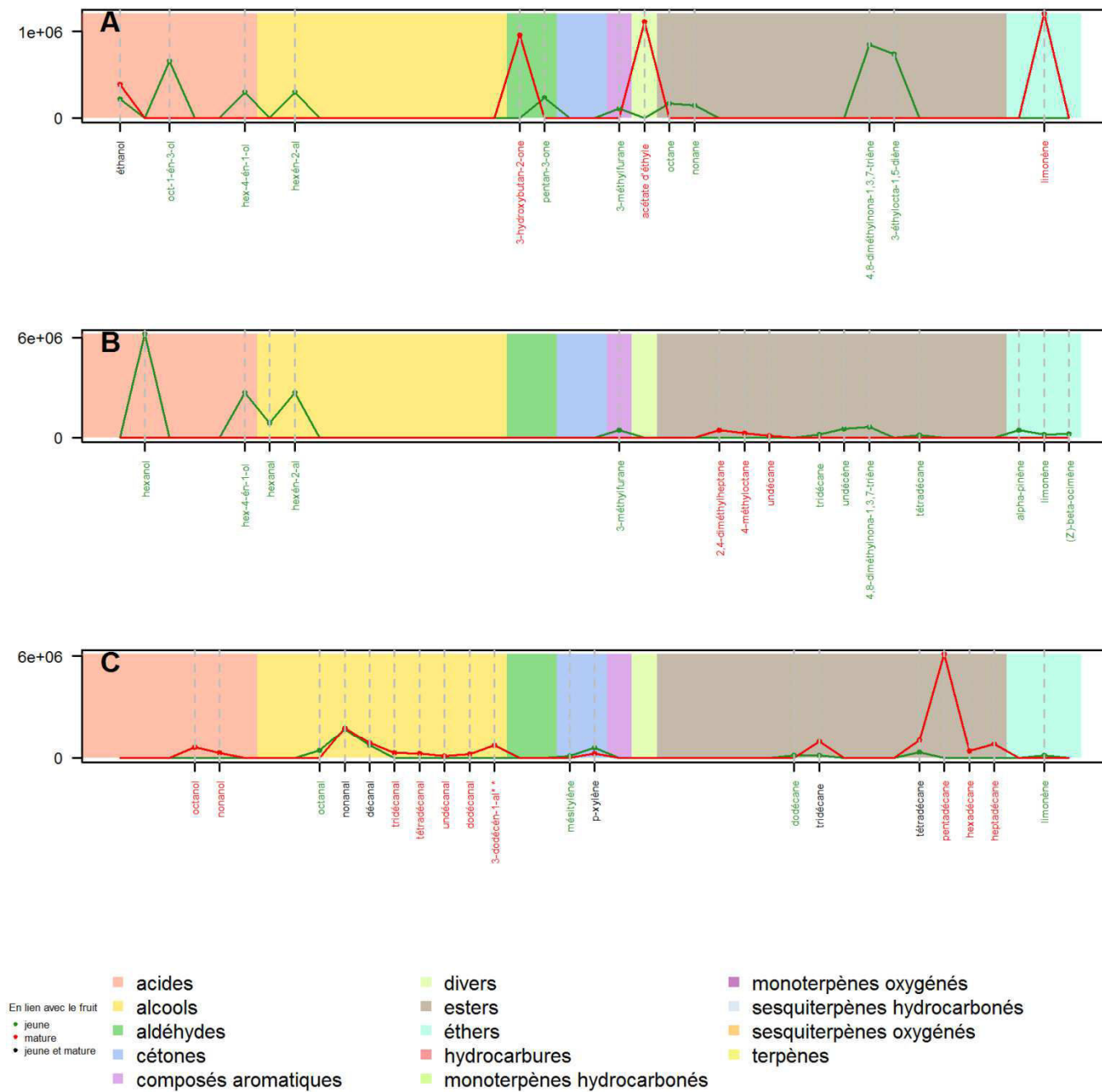


Figure 3.18. Profil d'émission des fruits de *Momordica charantia* (margose sauvage) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Valeurs exprimées en aire sous les pics ; les composés annotés en vert sont présents uniquement chez le fruit au stade jeune, ceux en rouge chez le fruit mature, ceux en noir sont présents chez les 2 stades.

Tableau 3.19. Composition chimique de l'espace de tête de *Cucumis melo* (melon variété « Anasta »)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5 ^a	DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25±1°C		37°C		In situ		25±1°C		37°C		In situ	
		Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition
Hydrocarbures		2		6		7		2		5		3	
2-méthylpentane	573	17,9	232080	6,3	229844	-	-	-	-	-	-	-	-
hexane	601	2,3	29405	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
octane	803	-	-	3,1	111636	-	-	-	-	-	-	-	-
2,4 diméthylheptane	823	-	-	-	-	0,2	26557	-	-	-	-	-	-
4-méthyloctane	862	-	-	-	-	1,8	224485	-	-	-	-	-	-
décane	999	-	-	-	-	1,4	169270	-	-	-	-	-	-
2-méthylbutylidène cyclopentane	1010	-	-	-	-	5,8	719671	-	-	-	-	-	-
undécane	1106	-	-	-	-	3,3	408174	-	-	-	-	-	-
undéca-1,3,5,8-tétraène	1175	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	1334966	-	-
dodécane	1196	-	-	-	-	3,6	450692	-	-	-	-	-	-
tétradéc-1-ène	1387	-	-	4,6	169160	-	-	-	-	-	-	-	-
cyclopentadécane*	1476	-	-	-	-	-	-	0,1	945648	0,4	2007666	0,1	127345
pentadécane	1493	-	-	-	-	-	-	0,2	1245376	2,8	10240700	1,8	1692190
hexadécane	1593	-	-	-	-	-	-	-	-	1,3	4550168	-	-
heptadécane	1692	-	-	2,6	92485	-	-	-	-	0,8	2986435	0,2	186831
octadécane	1791	-	-	1,6	58634	-	-	-	-	-	-	-	-
nonadécane	1891	-	-	3,6	133370	-	-	-	-	-	-	-	-
Alcools		1		1		0		4		3		1	
éthanol	484	63,1	818359	34,2	1260312	-	-	0,2	854842	0,3	1038195	-	-
2-méthylbutanol	734	-	-	-	-	-	-	0,1	484283	-	-	-	-
hex-3-én-1-ol	854	-	-	-	-	-	-	0,2	988676	-	-	-	-
hexan-1-ol	865	-	-	-	-	-	-	0,2	1243029	-	-	-	-
octanol	1066	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	837024	-	-
alcool phényléthylique	1144	-	-	-	-	-	-	0,1	536524	-	-	-	-
non-1-én-1-ol*	1301	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	1905541	-	-
tétradécanol	1672	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	56000	0,3	242364
Aldéhydes		0		0		1		1		0		0	
2-méthylbut-2-énal	740	-	-	-	-	-	-	0,1	511404	-	-	-	-
décanal	1202	-	-	-	-	1,1	129875	-	-	-	-	-	-

Tableau 3.19. (suite)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5 ^a	DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25±1°C		37°C		In situ		25±1°C		37°C		In situ	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Monoterpènes hydrocarbonés		0		0		3		0		1		0	
α-pinène	939	-	-	-	-	10,6	1307841	-	-	-	-	-	-
β-pinène	984	-	-	-	-	14,8	1830064	-	-	-	-	-	-
limonène	1032	-	-	-	-	3,0	375739	-	-	-	-	-	-
caryophyllène	1430	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	680862	-	-
Monoterpènes oxygénés		0		0		0		1		2		0	
eucalyptol	1036	-	-	-	-	-	-	0,2	1105171	0,1	572199	-	-
α-acétate de terpényle	1350	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	1217531	-	-
Esters		1		2				43		42		32	
acétate de méthyle	533	-	-	-	-	-	-	0,4	1890717	0,3	994005	1,2	1114820
acétate d'éthyle	613	16,7	217022	11,7	432977	-	-	7,8	40355661	6,0	23210433	9,9	9170719
propanoate de méthyle	630	-	-	-	-	-	-	0,1	494385	-	-	-	-
thioacétate de méthyle	704	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,8	739285
propanoate d'éthyle	710	-	-	-	-	-	-	2,9	15145980	1,1	4057117	1,9	1778278
butanoate de méthyle	720	-	-	-	-	-	-	0,3	1492744	0,2	744148	0,3	305494
2-méthylpropanoate d'éthyle	755	-	-	-	-	-	-	0,6	3106590	0,4	1361366	0,5	433898
acétate d'isobutyle	770	-	-	-	-	-	-	5,2	27028786	2,1	8247171	5,2	4841304
2-méthylbutanoate de méthyle	777	-	-	2,3	205692	-	-	0,9	977604	0,4	1418326	0,9	828114
butanoate d'éthyle	802	-	-	-	-	-	-	5,6	28975554	3,4	13311684	3,2	2916714
acétate de butyle	813	-	-	-	-	-	-	4,3	22718924	2,3	8863678	3,0	2747461
2-méthylbutanoate d'éthyle	847	-	-	-	-	-	-	5,4	28716265	3,0	11696231	6,4	5875454
propanoate de 2-méthylpropyle	863	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	460665
acétate de 2-méthylbutyle	877	-	-	-	-	-	-	12,4	64483365	8,3	32190796	21,5	19827621
butanethioate de S-méthyle	890	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	122874
butanoate de propyle	897	-	-	-	-	-	-	0,2	952249	-	-	-	-
pentanoate d'éthyle	900	-	-	-	-	-	-	0,2	1956310	0,1	491206	-	-
propanoate de butyle	906	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	100344
acétate d'amyle	911	-	-	-	-	-	-	0,5	2623222	0,4	1475316	-	-
2-méthylpropanoate de 3-méthylbutyle*	912	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6	530724
acétate de 3-méthylbut-2-ényle	919	-	-	-	-	-	-	0,4	1956310	0,2	620815	0,1	107619
hexanoate de méthyle	922	-	-	-	-	-	-	0,1	622868	0,2	905658	0,1	119925
3-méthylbutaneméthioate de S-méthyle	941	-	-	-	-	-	-	0,2	1199817	-	-	4,1	3816777
2-méthylbutanoate de propyle	943	-	-	-	-	-	-	0,3	1396468	-	-	-	-
butanoate de 2-méthylpropyle	952	-	-	-	-	-	-	0,4	1954741	0,2	745495	0,8	758005
propanoate de 3-méthylbutyle	968	-	-	-	-	-	-	0,1	769148	-	-	1,6	147250
2-(méthylthio) acétate d'éthyle	983	-	-	-	-	-	-	0,2	983756	0,3	1242648	0,4	356079

Tableau 3.19. (suite)

Composés	IRR SPB-5 ^a	FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
		DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25±1°C		37°C		In situ		25±1°C		37°C		In situ	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
butanoate de butyle	993	-	-	-	-	-	-	0,2	1143888	0,2	719404	-	-
hexanoate d'éthyle	997	-	-	-	-	-	-	6,6	34567340	6,1	23455900	1,1	888449
2-méthylbutanoate de 2-méthylpropyle	1001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,7	1612640
acétate d'hex-(3E)-ényle	1005	-	-	-	-	-	-	14,2	73732238	9,2	35677139	5,4	5001098
acétate d'hexyle	1011	-	-	-	-	-	-	15,4	80315258	11,8	45690719	6,9	6382763
2-méthylpropanoate de 2-méthylbutyle	1015	-	-	-	-	-	-	0,2	837654	-	-	1,1	1021712
acétate d'hex-(3Z)-ényle	1019	-	-	-	-	-	-	0,1	576995	-	-	-	-
2-méthylbutanoate de butyle	1039	-	-	-	-	-	-	0,1	762035	-	-	0,3	258058
butanoate d'isopentyle	1055	-	-	-	-	-	-	0,8	4303286	0,7	2553360	4,5	4166728
hexanoate de propyle	1090	-	-	-	-	-	-	0,4	2053424	-	-	-	-
hept-4-énoate d'éthyle *	1090	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	1866319	-	-
heptanoate d'éthyle	1094	-	-	-	-	-	-	0,3	1372824	0,9	3421697	-	-
2-méthylbutanoate d'isopentyle	1102	-	-	-	-	-	-	1,0	5127432	0,6	2499175	5,6	5119453
acétate d'heptyle	1108	-	-	-	-	-	-	0,7	3552687	0,9	3491819	-	-
octanoate de méthyle	1121	-	-	-	-	-	-	0,1	611601	0,7	2626645	-	-
hexanoate de 2-méthylpropyle	1147	-	-	-	-	-	-	0,5	2603354	0,4	1381284	-	-
acétate de benzyle	1164	-	-	-	-	-	-	5,0	26135622	5,3	20014493	6,0	5521911
oct-4-énoate d'éthyle	1185	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	3840347	-	-
butanoate d'hexyle	1187	-	-	-	-	-	-	0,3	1673388	-	-	-	-
hexanoate de butyle	1187	-	-	-	-	-	-	0,3	1673388	-	-	-	-
octanoate d'éthyle	1193	-	-	-	-	-	-	-	-	4,8	18576546	-	-
acétate d'octyle	1207	-	-	-	-	-	-	1,0	5437790	4,5	17411831	-	-
hexanoate d'isopentyle	1248	-	-	-	-	-	-	0,3	1567528	0,6	2319960	0,9	830203
acétate de 2-phényléthyle	1256	-	-	-	-	-	-	0,3	1381869	0,9	3450354	-	-
acétate de nonanyle	1304	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	11209613	-	-
décadiénoate de méthyle *	1306	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	1740029	-	-
octanoate de 2-méthylpropyle	1342	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	577752	-	-
acétate d'hydrocinnamyle	1369	-	-	-	-	-	-	0,2	945648	1,5	6048051	-	-
hexanoate d'hexyle	1380	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	1794750	-	-
décanoate d'éthyle	1389	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	4255766	-	-
3-méthylbutyle octanoate	1444	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	1037559	-	-
dodécanoate d'isopropyle	1619	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	1717836	-	-
Aromatiques		0		0		0		2		2		1	
benzaldéhyde	963	-	-	-	-	-	-	0,3	1412338	0,1	569496	0,7	603001
alcool benzylique	1033	-	-	-	-	-	-	0,4	2092446	0,1	491711	-	-

