République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE ABBES LAGHROUR KHENCHELA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE MOLICULAIRE ET CELLULAIRE

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master Académique.

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biologie et contrôle des populations des insectes

Thème

Etude bibliographique sur l'évolution des pucerons

Présenté par :

- **Sekkaoui Aziza**

Jury de soutenance

- **Président :**	**Mr ABBA . A**	**MAA**	**Univ. Khenchela**
- **Encadreur :**	**Mme GAGUI . F**	**MAA**	**Univ. Khenchela**
- **Examinateur:**	**Mr LABAAL . S**	**MCB**	**Univ. Khenchela**

Année universitaire : 2018-2019

Remerciement

« Au nom d'Allah, le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux,

Louange à Allah, Seigneur de l'univers».

Au terme de ce travail, Nous exprimons notre profond

remerciement et gratitude à notre encadreur Mme GAGUI Fatima,

pour bien vouloir diriger ce travail, et pour ses conseils

et ses remarques constructives. A Mr. ABBA Abderrahmane, pour l'honneur qu'il nous a fait à accepter de présider le jury, Ainsi que le membre de la commission de jury, Mr LEBBAL Salim.

Mes remerciements s'adressent à toute ma famille pour

leur soutien surtout mon frère Mehieddine.

A tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin à

la réalisation de ce travail.

Merci

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Ma mère, mes sœurs, mes frères

Surtout, surtout,

Mon frère Mehieddine.

Aziza

Liste des Figures

N° de Figure	Titre	Page
Figure 01	**Rôle des MIF1 dans l'alimentation des pucerons**	**14**
Figure 02	***Acyrthosiphon pisum* rose se transforme en vert**	**18**
Figure 03	**Coccinelle attaque les pucerons roses**	**19**
Figure 04	**Guêpe parasitoïde attaque les pucerons verts**	**19**
Figure 05	**Reproduction des générations ailées pour échapper des coccinelles**	**20**
Figure 06	**Polymorphisme de couleur chez *Sitobion avenae***	**21**
Figure 07	**Protocole utilisé pour sélectionner la variante verte**	**24**
Figure 08	**Le phénotype blanc (forte densité de population et la raréfaction des ressources)**	**25**

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Pages
Tableau 1	**répartition des types colorés de *Sitobion avenae* par plante hôte**	**17**
Tableau 2	**répartition des modes de reproduction de *Sitobion avenae* par plante hôte**	**22**

Table des matières

Remerciement

Dédicace

Liste des Figures

Liste des tableaux

Introduction…….……1

Chapitre I : Moyens d'étude de l'évolution

I- Moyens d'étude de l'évolution.....3

I-1-Echantillonnage et conservation……..3

I-2-Extraction d'ADN……..4

I-2-1- Les méthodes classiques……4

I-2-2- Méthodes des kits ……..5

I-2-3- Méthodes automatiques ……..….....…...5

I-3-Amplification PCR et Séquençage des pucerons……6

Chapitre II : Synthèse sur l'évolution des pucerons

II- Synthèse sur l'évolution des pucerons……10

II-1- Le rôle des associations interspécifiques dans la diversification……10

II-2- L'évolution des associations insecte-plante……..15

II-3- L'évolution du mode de reproduction…….….16

II-4- Le déterminisme de polymorphisme……18

II-5 -L'évolution et le maintien des associations biologiques……..26

Conclusion…….29

Références bibliographiques

Introduction

« Rien n'a de sens en biologie si ce n'est à la lumière de l'évolution » **(Dobzhansky,1973).**

Le terme évolution signifie un changement au cours du temps, lorsque les biologistes parlent d'évolution, ils font référence à l'histoire de la vie. Plus précisément, l'évolution biologique fait référence au développement des diverses espèces actuelles à partir d'espèces ancestrales **(Site1).**

L'évolution des populations n'est en aucune manière limite aux évènements aléatoires qui alimentent les mutations, flux génique et la dérive génétique. Le quatrième mécanisme évolutif, la sélection naturelle, n'est pas un processus aléatoire. Contrairement aux trois autres mécanismes de l'évolution, la sélection naturelle est un processus directionnel elle modifie les caractéristiques génétique d'une population au cours de génération successives, de sorte que les caractères avantageux deviennent plus fréquents dans une population et les caractères désavantageux, moins fréquent **(Anu et Gary , 2017).**

Il me semble encore évident que les êtres organisés doivent être exposés pendant plusieurs générations à de nouvelles conditions de vie pour qu'il se manifeste chez eux une somme appréciable de variation **(Darwin, 1886).**

Depuis une cinquantaine d'année, les recherches sur l'évolution sont devenues très nombreuses **(Dajoz ,2012).**

Piffaretti,(2012) a classé les modèles des études de biologie évolutive des pucerons comme suit :

Le rôle des associations interspécifiques dans la diversification : les pucerons sont associes de façon spécifique a leur plante hôte et présentent des régimes alimentaires varies (de la monophagie a la polyphagie) qui semblent avoir évolue plusieurs fois de façon indépendante. On suspecte que cette association plante-puceron soit un moteur d'événements de radiation au sein des Aphidoidae.

L'évolution des associations insecte-plante : les espèces hétéroeciques sont associes à des plantes hôtes non apparentées et possédant des caractéristiques contrastées : souvent une ou des plante(s) herbacée(s) et une plante ligneuse.