Tableau 3.19. (suite)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5 ^a	DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25±1°C		37°C		In situ		25±1°C		37°C		In situ	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Composés non identifiés		0		0		6		3		17		1	
	783	-	-	-	-	-	-	0,2	977604	-	-	-	-
	1001	-	-	-	-	2,8	353765	-	-	-	-	-	-
	1056	-	-	-	-	20,0	2474393	-	-	-	-	-	-
	1062	-	-	-	-	7,5	927073	-	-	-	-	-	-
	1100	-	-	-	-	15,2	1877896	-	-	-	-	-	-
	1193	-	-	-	-	-	-	1,0	5358299	-	-	-	-
	1204	-	-	-	-	-	-	0,2	1250833	-	-	-	-
	1277	-	-	-	-	6,7	827544	-	-	-	-	0,2	168337
	1291	-	-	-	-	-	-	-	-	2,7	10369959	-	-
	1322	-	-	-	-	2,2	271089	-	-	-	-	-	-
	1377	-	-	-	-	-	-	-	-	2,2	8481253	-	-
	1457	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	841953	-	-
	1465	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	673715	-	-
	1502	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	1035904	-	-
	1540	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6	2154717	-	-
	1546	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	985333	-	-
	1551	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	1931373	-	-
	1557	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	1419622	-	-
	1565	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	1294562	-	-
	1587	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	761994	-	-
	1638	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	1121731	-	-
	1642	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6	2150352	-	-
	1652	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	905813	-	-
	1656	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	589843	-	-
	1672	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	1955271	-	-
	1699	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	1242677	-	-
Total identifiés		100		100		45,6		98,6		89,9		99,8	
Total non-identifiés		0		0		54,4		1,4		10,1		0,2	
Total		100	60000	100	137800	100	361000	100	55779605	100	9437000	100	2811900

^a IRR SPB-5: Indice de rétention relatif calculé sur une colonne non polaire de type SPB-5

^b Composition : Pourcentage relatif basé sur les aires des pics de l’analyse CG –SM

tr : trace, - : absent.

Abondance : aire sous les pics de l’analyse CG –SM

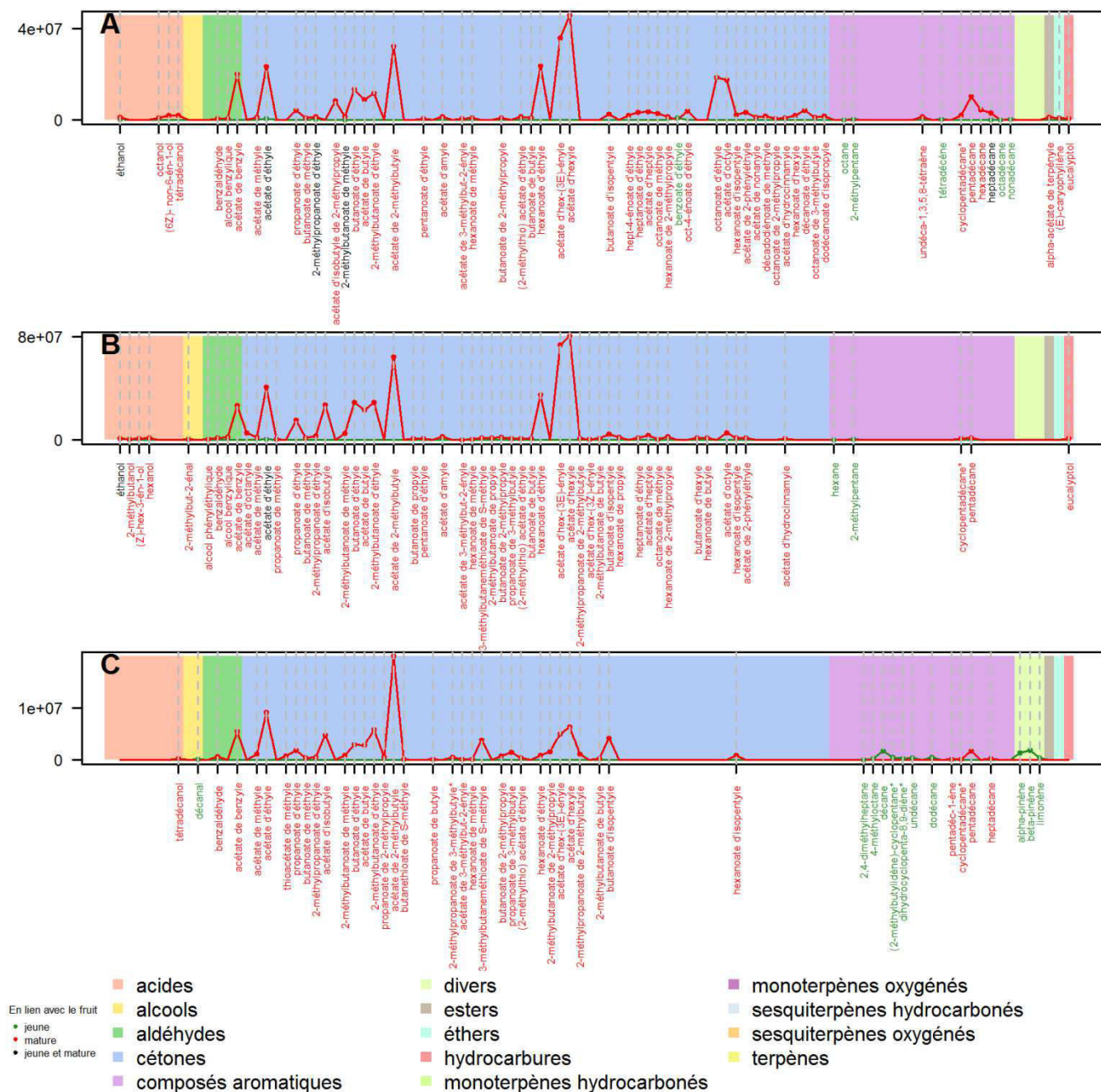


Figure 3.19. Profil d'émission des fruits de *Cucumis melo* (melon) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Valeurs exprimées en aire sous les pics ; les composés annotés en vert sont présents uniquement chez le fruit au stade jeune, ceux en rouge chez le fruit mature, ceux en noir sont présents chez les 2 stades.

Tableau 3.20. Composition chimique de l’espace de tête du *Citrullus lanatus* (pastèque baby doll)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		In situ		25 ± 1°C		37°C		In situ	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Hydrocarbures		3		1		8		1		0		7	
2,4-diméthylheptane	823	1159576	13,39	-	-	678950	3,75	2409549	1,92	-	-	678950	2,95
4-méthyloctane	864	1303145	15,05	700078	12,31	605216	3,34	-	-	-	-	605216	2,63
nonane	900	-	-	-	-	225902	1,25	-	-	-	-	225902	0,98
undécane	1106	-	-	-	-	284844	1,57	-	-	-	-	-	-
2,2,4,6,6-pentaméthylheptane	1165	169380	1,96	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
dodécane	1196	-	-	-	-	677414	3,74	-	-	-	-	674368	2,93
tridécane	1295	-	-	-	-	231890	1,28	-	-	-	-	233871	1,02
tétradécane	1394	-	-	-	-	470692	2,60	-	-	-	-	457229	1,99
pentadécane	1493	-	-	-	-	780738	4,31	-	-	-	-	776628	3,38
Alcools		1		3		2		6		6		1	
éthanol	483	-	-	308581	5,42	-	-	1363292	1,09	249393	0,39	-	-
(Z)-hex-3-én-1-ol	854	3102654	35,83	1987087	34,93	-	-	2753355	2,20	-	-	-	-
hexanol	868	-	-	858644	15,09	-	-	3954841	3,15	686960	1,09	-	-
2,2-diméthyloctan-1-ol	1051	-	-	-	-	75282	0,42	-	-	-	-	-	-
octanol	1066	-	-	-	-	340917	1,88	-	-	-	-	1026963	4,46
(3E),(6Z)-nona-3,6-dién-1-ol	1149	-	-	-	-	-	-	3037979	2,42	2798070	4,42	-	-
(3Z)- non-3-én-1-ol	1157	-	-	-	-	-	-	47748430	38,09	25333963	40,01	-	-
nonanol	1166	-	-	-	-	-	-	4795995	3,83	3121053	4,93	-	-
undécanol	1370	-	-	-	-	-	-	-	-	151683	0,24	-	-
Aldéhydes		1		0		6		4		5		5	
hexanal	804	756381	8,73	-	-	312975	1,73	2887954	2,30	582135	0,92	312975	1,36
(2E) octen-1-al*	1054	-	-	-	-	-	-	-	-	107460	0,17	-	-
nonanal	1102	-	-	-	-	2903346	16,02	13520980	10,79	2231513	3,52	8271939	35,96
(2E)-non-2-énal	1157	-	-	-	-	-	-	1680645	1,34	905072	1,43	-	-
décanal	1202	-	-	-	-	1960093	10,82	-	-	-	-	1972057	8,57
(2E)-déc-2-énal	1266	-	-	-	-	1085260	5,99	-	-	-	-	1083519	4,71
dodécanal	1409	-	-	-	-	134313	0,74	-	-	-	-	-	-
Cétones		0				1 0		1		1		1	
6-méthylhept-5-én-2-one	985	-	-	-	-	96102	0,53	1639234	1,31	2201641	3,48	146917	0,64
Acides		2		2		1		1		2		0	
acide acétique	565	-	-	-	-	745597	4,12	-	-	-	-	-	-
acétate d'éthyle	613	145174	1,68	-	-	-	-	-	-	1974538	3,12	-	-
acétate d'hex-(3E)-ényle	1001	543769	6,28	1349134	23,71	-	-	-	-	-	-	-	-
acétate d'hex-(3Z)-ényle	1004	-	-	-	-	-	-	2054853	1,64	-	-	-	-
acétate d'hexyle	1007	-	-	167721	2,95	-	-	-	-	356527	0,56	-	-

Tableau 3.20. (suite)

		FRUIT JEUNE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		In situ	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Monoterpènes hydrocarbonés		1		1		0	
limonène	1032	182303	2,11	131233	2,31	473334	2,61
Sesquiterpènes hydrocarbonés		0		0		0	
β-élémane	1389	-	-	-	-	-	-
α-gurjunène	1409	-	-	-	-	-	-
(E)-caryophyllène	1430	-	-	-	-	-	-
α-humulène	1455	-	-	-	-	-	-
germacrène-D	1484	-	-	-	-	-	-
β-sélinène	1489	-	-	-	-	-	-
bicyclogermacrène	1500	-	-	-	-	-	-
δ-cadinène	1523	-	-	-	-	-	-
γ-cadinène	1543	-	-	-	-	-	-
Terpènes		0		0		0	
geranyl acétone	1457	-	-	-	-	-	-
Divers		0		1		0	
3-méthylfurane	580	-	-	186705	3,28	-	-
2-méthylfurane	613	-	-	-	-	-	-
Composés non identifiés		3		0		4	
	994	-	-	-	-	360900	1,99
	1003	-	-	-	-	952451	5,26
	1027	15658	0,18	-	-	-	-
	1034	-	-	-	-	-	-
	1051	-	-	-	-	-	-
	1058	945705	10,92	-	-	3300088	18,21
	1092	-	-	-	-	-	-
	1100	-	-	-	-	-	-
	1103	336187	3,88	-	-	-	-
	1108	-	-	-	-	-	-
	1148	-	-	-	-	-	-
	1243	-	-	-	-	-	-
	1281	-	-	-	-	1422051	7,85
	1349	-	-	-	-	-	-

FRUIT MATURE					
DUREE = 3h				DUREE = 4h	
25 ± 1°C		37°C		In situ	
Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
0		1		1	
-	-	157604	0,25	473334	2,06
4		8		0	
4062041	3,24	2034838	3,21	-	-
2793089	2,23	2212343	3,49	-	-
9723978	7,76	6553627	10,35	-	-
-	-	262426	0,41	-	-
-	-	541112	0,85	-	-
-	-	2268693	3,58	-	-
1692487	1,35	-	-	-	-
-	-	432779	0,68	-	-
-	-	229474	0,36	-	-
0		0		1	
-	-	-	-	126340	0,55
1		0		1	
-	-	-	-	-	-
2199290	1,75	-	-	-	-
3		8		6	
-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-
-	-	522934	0,83	-	-
-	-	-	-	140730	0,61
3007379	2,40	290002	0,46	3570018	15,52
12481919	9,96	265688	0,42	134014	0,58
-	-	-	-	116557	0,51
-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	570522	2,48
-	-	8233	0,01	-	-
1555118	1,24	-	-	-	-
-	-	-	-	1404576	6,11
-	-	478339	0,76	-	-

Tableau 3.20. (suite)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		In situ		25 ± 1°C		37°C		In situ	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
1457		-	-	-	-	-	-	-	-	2361238	3,73	-	-
1465		-	-	-	-	-	-	-	-	336116	0,53	-	-
1511		-	-	-	-	-	-	-	-	3656366	5,78	-	-
Total identifiés		85,0		100,0		66,7		86,4		87,5		74,2	
Total non-identifiés		15,0		0,0		33,3		13,6		12,5		25,8	
Total		8659940	100	5689190	100	18118369	100	125362428	100	63311851	100	23002641	100

IRR SPB-5: indice de rétention relatif calculé sur une colonne non polaire de type SPB-5

Composition : aire des pics de l'analyse CG-SM

Abondance : pourcentage relatif basé sur les aires des pics de l'analyse CG-SM

tr : trace, - : absent.

* Tentative d'identification

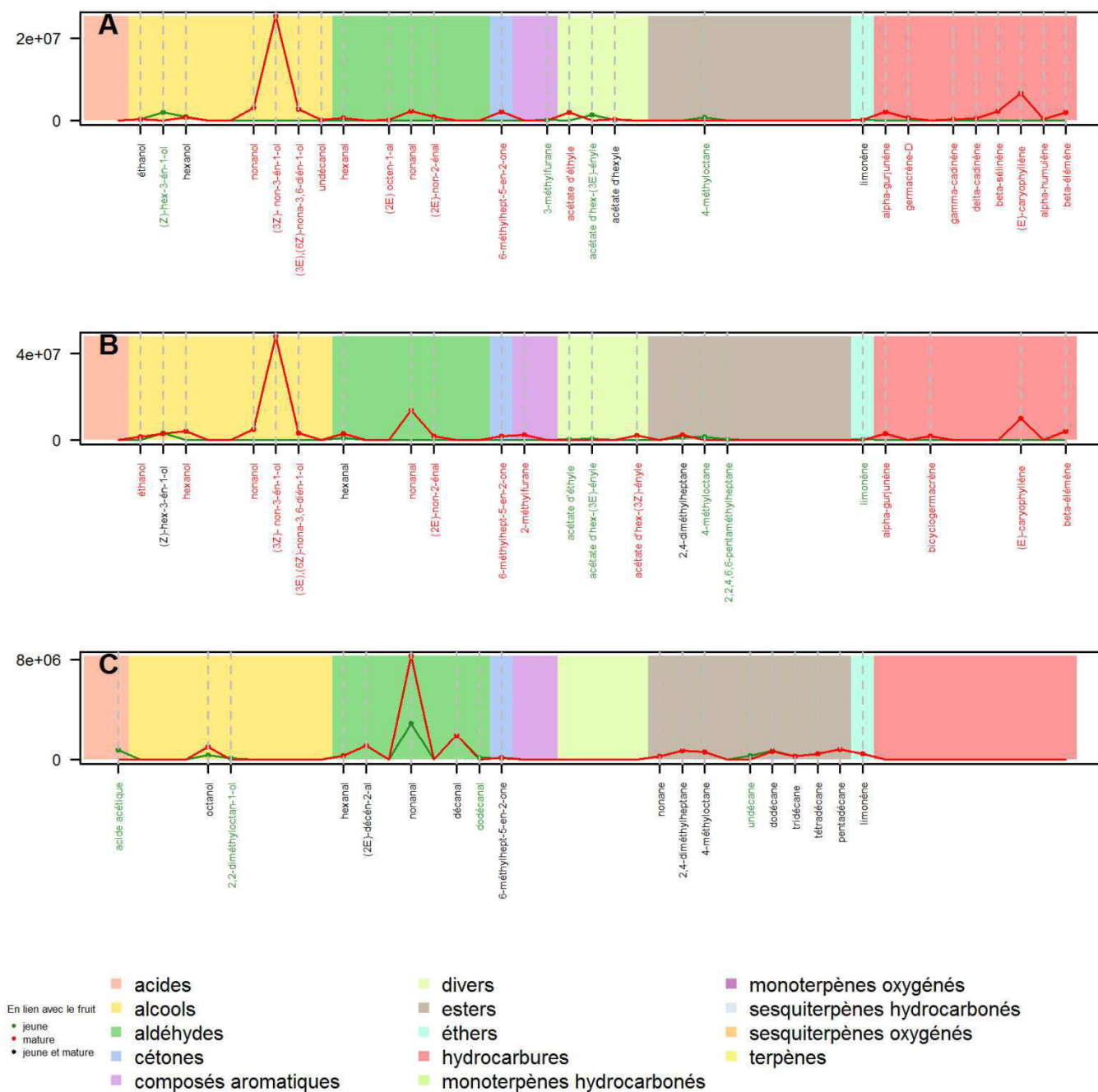


Figure 3.20. Profil d'émission des fruits de *Citrullus lanatus* (pastèque baby doll) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Valeurs exprimées en aire sous les pics ; les composés annotés en vert sont présents uniquement chez le fruit au stade jeune, ceux en rouge chez le fruit mature, ceux en noir sont présents chez les 2 stades.

Tableau 3.21. (suite)

		FRUIT JEUNE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Sesquiterpènes hydrocarbonés		0		1		0	
α-copaène	1374	-	-	-	-	-	-
α-gurjunène	1409	-	-	-	-	-	-
aromadendrène	1439	-	-	-	-	-	-
germacrène-D	1484	-	-	-	-	-	-
α-cubebène	1345	-	-	-	-	-	-
β-élémente	1389	-	-	-	-	-	-
(E)-caryophyllène	1430	-	-	173226	9,92	-	-
α-humulène	1455	-	-	-	-	-	-
9-épi-(E)-caryophyllène	1464	-	-	-	-	-	-
γ-murolène	1478	-	-	-	-	-	-
β-sélinène	1489	-	-	-	-	-	-
δ-cadinène	1523	-	-	-	-	-	-
γ-cadinène	1543	-	-	-	-	-	-
Terpènes		0		0		0	
geranyl acétone	1457	-	-	-	-	-	-
Divers		0		0		0	
3-méthylfurane	580	-	-	-	-	-	-
2-méthylfurane	613	-	-	-	-	-	-
Composés non identifiés		3		3		1	
	770	124317	6,16	-	-	-	-
	902	-	-	-	-	-	-
	1058	154177	7,64	-	-	95653	13,30
	1092	-	-	170582	9,77	-	-
	1094	-	-	-	-	-	-
	1096	-	-	-	-	-	-
	1100	-	-	114543	6,56	-	-
	1157	350199	17,34	188773	10,81	-	-
	1243	-	-	-	-	-	-
	1293	-	-	-	-	-	-
	1391	-	-	-	-	-	-
	1426	-	-	-	-	-	-
	1468	-	-	-	-	-	-

FRUIT MATURE					
DUREE = 3h				DUREE = 4h	
25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
6		12		3	
835692	0,47	2241412	0,57	239699	1,68
2911154	1,65	9658869	2,44	-	-
-	-	-	-	489725	3,43
-	-	11343118	2,86	-	-
-	-	1551594	0,39	-	-
3500323	1,98	22092990	5,57	-	-
10544642	5,98	29838613	7,52	215229	1,51
-	-	2285225	0,58	-	-
1055632	0,60	5858231	1,48	-	-
-	-	4189885	1,06	-	-
-	-	2258235	0,57	-	-
2069130	1,17	11202287	2,82	-	-
-	-	1628316	0,41	-	-
0		1		0	
-	-	12274502	3,09	-	-
1		1		0	
-	-	2377858	0,60	-	-
3318302	1,88	-	-	-	-
5		9		4	
-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	3355880	23,52
5781851	3,28	1234651	0,31	615674	4,32
-	-	-	-	-	-
5015559	2,84	10548388	2,66	-	-
1331377	0,75	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-
1821838	1,03	761718	0,19	-	-
-	-	1615257	0,41	-	-
-	-	1349716	0,34	120009	0,84
-	-	3361116	0,85	-	-
-	-	1444482	0,36	-	-

Tableau 3.21. (suite)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
		1511	-	-	-	-	-	-	1996460	1,13	12805173	3,23	163650
	1663	-	-	-	-	-	-	-	-	10815208	2,73	-	-
Total identifiés		68,9		72,9		86,7		91,0		88,9		70,2	
Total non-identifiés		31,1		27,1		13,3		9,0		11,1		29,8	
Total		2019272	100	1746459	100	719395	100	176465622	100	396610301	100	14267392	100

IRR SPB-5: indice de rétention relatif calculé sur une colonne non polaire de type SPB-5

Composition : aire des pics de l’analyse CG –SM

Abondance : pourcentage relatif basé sur les aires des pics de l’analyse CG –SM

tr : trace, - : absent.

* Tentative d'identification

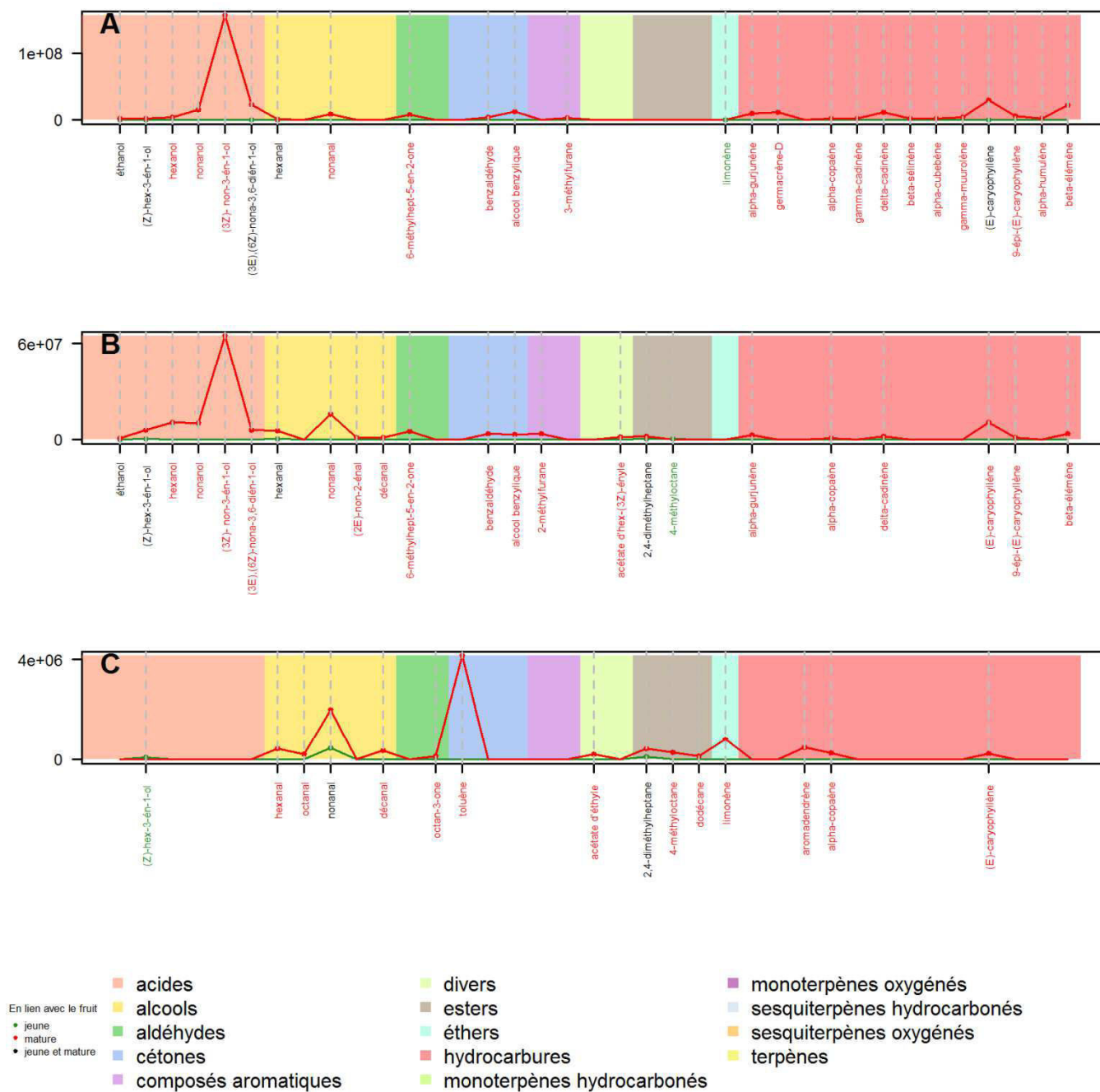


Figure 3.21. Profil d'émission des fruits de *Citrullus lanatus* (pastèque flower mountain) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Valeurs exprimées en aire sous les pics ; les composés annotés en vert sont présents uniquement chez le fruit au stade jeune, ceux en rouge chez le fruit mature, ceux en noir sont présents chez les 2 stades.

Tableau 3.22. Composition chimique de l’espace de tête du *Citrullus lanatus* (pastèque longone)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		In situ		25 ± 1°C		37°C		In situ	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Hydrocarbures		1		2		0		0		0		2	
heptane	700	-	-	361364	3,47	-	-	-	-	-	-	-	-
octane	800	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2812493	1,43
octène	801	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	771279	0,39
4-méthyloctane	864	357899	14,20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
nonane	900	-	-	170879	1,64	-	-	-	-	-	-	-	-
Alcools		2		3		0		2		3		0	
éthanol	483	92391	3,67	488030	4,68	-	-	-	-	-	-	-	-
(Z)-hex-3-én-1-ol	854	539965	21,42	2176062	20,88	-	-	1909424	0,09	2642656	0,10	-	-
hexanol	865	-	-	-	-	-	-	1699793	0,08	2329124	0,09	-	-
(3Z)- non-3-én-1-ol	1152	-	-	451220	4,33	-	-	-	-	-	-	-	-
nonanol	1166	-	-	-	-	-	-	-	-	1228877	0,05	-	-
Aldéhydes		2		2		2		2		2		1	
hexanal	804	564171	22,38	1883311	18,07	-	-	2746717	0,13	2017565	0,08	-	-
nonanal	1102	105981	4,20	-	-	616914	78,51	1583014	0,08	1538122	0,06	1492561	0,76
(2E)-non-2-énal	1161	-	-	103865	1,00	-	-	-	-	-	-	-	-
décanal	1202	-	-	-	-	168860	21,49	-	-	-	-	-	-
Cétones		0		1		0		0		1		0	
6-méthylhept-5-én-2-one	985	-	-	298541	2,87	-	-	-	-	1032219	0,04	-	-
Esters		2		3		0		2		2		0	
acétate d'éthyle	613	557399	22,12	1042133	10,00	-	-	-	-	-	-	-	-
acétate d'hex-(3E)-ényle	1001	114216	4,53	1520944	14,60	-	-	9579628	0,46	-	-	-	-
acétate d'hex-(3Z)-ényle	1004	-	-	-	-	-	-	-	-	13243045	0,52	-	-
acétate d'hexyle	1007	-	-	667797	6,41	-	-	4631695	0,22	5535010	0,22	-	-
Monoterpènes hydrocarbonés		1		1		0		1		1		0	
limonène	1031	188353	7,47	844963	8,11	-	-	3210950	0,16	2482247	0,10	-	-
Monoterpènes oxygénés		1		0		0		0		0		0	
α-acétate de terpényle	1349	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sesquiterpènes hydrocarbonés		0		1		0		12		13		10	
α-cubebène	1345	-	-	-	-	-	-	7703128	0,37	5606661	0,22	-	-
α-copaène	1374	-	-	-	-	-	-	11392097	0,55	8476961	0,33	-	-
β-bourbonène	1387	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9518498	4,83
β-élémente	1389	-	-	-	-	-	-	100042350	4,84	825439757	32,35	61448002	31,16
α-gurjunène	1409	-	-	-	-	-	-	395670805	19,14	315155992	12,35	24090655	12,22
(E)-caryophyllène	1430	-	-	113595	1,09	-	-	48345508	2,34	-	-	4034902	2,05
β-gurjunène	1431	-	-	-	-	-	-	22760096	1,10	45160415	1,77	-	-
aromadendrone	1439	-	-	-	-	-	-	87763727	4,25	80014912	3,14	-	-

Tableau 3.22. (suite)

		FRUIT JEUNE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		In situ	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
germacrène-D	1484	-	-	-	-	-	-
β-calacorène	1484	-	-	-	-	-	-
β-sélinène	1489	-	-	-	-	-	-
bicyclogermacrène	1500	-	-	-	-	-	-
δ-amorphène	1511	-	-	-	-	-	-
δ-cadinène	1523	-	-	-	-	-	-
γ-cadinène	1543	-	-	-	-	-	-
8,9-dihydro-néoisolongifolène	1544	-	-	-	-	-	-
Sesquiterpènes oxygénés		0		0		0	
spathulénol	1577	-	-	-	-	-	-
α-cadinol	1638	-	-	-	-	-	-
épi-α-murolol	1640	-	-	-	-	-	-
sélin-11-én-4-α-ol	1658	-	-	-	-	-	-
eusdema-4(15),7-dién-1-β-ol	1687	-	-	-	-	-	-
Divers		0		0		0	
2-méthylfurane	613	-	-	-	-	-	-
acétoïne*	709	-	-	-	-	-	-
Composés non identifiés		0		1		1	
	786	-	-	-	-	-	-
	1092	-	-	-	-	-	-
	1157	-	-	296813	2,85	-	-
	1353	-	-	-	-	-	-
	1395	-	-	-	-	-	-
	1426	-	-	-	-	-	-
	1429	-	-	-	-	-	-
	1445	-	-	-	-	-	-
	1447	-	-	-	-	-	-
	1468	-	-	-	-	-	-
	1475	-	-	-	-	-	-
	1478	-	-	-	-	-	-
	1485	-	-	-	-	-	-
	1578	-	-	-	-	-	-
	1598	-	-	-	-	-	-
	1602	-	-	-	-	-	-
	1630	-	-	-	-	-	-
	1663	-	-	-	-	-	-

FRUIT MATURE					
DUREE = 3h				DUREE = 4h	
25 ± 1°C		37°C		In situ	
Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
242928496	11,75	218120154	8,55	7149023	3,63
-	-	1564252	0,06	-	-
157402740	7,62	141099288	5,53	3171549	1,61
489727938	23,69	404522790	15,85	13605414	6,90
-	-	11646030	0,46	-	-
123787195	5,99	109517219	4,29	3990254	2,02
48412874	2,34	42012233	1,65	2733206	1,39
-	-	-	-	1919351	0,97
4		2		4	
5123177	0,25	5861663	0,23	3555570	1,80
4328522	0,21	-	-	5153705	2,61
9379211	0,45	8196580	0,32	3571493	1,81
7171058	0,35	-	-	-	-
-	-	-	-	4124744	2,09
1		1		1	
5145991	0,25	2384210	0,09	-	-
-	-	-	-	7754334	3,93
13		11		9	
-	-	-	-	1050520	0,53
2992067	0,14	2642582	0,10	-	-
-	-	-	-	-	-
5133127	0,25	3049135	0,12	-	-
-	-	-	-	4099389	2,08
-	-	-	-	3491675	1,77
93020857	4,50	77904928	3,05	-	-
-	-	51740693	2,03	1842727	0,93
-	-	-	-	4910400	2,49
108284328	5,24	97473168	3,82	5242474	2,66
12498754	0,60	13648999	0,53	-	-
19796266	0,96	18196355	0,71	-	-
18453412	0,89	20012723	0,78	-	-
2194391	0,11	-	-	-	-
2281868	0,11	4108496	0,16	-	-
2029916	0,10	-	-	-	-
1471890	0,07	-	-	-	-
2860005	0,14	2499927	0,10	3685183	1,87

Tableau 3.22. (suite)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
	1672	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6697218	3,40
	1687	-	-	-	-	-	-	3400855	0,16	3636979	0,14	5291369	2,68
Total identifiés		100,0		97,2		100,0		86,7		88,4		81,6	
Total non-identifiés		0,0		2,8		0,0		13,3		11,6		18,4	
Total		2520383	100	10419529	100	785777	100	2066863907	100	2551742003	100	197208013	100

IRR SPB-5: indice de rétention relatif calculé sur une colonne non polaire de type SPB-5

Composition : aire des pics de l’analyse CG –SM

Abondance : pourcentage relatif basé sur les aires des pics de l’analyse CG –SM

tr : trace, - : absent.

* Tentative d'identification

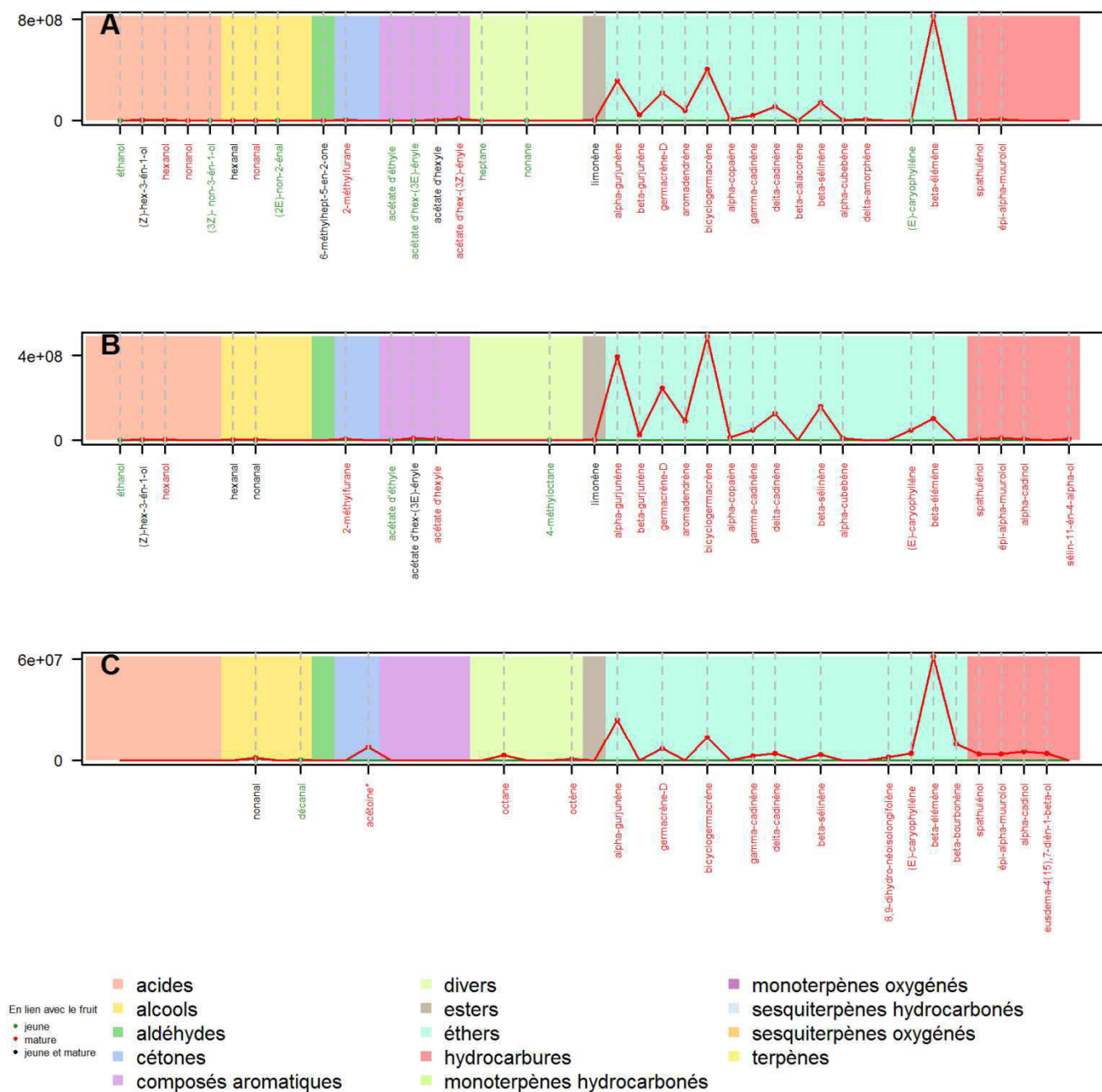


Figure 3.22. Profil d'émission des fruits de *Citrullus lanatus* (pastèque longone) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Valeurs exprimées en aire sous les pics ; les composés annotés en vert sont présents uniquement chez le fruit au stade jeune, ceux en rouge chez le fruit mature, ceux en noir sont présents chez les 2 stades.

Tableau 3.23. Composition chimique de l’espace de tête du *Cucurbita pepo* (patisson)

Composés		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
		DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Hydrocarbures		1		4		7		0		2		1	
octane	800	-	-	2381754	6,32	-	-	-	-	279520	4,40	-	-
2,4-diméthylheptane	820	-	-	-	-	2046364	3,20	-	-	-	-	86875	9,64
4-méthyl-octane	864	-	-	-	-	1507126	2,36	-	-	-	-	-	-
nonane	900	532863	1,08	944070	2,50	417669	0,65	-	-	122597	1,93	-	-
décane	999	-	-	-	-	208802	0,33	-	-	-	-	-	-
(E)-7-méthyl-1,6-dioxaspiro[4.5]décane*	1059	-	-	281065	0,75	-	-	-	-	-	-	-	-
undécane	1106	-	-	-	-	563197	0,88	-	-	-	-	-	-
dodécane	1196	-	-	-	-	4032825	6,31	-	-	-	-	-	-
tridécane	1295	-	-	-	-	1189083	1,86	-	-	-	-	-	-
tétradécène	1387	-	-	249370	0,66	-	-	-	-	-	-	-	-
Alcools		6		5		0		1		2		0	
éthanol	483	5979603	12,08	9901120	26,27	-	-	660753	82,60	2684421	42,25	-	-
pent-1-én-3-ol	684	26910	0,05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3-méthylbutanol	734	-	-	1725991	4,58	-	-	-	-	-	-	-	-
pentanol	762	2269243	4,59	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4-méthylpentanol*	830	-	-	-	-	-	-	-	-	125504	1,98	-	-
hexanol	865	9067638	18,32	2489621	6,61	-	-	-	-	-	-	-	-
(Z)-hex-3-én-1-ol	854	9245869	18,68	3687805	9,78	-	-	-	-	-	-	-	-
oct-1-én-3-ol	976	2016523	4,07	3437160	9,12	-	-	-	-	-	-	-	-
Aldéhydes		1		0		4		0		0		2	
hexanal	804	4156227	8,40	-	-	551165	0,86	-	-	-	-	-	-
octanal	998	-	-	-	-	877061	1,37	-	-	-	-	-	-
nonanal	1102	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	696456	77,30
décanal	1202	-	-	-	-	3743964	5,85	-	-	-	-	117634	13,06
(2E)-déc-2-énal	1260	-	-	-	-	349425	0,55	-	-	-	-	-	-
Aromatiques		3		0		2		0		0		0	
styrène	897	-	-	-	-	308017	0,48	-	-	-	-	-	-
phénol	977	4356304	8,80	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
mésitylène	994	-	-	-	-	208835	0,33	-	-	-	-	-	-
alcool benzylique	1033	656515	1,33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
p-crésol	1071	578829	1,17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cétones		5		2		1		0		0		0	
acétate d'éthyle	613	-	-	-	-	258664	0,40	-	-	-	-	-	-
pentan-3-one	697	1042335	2,11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3-hydroxybutan-2-one	709	4157720	8,40	585674	1,55	-	-	-	-	-	-	-	-

Tableau 3.23. (suite)

		FRUIT JEUNE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
6-méthylhept-5-én-2-one	985	954202	1,93	-	-	-	-
octan-3-one	986	-	-	505766	1,34	-	-
acétate d'hex-(3E)-ényle	1019	799111	1,61	-	-	-	-
Esters		2		3		0	
acétate d'hexyle	1007	267303	0,54	-	-	-	-
Ethers							
1-propényl-éthyl-éther*	706	-	-	-	-	-	-
Monoterpènes hydrocarbonés		0		0		1	
δ-2-carène	1001	-	-	-	-	-	-
limonène	1032	-	-	-	-	1364707	2,13
Monoterpènes oxygénés		1		2		1	
trans-oxyde de linalol	1072	-	-	865323	2,30	-	-
cis-oxyde de linalol	1075	-	-	-	-	638496	1,00
linalol	1095	1229304	2,48	619569	1,64	-	-
Sesquiterpènes hydrocarbonés		2		6		0	
α-copaène	1374	-	-	792992	2,10	-	-
β-copaène	1390	-	-	270962	0,72	-	-
α-gurjunène	1409	670945	1,36	4477036	11,88	-	-
germacrène-D	1484	448811	0,91	2884413	7,65	-	-
bicyclogermacrène	1500	-	-	465665	1,24	-	-
δ-cadinène	1536	-	-	787811	2,09	-	-
Divers		0		0		0	
acétoïne*	709	-	-	-	-	-	-
Composés non identifiés		3		3		16	
	651	-	-	-	-	-	-
	700	-	-	37653	0,10	-	-
	770	180337	0,36	-	-	-	-
	781	297509	0,60	-	-	-	-
	786	-	-	-	-	-	-
	994	-	-	-	-	-	-
	1034	-	-	-	-	521610	0,82
	1051	-	-	-	-	14028009	21,93
	1058	556955	1,13	12876	0,03	-	-
	1092	-	-	-	-	905874	1,42
	1100	-	-	-	-	19077092	29,83
	1103	-	-	-	-	2937619	4,59
	1108	-	-	-	-	1172497	1,83
	1115	-	-	-	-	532390	0,83

[illegible]

Tableau 3.23. (suite)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
	1281	-	-	-	-	867332	1,36	-	-	-	-	-	-
	1289	-	-	-	-	601662	0,94	-	-	-	-	-	-
	1299	-	-	-	-	629548	0,98	-	-	-	-	-	-
	1303	-	-	-	-	248824	0,39	-	-	-	-	-	-
	1307	-	-	-	-	379201	0,59	-	-	-	-	-	-
	1336	-	-	-	-	957852	1,50	-	-	-	-	-	-
	1399	-	-	-	-	511302	0,80	-	-	-	-	-	-
	1409	-	-	-	-	1843648	2,88	-	-	-	-	-	-
	1511	-	-	285690	0,76	-	-	-	-	-	-	-	-
	1540	-	-	-	-	481661	0,75	-	-	-	-	-	-
Total identifiés		97,9		99,1		28,6		82,6		86,2		100,0	
Total non-identifiés		2,1		0,9		71,4		17,4		13,8		0,0	
Total		49491079		100		37689407		100		63961546		100	
		799979		100		6354285		100		900968		100	

IRR SPB-5: indice de rétention relatif calculé sur une colonne non polaire de type SPB-5

Composition : aire des pics de l’analyse CG –SM

Abondance : pourcentage relatif basé sur les aires des pics de l’analyse CG –SM

tr : trace, - : absent.

* Tentative d'identification

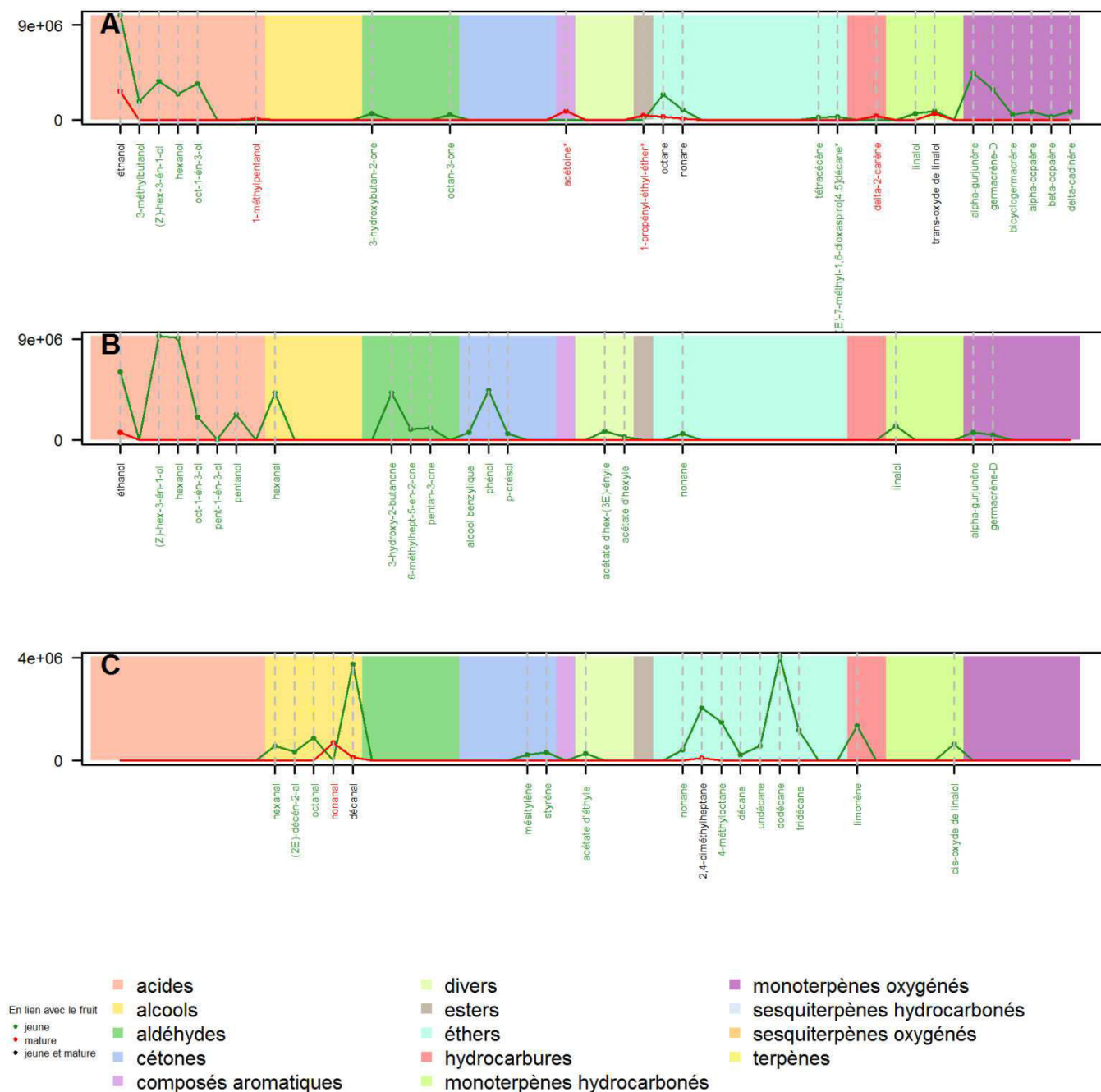


Figure 3.23. Profil d'émission des fruits de *Cucurbita pepo* (patisson) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Valeurs exprimées en aire sous les pics ; les composés annotés en vert sont présents uniquement chez le fruit au stade jeune, ceux en rouge chez le fruit mature, ceux en noir sont présents chez les 2 stades.

Tableau 3.24. Composition chimique de l’espace de tête du *Trichosanthes cucumerina* (patole)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Hydrocarbures		4		1		0		0		5		3	
penta-1,4-diène	526	-	-	-	-	-	-	-	-	591436	3,90	-	-
hexane	601	1091468	13,25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
octane	800	-	-	-	-	-	-	-	-	866128	5,71	-	-
2,4-diméthylheptane	820	388541	4,72	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4-méthyl octane	864	218927	2,66	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
nonane	900	-	-	-	-	-	-	-	-	309333	2,04	-	-
dodécane	1196	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	759672	1,26
tétradécène	1387	-	-	-	-	-	-	-	-	175548	1,16	-	-
tétradécane	1394	153051	1,86	-	-	-	-	-	-	308378	2,03	358990	0,60
pentadécane	1493	-	-	395141	0,48	-	-	-	-	-	-	460345	0,76
Alcools		2		2		0		1		6		0	
éthanol	483	324428	3,94	1541157	1,87	-	-	-	-	7663687	50,49	-	-
alcool isopentylique	731	-	-	-	-	-	-	-	-	258776	1,70	-	-
4-méthylpentanol	830	-	-	-	-	-	-	98830	13,99	-	-	-	-
(Z)-hex-3-én-1-ol	854	-	-	-	-	-	-	-	-	652770	4,30	-	-
hexanol	865	-	-	723354	0,88	-	-	-	-	1127532	7,43	-	-
heptanol	959	-	-	-	-	-	-	-	-	60600	0,40	-	-
oct-1-én-3-ol	976	-	-	-	-	-	-	-	-	305837	2,01	-	-
undécanol	1370	204849	2,49	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aldéhydes		0		1		2		0		0		4	
hexanal	804	-	-	1770410	2,15	438169	7,33	-	-	-	-	226278	0,38
octanal	1002	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	336119	0,56
nonanal	1102	-	-	-	-	1377575	23,06	-	-	-	-	2095513	3,47
décanal	1202	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1321197	2,19
Aromatiques		3		0		0		1		1		0	
toluène	790	-	-	-	-	-	-	332245	47,03	-	-	-	-
alcool benzylique	1033	-	-	-	-	-	-	-	-	225133	1,48	-	-
Esters		1		1		0		0		1		1	
acétate d'éthyle	613	-	-	745440	0,91	-	-	-	-	678679	4,47	-	-
acétate d'hexyle	1007	78020	0,95	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
acétate de <i>cis</i> -2-tert-butylcyclohexanyle	1293	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	862932	1,43
Monoterpènes hydrocarbonés		1		3		0		0		0		2	
limonène	1032	235393	2,86	854350	1,04	-	-	-	-	-	-	815146	1,35
(Z)-β-ocimène	1044	-	-	385365	0,47	-	-	-	-	-	-	666494	1,10
α-terpinolène	1086	-	-	279012	0,34	-	-	-	-	-	-	-	-

Tableau 3.24. (suite)

Composés		IRR SPB-5	FRUIT JEUNE						
			DUREE = 3h				DUREE = 4h		
			25 ± 1°C		37°C		In situ		
			Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	
Monoterpènes oxygénés			0		0		0		
linalol		1095	-	-	-	-	-	-	
perillène		1102	-	-	-	-	-	-	
menthol		1167	-	-	-	-	-	-	
Sesquiterpènes hydrocarbonés			2		2		2		
α-cubebène		1365	-	-	-	-	-	-	
α-copaène		1374	-	-	-	-	81430	1,36	
β-élémente		1389	-	-	-	-	-	-	
(E)-caryophyllène		1432	3421073	41,53	30846499	37,47	121435	2,03	
α-humulène		1435	1387155	16,84	1690834	2,05	-	-	
γ-muuroène		1478	-	-	-	-	-	-	
β-sélinène		1489	-	-	-	-	-	-	
α-muuroène		1500	-	-	-	-	-	-	
δ-cadinène		1523	-	-	-	-	-	-	
γ-cadinène		1543	-	-	-	-	-	-	
Terpènes			0		0		0		
géranyl acétone		1457	-	-	-	-	-	-	
ionol		1526	-	-	-	-	-	-	
Composés non identifiés			2		8		7		
		864	-	-	-	-	91186	1,53	
		873	-	-	-	-	391938	6,56	
		902	-	-	-	-	184459	3,09	
		965	-	-	-	-	460307	7,70	
		979	-	-	-	-	524180	8,77	
		985	-	-	-	-	155162	2,60	
		1003	-	-	-	-	2149035	35,97	
		1038	-	-	-	-	-	-	
		1058	466145	5,66	-	-	-	-	
		1069	-	-	-	-	-	-	
		1077	-	-	-	-	-	-	
		1111	-	-	-	-	-	-	
		1164	-	-	-	-	-	-	
		1169	-	-	-	-	-	-	
		1188	-	-	288566	0,35	-	-	
		1220	-	-	-	-	-	-	
		1227	-	-	-	-	-	-	

FRUIT MATURE					
DUREE = 3h				DUREE = 4h	
25 ± 1°C		37°C		In situ	
Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
0		0		5	
-	-	-	-	1546030	2,56
-	-	-	-	674604	1,12
-	-	-	-	320643	0,53
1		1		10	
-	-	-	-	227154	0,38
-	-	-	-	1223218	2,03
-	-	-	-	828875	1,37
275307	38,97	2340758	15,42	16949046	28,10
-	-	-	-	1333058	2,21
-	-	-	-	1538400	2,55
-	-	-	-	460000	0,76
-	-	-	-	1102981	1,83
-	-	-	-	1729088	2,87
-	-	-	-	1146298	1,90
0		0		1	
-	-	-	-	817848	1,36
-	-	-	-	9466778	15,69
0		3		33	
-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	548216	0,91
-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	134921	0,22
-	-	120170	0,79	109705	0,18
-	-	-	-	103899	0,17
-	-	54270	0,36	-	-
-	-	-	-	291890	0,48
-	-	-	-	182862	0,30
-	-	-	-	272727	0,45
-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	1478550	2,45
-	-	-	-	212804	0,35

Tableau 3.24 (suite)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
	1281	268858	3,26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1295	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	686303	1,14
	1303	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	704187	1,17
	1309	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	435588	0,72
	1313	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	296414	0,49
	1317	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	84100	0,14
	1324	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	776738	1,29
	1327	-	-	-	-	-	-	-	-	32321	0,21	-	-
	1330	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	106296	0,18
	1336	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	409150	0,68
	1337	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	409150	0,68
	1343	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	366956	0,61
	1358	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	269097	0,45
	1371	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	717779	1,19
	1373	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	80612	0,13
	1382	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	183986	0,30
	1386	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	164842	0,27
	1391	-	-	34818878	42,30	-	-	-	-	-	-	-	-
	1395	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	386937	0,64
	1399	-	-	2169238	2,64	-	-	-	-	-	-	-	-
	1409	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	424084	0,70
	1422	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	588838	0,98
	1426	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	571320	0,95
	1428	-	-	754165	0,92	-	-	-	-	-	-	-	-
	1432	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	344760	0,57
	1445	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	534089	0,89
	1465	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	223236	0,37
	1475	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	724973	1,20
	1478	-	-	566532	0,69	-	-	-	-	-	-	-	-
	1485	-	-	346719	0,42	-	-	-	-	-	-	-	-

Tableau 3.24 (suite)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
		1493	-	-	-	-	-	-	-	-	-	231624	0,38
		1502	-	-	739811	0,90	-	-	-	-	-	-	-
		1511	-	-	3404758	4,14	-	-	-	-	-	-	-
Total identifiés			91,1		47,7		33,8		100,0		98,6		78,4
Total non-identifiés			8,9		52,3		66,2		0,0		1,4		21,6
Total			8237919	100	82320246	100	5974887	100	706385	100	15179932	100	60323396

IRR SPB-5: indice de rétention relatif calculé sur une colonne non polaire de type SPB-5

Composition : aire des pics de l’analyse CG –SM

Abondance : pourcentage relatif basé sur les aires des pics de l’analyse CG –SM

tr : trace, - : absent.

* Tentative d'identification

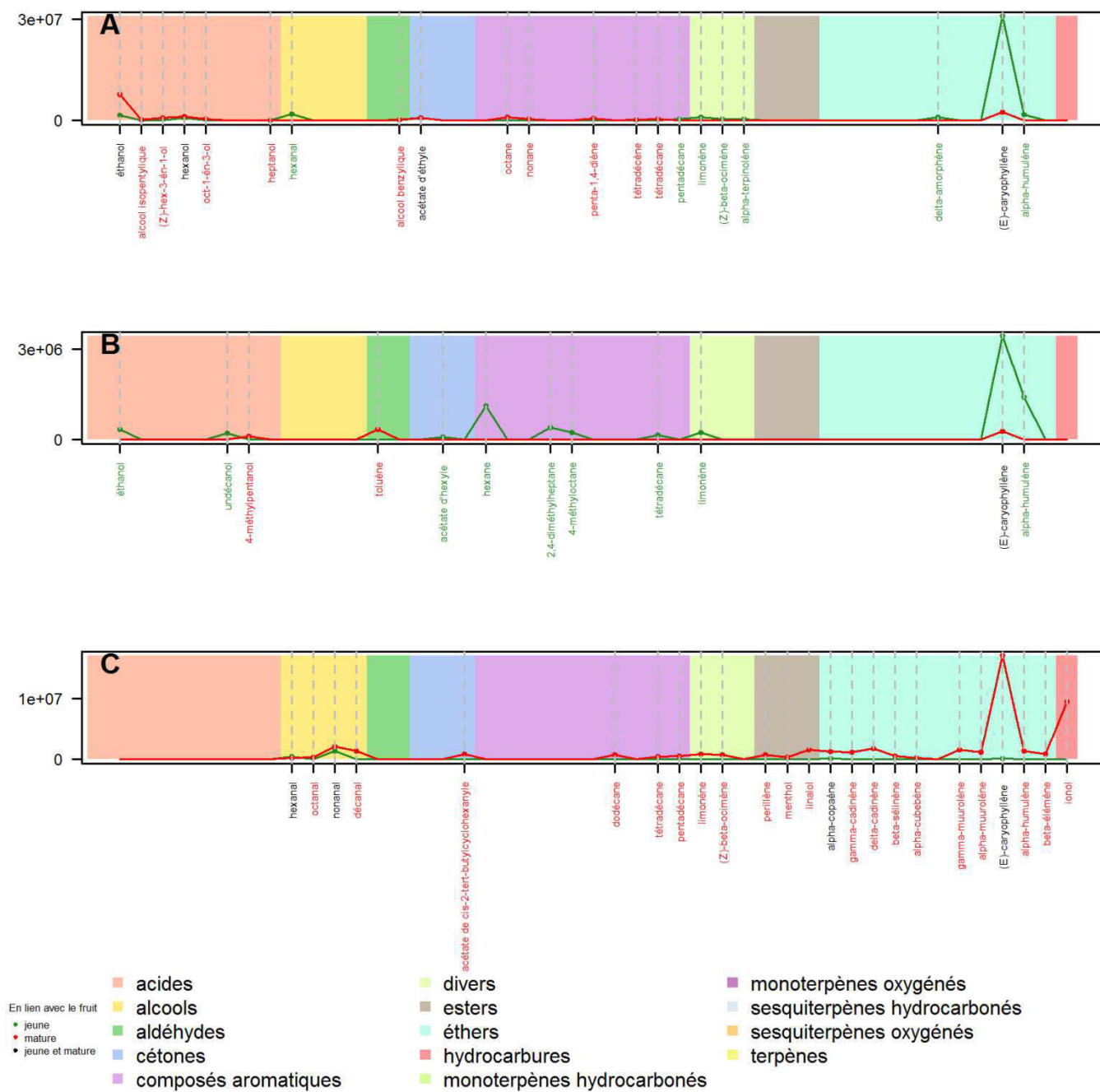


Figure 3.24. Profil d'émission des fruits de *Trichosanthes cucumerina* (patole) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Valeurs exprimées en aire sous les pics ; les composés annotés en vert sont présents uniquement chez le fruit au stade jeune, ceux en rouge chez le fruit mature, ceux en noir sont présents chez les 2 stades.

Tableau 3.25. Composition chimique de l’espace de tête du *Luffa acutangula* (pipangaille à côte)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		In situ		25 ± 1°C		37°C		In situ	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Hydrocarbures		2		6		5		1		2		5	
2-méthylpentane	576	947141	11,90	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3-méthylpentane	594	272795	3,43	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2,4-diméthylheptane	821	-	-	-	-	103761	0,39	-	-	-	-	1032059	22,59
4-méthyloctane	864	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	581922	12,74
nonane	901	-	-	133243	1,15	-	-	-	-	-	-	-	-
2,5,5-triméthylhex-1-én-3-yne*	995	-	-	-	-	-	-	-	-	29950	0,41	-	-
undécane	1106	-	-	-	-	609616	2,27	436077	2,64	-	-	1606399	35,16
dodécane	1199	-	-	-	-	791383	2,94	-	-	-	-	-	-
2,6,11-triméthyl dodécane*	1275	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	379958	8,32
tridécane	1295	-	-	218007	1,88	-	-	-	-	-	-	-	-
tétradécène	1387	-	-	258885	2,23	-	-	-	-	-	-	-	-
tétradécane	1394	-	-	459846	3,96	1140035	4,24	-	-	-	-	-	-
pentadécane	1493	-	-	-	-	3560686	13,23	-	-	273202	3,74	374218	8,19
heptadécane	1692	-	-	108347	0,93	-	-	-	-	-	-	-	-
nonadécane	1891	-	-	170173	1,47	-	-	-	-	-	-	-	-
Alcools		3		3		1		3		2		0	
éthanol	483	366252	4,60	2849074	24,53	-	-	2513321	15,21	793284	10,87	-	-
(Z)-hex-3-én-1-ol	854	228308	2,87	258292	2,22	-	-	5294264	32,05	586570	8,04	-	-
4-méthylpentanol	854	-	-	-	-	-	-	-	-	189247	2,59	-	-
hexanol	865	100118	1,26	83350	0,72	-	-	1315921	7,97	-	-	-	-
(6Z)- non-6-én-1-ol	1164	-	-	-	-	191194	0,71	-	-	-	-	-	-
Aldéhydes		1		1		7		1		1		2	
hexanal	802	587918	7,39	485448	4,18	175844	0,65	2322067	14,06	430004	5,89	99428	2,18
heptanal	900	-	-	-	-	195541	0,73	-	-	-	-	-	-
octanal	998	-	-	-	-	490018	1,82	-	-	-	-	-	-
nonanal	1102	-	-	-	-	6745205	25,06	-	-	-	-	-	-
décanal	1202	-	-	-	-	1469135	5,46	-	-	-	-	229413	5,02
(2E)-déc-2-énal	1266	-	-	-	-	551526	2,05	-	-	-	-	-	-
dodécanal	1409	-	-	-	-	219737	0,82	-	-	-	-	-	-
Cétones		1		1		0		1		0		0	
pentan-3-one	697	193689	2,43	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
octan-3-one	986	-	-	140622	1,21	-	-	637915	3,86	-	-	-	-
Acides		0		0		1		0		0		1	
acide acétique	565	-	-	-	-	273967	1,02	-	-	-	-	66059	1,45

Composés

Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		In situ	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Esters		2		2		0	
acétate de méthyle	533	3709470	46,60	-	-	-	-
acétate d'éthyle	613	1133749	14,24	4622485	39,80	-	-
acétate d'hex-(3 <i>E</i>)-ényle	1001	-	-	150764	1,30	-	-
acétate d'hex-(3 <i>Z</i>)-ényle	1004	-	-	-	-	-	-
Monoterpènes hydrocarbonés		1		3		2	
α-pinène	939	-	-	-	-	-	-
camphène	956	124872	1,57	251545	2,17	-	-
δ-3-carène	1021	-	-	120308	1,04	-	-
limonène	1031	-	-	63621	0,55	230980	0,86
(<i>Z</i>)-β-ocimène	1036	-	-	-	-	409134	1,52
(<i>E</i>)-β-ocimène	1046	-	-	-	-	-	-
Sesquiterpènes hydrocarbonés		1		0		0	
α-copaène	1377	68586	0,86	-	-	-	-
Divers		0		0		0	
3-méthylfurane	580	-	-	-	-	-	-
Composés non identifiés		2		7		17	
	828	-	-	105822	0,91	-	-
	844	115536	1,45	81793	0,70	-	-
	994	-	-	54721	0,47	-	-
	1038	-	-	-	-	125518	0,47
	1051	-	-	-	-	91442	0,34
	1058	-	-	-	-	2547596	9,47
	1115	-	-	-	-	369161	1,37
	1281	-	-	-	-	3156955	11,73
	1289	-	-	-	-	371796	1,38
	1295	-	-	-	-	281154	1,04
	1299	-	-	-	-	145808	0,54
	1303	-	-	-	-	296017	1,10
	1336	-	-	-	-	314838	1,17
	1346	-	-	-	-	128351	0,48
	1365	-	-	-	-	163344	0,61
	1382	-	-	205089	1,77	-	-
	1386	-	-	81899	0,71	-	-
	1391	112128	1,41	-	-	230911	0,86

[illegible]

Tableau 3.25. (suite)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h						DUREE = 3h					
		25 ± 1°C		37°C		In situ		25 ± 1°C		37°C		In situ	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
	1493	-	-	525786	4,53	202387	0,75	-	-	-	-	-	-
	1506	-	-	-	-	233498	0,87	-	-	-	-	-	-
	1511	-	-	-	-	153716	0,57	-	-	-	-	-	-
	1540	-	-	-	-	941824	3,50	-	-	-	-	-	-
	1714	-	-	185364	1,60	-	-	-	-	-	-	-	-
Total identifiés		97,1		89,3		63,8		98,7		100,0		100,0	
Total non-identifiés		2,9		10,7		36,2		1,3		0,0		0,0	
Total		7960573		100		11614501		100		26912106		100	
		16519227		100		7295948		100		4569182		100	

IRR SPB-5: indice de rétention relatif calculé sur une colonne non polaire de type SPB-5

Composition : aire des pics de l’analyse CG –SM

Abondance : pourcentage relatif basé sur les aires des pics de l’analyse CG –SM

tr : trace, - : absent.

* Tentative d'identification

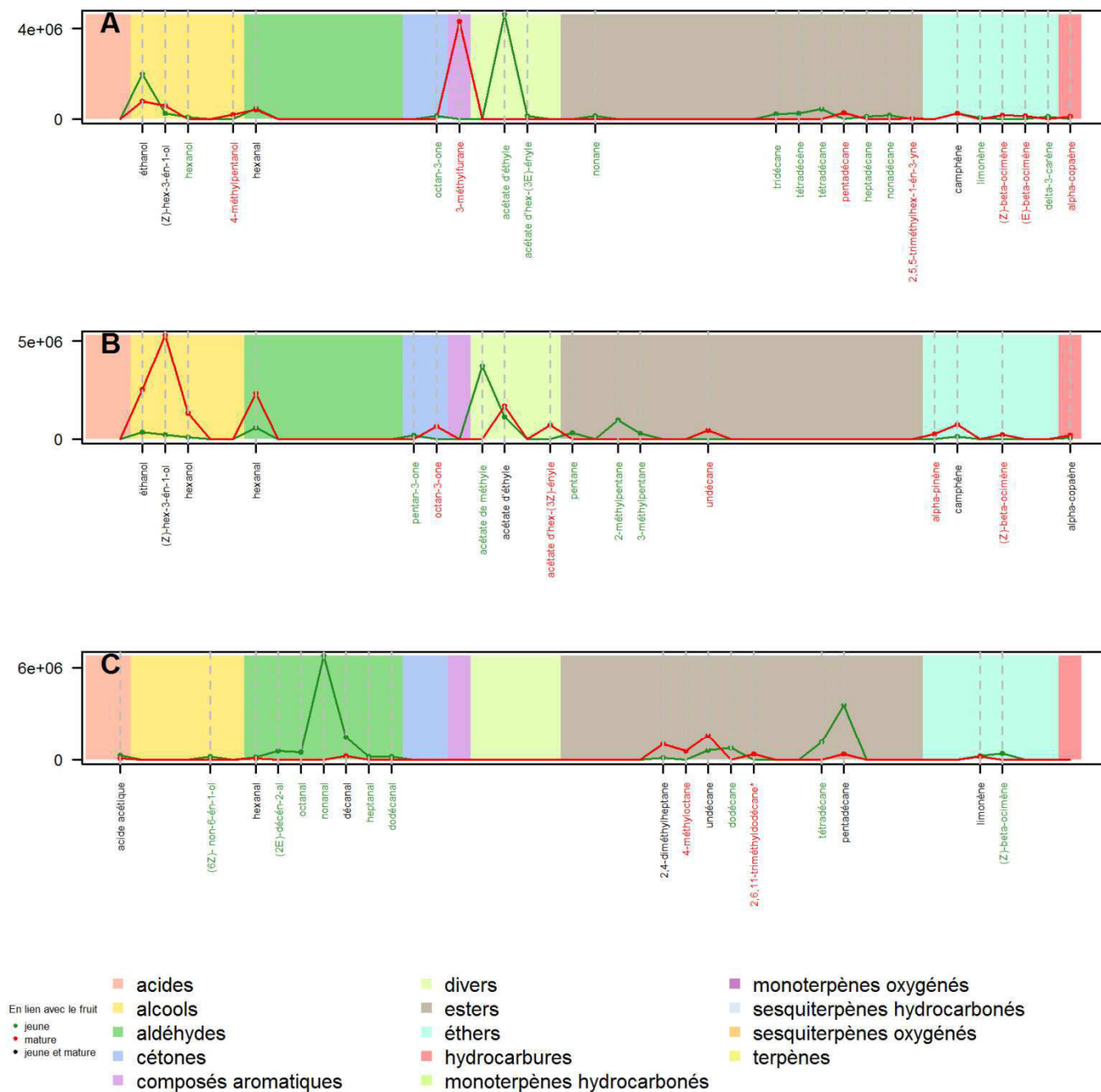


Figure 3.25. Profil d'émission des fruits de *Luffa acutangula* (pipangaille à côte) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Valeurs exprimées en aire sous les pics ; les composés annotés en vert sont présents uniquement chez le fruit au stade jeune, ceux en rouge chez le fruit mature, ceux en noir sont présents chez les 2 stades.

Tableau 3.26. Composition chimique de l’espace de tête du *Luffa cylindra* (pipangaille lisse)

Composés		IRR SPB-5	FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE								
			DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h				
			25 ± 1°C		37°C		In situ		25 ± 1°C		37°C		In situ				
		Composition		Abondance		Composition		Abondance		Composition		Abondance		Composition		Abondance	
Hydrocarbures			1		2		1		3		3		3				
hexane	601	-	-	-	-	-	-	-	37234	4,67	-	-	-	-			
2-méthylpentane	573	198783	16,92	-	-	-	-	-	230240	28,89	-	-	-	-			
3-méthylpentane	580	-	-	-	-	-	-	-	410036	51,45	-	-	-	-			
2,4-diméthylheptane	823	-	-	-	-	7204	1,53	-	-	-	-	33281	0,85				
2, 3, 4-triméthylhexane	848	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	52105	1,33				
dodécane	1196	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	142260	3,64				
pentadécane	1493	61816	5,26	200741	2,70	-	-	-	-	63812	2,29	-	-				
1-formyl-4-hydroxyméthylcyclohexane*	1562	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
hexadécane	1593	-	-	-	-	-	-	-	-	75717	2,72	-	-				
heptadécane	1692	-	-	-	-	-	-	-	-	97221	3,49	-	-				
octadécane	1791	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
nonadécane	1891	-	-	196064	2,64	-	-	-	-	-	-	-	-				
Alcools			2		4		0		0		3		0				
éthanol	483	-	-	1969504	26,48	-	-	-	-	1220315	43,79	-	-				
alcool isopentylique	731	-	-	172295	2,32	-	-	-	-	43384	1,56	-	-				
2-méthylbutanol	734	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
hex-3-én-1-ol	854	197596	16,82	157338	2,12	-	-	-	-	-	-	-	-				
1-hexanol	865	413377	35,18	275064	3,70	-	-	-	-	-	-	-	-				
oct-1-én-3-ol	976	-	-	-	-	-	-	-	-	144177	5,17	-	-				
Aldéhydes			1		1		2		0		0		2				
hexanal	802	251266	21,39	111223	1,50	-	-	-	-	-	-	-	-				
nonanal	1102	-	-	-	-	342037	72,57	-	-	-	-	1718936	43,96				
(2E),(6Z)-nona-2,6-diénal	1151	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
(2E) non-2-énal	1161	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
décanal	1202	-	-	-	-	122108	25,91	-	-	-	-	442383	11,31				
Esters			0		2		0		0		1		0				
acétate d'éthyle	613	-	-	3373753	45,36	-	-	-	-	463221	16,62	-	-				
acétate de propyle		-	-	279969	3,76	-	-	-	-	-	-	-	-				

Tableau 3.26. (suite)

Composés		IRR SPB-5	FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE						
			DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h		
			25 ± 1°C		37°C		In situ		25 ± 1°C		37°C		In situ		
			Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	
Monoterpènes hydrocarbonés			1		3		0			1		2		3	
α-pinène	940	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	495882	12,68
camphène	956	-	-	49951	0,67	-	-	-	-	119449	14,99	50576	1,82	-	-
β-pinène	984	-	-	236262	3,18	-	-	-	-	-	-	-	-	955001	24,42
limonène	1032	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	70144	1,79
(E)-β-ocimène	1046	52050	4,43	415471	5,59	-	-	-	-	-	-	628033	22,54	-	-
Total identifiés			100,0		100,0		100,0			100,0		100,0		100,0	
Total non-identifiés			0,0		0,0		0,0			0,0		0,0		0,0	
Total			1174892	100	7437645	100	471351	100		796960	100	2786462	100	3909997	100

IRR SPB-5: indice de rétention relatif calculé sur une colonne non polaire de type SPB-5

Composition : aire des pics de l’analyse CG –SM

Abondance : pourcentage relatif basé sur les aires des pics de l’analyse CG –SM

tr : trace, - : absent.

* Tentative d'identification

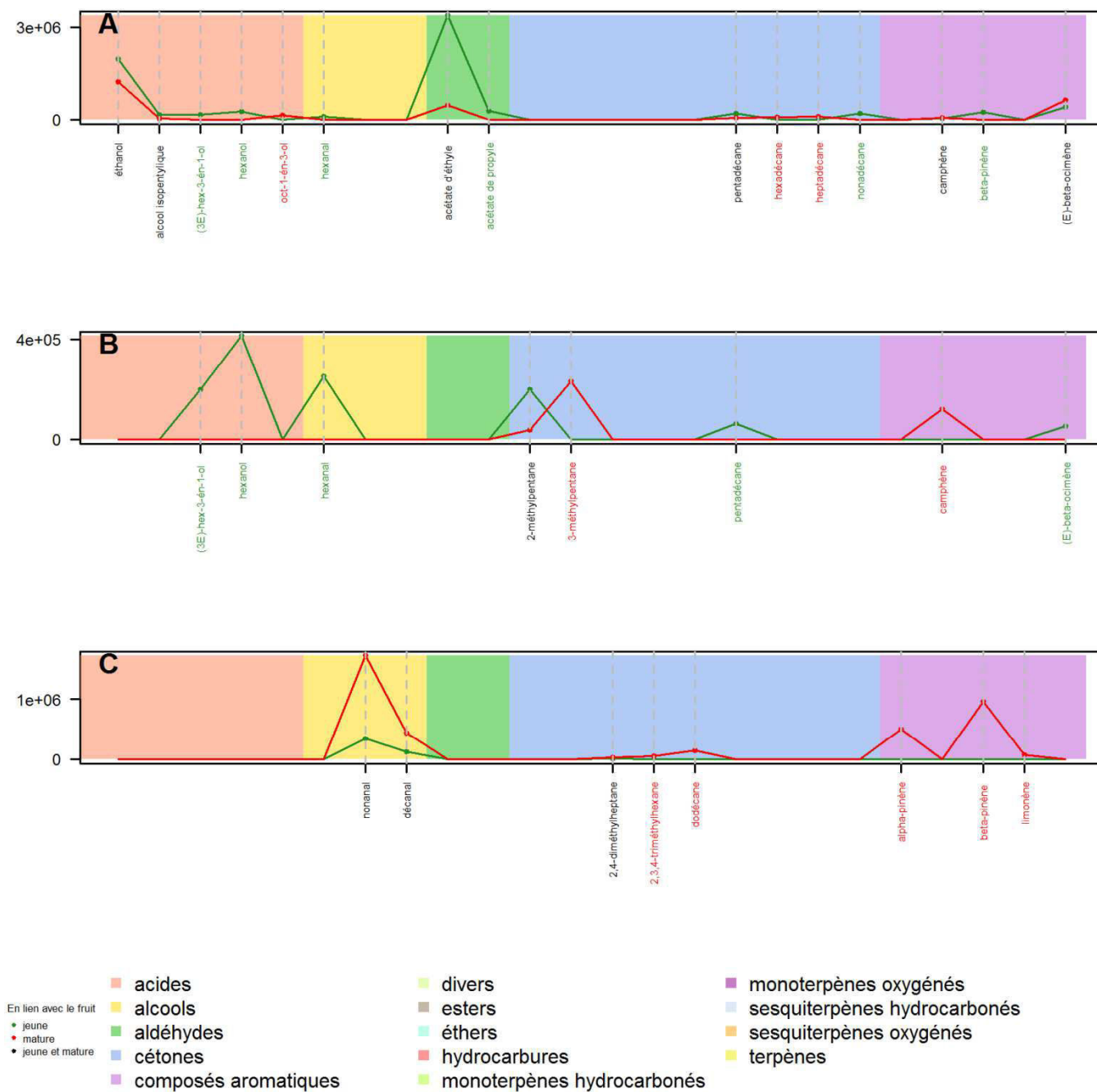


Figure 3.26. Profil d'émission des fruits de *Luffa cylindra* (pipangaille lisse) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Valeurs exprimées en aire sous les pics ; les composés annotés en vert sont présents uniquement chez le fruit au stade jeune, ceux en rouge chez le fruit mature, ceux en noir sont présents chez les 2 stades.

Tableau 3.27. Composition chimique de l’espace de tête du *Cucurbita maxima* (potiron)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		In situ		25 ± 1°C		37°C		In situ	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
Hydrocarbures		3		0		5		2		1		1	
2,4-diméthylheptane	821	-	-	-	-	1150730	4,67	595412	16,62	-	-	1228254	5,30
4-méthyloctane	864	-	-	-	-	1078681	4,38	472559	13,19	83964	20,52	-	-
nonane	901	128574	1,15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
undécane	1106	346902	3,09	-	-	6007868	24,40	-	-	-	-	-	-
dodécane	1199	150054	1,34	-	-	1201166	4,88	-	-	-	-	-	-
tridécane	1295	-	-	-	-	239213	0,97	-	-	-	-	-	-
Alcools		3		2		1		0		0		0	
(3Z)-hex-3-én-1-ol	854	3602006	32,09	319132	59,82	-	-	-	-	-	-	-	-
hexanol	865	876486	7,81	51611	9,68	-	-	-	-	-	-	-	-
oct-1-én-3-ol	976	640516	5,71	-	-	442590	1,80	-	-	-	-	-	-
Aldéhydes		3		0		2		2		2		3	
hexanal	802	910963	8,12	-	-	255988	1,04	1067039	29,78	245746	60,07	1747693	7,54
octanal	998	-	-	-	-	170488	0,69	-	-	-	-	1410647	6,08
nonanal	1102	756881	6,74	-	-	-	-	1047807	29,25	79392	19,41	8781529	37,86
décanal	1202	332202	2,96	-	-	1381448	5,61	-	-	-	-	-	-
Aromatiques		1		0		0		0		0		1	
toluène	786	310352	2,77	-	-	-	-	-	-	-	-	1967913	8,49
Cétones		4		1		1		0		0		2	
butan-2-one	600	300649	2,68	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pentan-3-one	697	31065	0,28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4-hydroxy-4-méthylpentan-2-one	809	129098	1,15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6-méthylhept-5-én-2-one	985	-	-	-	-	281502	1,14	-	-	-	-	-	-
6-méthylheptan-2-one	985	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	925767	3,99
octan-3-one	986	370779	3,30	41867	7,85	-	-	-	-	-	-	-	-
6,10-diméthylundécan-2-one	1408	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1259574	5,43
Esters		1		1		1		0		0		0	
acétate d'éthyle	613	1049437	9,35	67751	12,70	677918	2,75	-	-	-	-	-	-
Monoterpènes hydrocarbonés		1		3		1		0		0		0	
limonène	1031	407348	3,63	0	0,00	347963	1,41	-	-	-	-	-	-
Composés non identifiés		3		1		8		1		0		5	
	1038	181383	1,62	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1058	138163	1,23	-	-	4465280	18,14	399925	11,16	-	-	1491064	6,43
	1096	-	-	-	-	209482	0,85	-	-	-	-	-	-
	1108	-	-	-	-	880459	3,58	-	-	-	-	-	-
	1157	-	-	53074	9,95	-	-	-	-	-	-	-	-

Tableau 3.27. (suite)

		FRUIT JEUNE						FRUIT MATURE					
Composés	IRR SPB-5	DUREE = 3h				DUREE = 4h		DUREE = 3h				DUREE = 4h	
		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>		25 ± 1°C		37°C		<i>In situ</i>	
		Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance	Composition	Abondance
	1204	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	340152	1,47
	1281	561299	5,00	-	-	4206861	17,09	-	-	-	-	-	-
	1291	-	-	-	-	365252	1,48	-	-	-	-	-	-
	1295	-	-	-	-	267046	1,08	-	-	-	-	1253467	5,40
	1327	-	-	-	-	439954	1,79	-	-	-	-	-	-
	1353	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1633181	7,04
	1457	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1153413	4,97
	1497	-	-	-	-	550157	2,23	-	-	-	-	-	-
Total identifiés		92,2		90,1		53,8		88,8		100,0		74,7	
Total non-identifiés		7,8		9,9		46,2		11,2		0,0		25,3	
Total		11224173 100		533443 100		24620060 100		3582745 100		409104 100		23192665 100	

IRR SPB-5: indice de rétention relatif calculé sur une colonne non polaire de type SPB-5

Composition : aire des pics de l’analyse CG –SM

Abondance : pourcentage relatif basé sur les aires des pics de l’analyse CG –SM

tr : trace, - : absent.

* Tentative d'identification

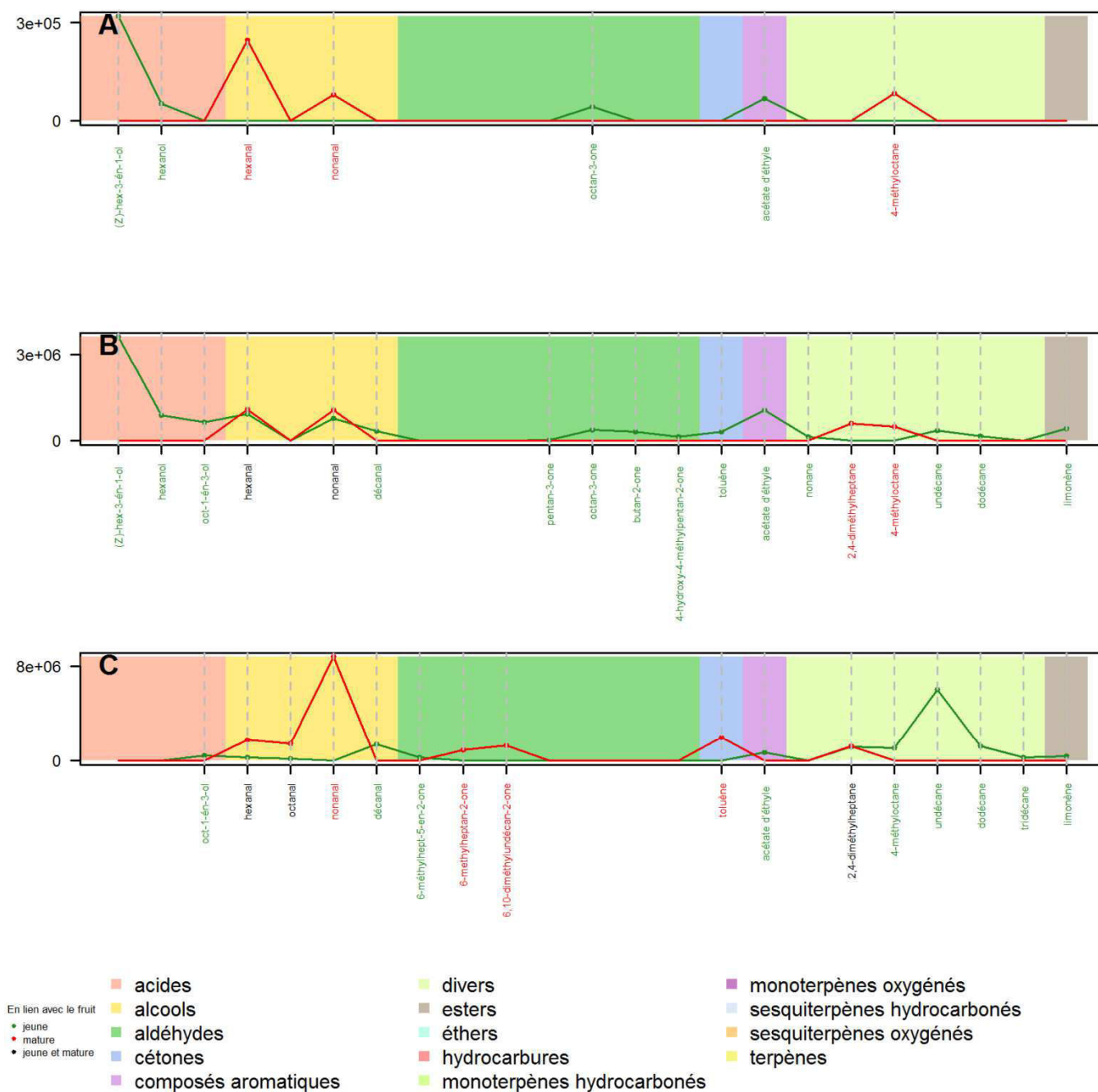


Figure 3.27. Profil d'émission des fruits de *Cucurbita maxima* (potiron) jeune et mature pour des extractions SPME de 3 h à 37°C (A), de 3 h à 25 ± 1°C (B) et de 4 h *in situ* (C).

Valeurs exprimées en aire sous les pics ; les composés annotés en vert sont présents uniquement chez le fruit au stade jeune, ceux en rouge chez le fruit mature, ceux en noir sont présents chez les 2 stades.

Résumé

La localisation des plantes-hôtes est un processus déterminant dans la stratégie adaptative des insectes phytophages et les stimuli olfactifs, qui sont des composés volatils émis par les plantes, jouent un rôle essentiel dans ce processus. *Bactrocera cucurbitae* (Diptera, Tephritidae) est responsable d'importants dégâts sur maintes cultures maraîchères à l'échelle mondiale et à La Réunion. Si la bio-écologie et la structuration génétique des populations de cette espèce sont relativement bien connues, des connaissances sur la médiation chimique se produisant lors de la localisation des fruits-hôtes restent nécessaires pour améliorer la gestion des populations de cette espèce.

L'objectif de la thèse est de caractériser les stimuli olfactifs impliqués dans la localisation à distance par les femelles de *B. cucurbitae*, d'une large gamme de fruits-hôtes de Cucurbitaceae sauvages et cultivées de La Réunion. Une approche bidisciplinaire (comportementale et chimique) a été adoptée afin d'identifier, parmi 27 fruits-hôtes, les composés volatils responsables de l'attraction des femelles vers leurs sites de ponte.

Les résultats soulignent, qu'au sein de la gamme de plantes-hôtes, la réponse des femelles aux effluves de ces fruits est très hétérogène (taux d'attraction de 1 % à 74 %), variant selon l'espèce végétale, la variété et le stade de maturité des fruits. Parallèlement, l'étude de la composition chimique des effluves de ces fruits révèle une chimiodiversité inter- et intraspécifique considérable : 280 composés volatils identifiés au total, avec des profils d'émission différents d'un fruit à l'autre. Ces résultats, complétés par de l'électroantennographie couplée à la chromatographie gazeuse, ont permis de déterminer 34 composés potentiellement impliqués dans l'attraction des femelles. De plus, un mélange à deux composés volatils de synthèse, aussi attractif qu'une odeur de fruits frais, a été identifié à partir des réponses des femelles à 10 des 34 composés, présentés individuellement ou en mélange.

Les rôles des composés volatils de fruits-hôtes dans le processus de localisation des sites de ponte et dans la spécialisation écologique de cette espèce de ravageurs sont discutés. Par ailleurs, l'association des résultats de préférence des femelles et de performance larvaire représente une perspective de recherche prometteuse, qui contribuerait à acquérir une connaissance plus fine du phénomène de spécialisation d'hôte. Enfin, il est désormais possible d'envisager l'utilisation du mélange simple à deux composés volatils dans un système de piégeage des femelles, à intégrer dans un schéma de gestion agroécologique des populations de *B. cucurbitae*.

Mots clés : *Bactrocera cucurbitae*, Tephritidae, Cucurbitaceae, localisation de plantes-hôtes, kairomone

Abstract

Locating host-plants is a key process in the adaptive strategy of phytophagous insects, and olfactory stimuli, which are volatile compounds emitted by plants, play an essential role in this process. *Bactrocera cucurbitae* (Diptera, Tephritidae) is responsible for significant damage to many vegetable crops in Reunion Island and worldwide. While the bioecology and genetic population structure of this species are relatively well known, understanding the chemical mediation occurring during host-fruit location is needed to improve the management of this pest.

The aim of this thesis is to characterize the olfactory stimuli involved in the location by females of *B. cucurbitae*, of a wide range of wild and cultivated host fruits of Cucurbitaceae in Reunion Island. A multidisciplinary approach (behavioural and chemical) was adopted to identify volatile compounds responsible for the attraction of females to their oviposition sites in 27 host fruits.

The results highlight that within the range of host plants the female response to fruit odours is very heterogeneous (attraction rates from 1% to 74%). These levels of female response vary according to the plant species and the variety and the stage of fruit maturity. Meanwhile, the study of the chemical composition of fruit odours reveals a considerable inter- and intraspecific chemodiversity: 280 volatile compounds identified in total, with different emission profiles from one fruit to another. These results, complemented by coupled gas chromatography-electroantennographic detection, have identified 34 compounds potentially involved in female attraction. In addition, a blend of two synthetic compounds as attractive as fresh fruit odour was identified by measuring attractiveness of 10 of the 34 compounds presented individually or in combination.

The roles of volatiles in oviposition sites location and ecological specialization of this pest are discussed. Moreover, the association of these results with data on female preference and larval performance represents a promising research direction, which would contribute to a better understanding of the phenomenon of host specialization. Finally, the integration of a simple two-component blend in a trapping system for females into an agroecological management scheme for *B. cucurbitae* populations is proposed.

Key words: *Bactrocera cucurbitae*, Tephritidae, Cucurbitaceae, host-plant location, kairomone