Parmi les insectes phloèmophages, seuls les pucerons sont capables de tels changements.

Cette caractéristique implique un mécanisme adaptatif et une spécialisation pointue (physiologique, Comportementale et morphologique), permettant aux pucerons de localiser et d'exploiter des hôtes très différents et de conserver cette alternance règle à un temps bien précis.

L'évolution du mode de reproduction : la majorité des pucerons ont conservé la capacité de se reproduire de manière sexuée et asexuée, qui ont des conséquences évolutives bien différentes à court et a long terme. Cette caractéristique en fait donc des bons modèles pour étudier l'évolution et le maintien du sexe.

Le déterminisme du polymorphisme (morphes sexués ou asexués, ailes ou aptères) et de la plasticité phénotypique (variation intra-spécifique d'un même morphe lié a la plante hôte ou aux associations bactériennes secondaires par exemple).

L'évolution et le maintien des associations biologiques : l'association puceron- *Buchnera aphidicola* est souvent utilisée comme modèle pour étudier le maintien des associations symbiotiques, leurs conséquences évolutives et les phénomènes de cospéciation.

Malgré les grands recherches menés pour se débarrasser de ces petites insectes, (lutte chimique, lutte biologique…), mais à chaque fois ils apparaissent des résistances non attendus, alors : quel est le secret de la longévité de cet espèce depuis plusieurs siècles ?

Dans ce travail, nous allons voir deux parties : la première partie (chapitre I), comprend les moyens d'études de l'évolution dont les chercheurs ont-ils exploité dans leurs études au niveau du laboratoire, et la deuxième partie (chapitre II), nous allons citer quelques exemples de l'évolution des pucerons qui sont considérés comme des résultats de leurs recherches.

I-Moyens d'étude de l'évolution

La taxonomie des pucerons a été beaucoup plus étudiée que celle d'autres groupes d'insectes et est toujours à l'étude en raison du statut phytosanitaire de certaines espèces **(Miller et Foottit ,2009).** Cependant, il reste de nombreuses difficultés à identifier et à délimiter les espèces de ce groupe. Des caractéristiques spécifiques au cycle de vie des pucerons entraînent un polyphénisme intraspécifique, en raison de la production de diverses formes, individus sexuels ou parthénogénétiques, vivipares - ovipares, ailés ou aptères **(Minks et Harrewijn 1987; Braendle et *al.*2006; Brisson 2010)**, et polymorphisme en raison de variations morphologiques liées à l'utilisation de différentes plantes hôtes ou facteurs environnementaux **(Lambers, 1966; Wool et Hales, 1997; Margaritopoulos et *al*. 2000; Nevo et Coll 2001; Ruiz-Montoya et *al*. 2005).** Les méthodes taxonomiques classiques basées uniquement sur des caractères morphologiques sont devenu insuffisantes, pour cette raison l'étudier de la variabilité génétique des pucerons par l'analyse de leurs ADN est considérer comme meilleur solution surtout pour l'étude de leurs évolutions **(Piffaretti et *al.* 2012)**.

L'isolement de l'ADN d'insectes ne pose normalement pas de problèmes particuliers. Par conséquent, l'une des nombreuses techniques utilisées pour isoler l'ADN d'autres organismes fonctionnera généralement avec du tissu d'insecte **(Cockburn et Fritz, 1996).**

I-1-Echantillonnage et conservation

Les pucerons récoltés sont mis dans l'alcool 95° ou 100° pour des études moléculaires ultérieures. Les tubes doivent être parfaitement étanches et suffisamment solides pour ne pas se casser. On introduit une étiquette rédigée à l'encre de Chine ou à défaut au crayon à papier à l'intérieur du tube.

Il est important d'inscrire sur l'étiquette :

La date et le lieu de capture (commune, région, pays),

La plante hôte,

Le nom du récolteur

Et toute autre information utile comme :

Le type de cultures (sous serre, en plein air etc…) **(Franck, 2008).**

I-2- Extraction d'ADN

L'ADN (Acide Désoxyribo Nucléique) total est extrait selon des méthodes différentes. Il existe des méthodes d'extraction d'ADN classiques, des méthodes commercialisées sous forme de kits prêts à l'emploi et des méthodes automatiques **(Allala ,2010).**

I-2-1- Les méthodes classiques

Se sont des méthodes manuelles qui assurent l'isolement de l'ADN par l'utilisation de solutions chimiques de différentes concentrations et/ou l'introduction d'éléments qui facilitent l'isolement de l'ADN, (Méthode Salines, Méthode du Chelex 100, Méthode de Doyle et Doyle et Méthode Phénol-Chloroforme….). Ces méthodes classiques diffèrent au niveau des produits chimiques utilisés, les techniques, les détails des protocoles (quantités ajoutés, temps d'incubation, température d'incubation, temps de centrifugation, vortexage ou agitation manuelle, ordre d'utilisation des produits…).

- **Méthode de Doyle et Doyle (1987)**

Ce protocole ancien et long, basé sur l'utilisation du CTAB (cetyltrimethylammonium bromide), est efficace et permet d'obtenir jusqu'à 200 µg d'ADN par insecte. Le broyage des pucerons est effectué à l'aide d'un piston conique dans un tube Eppendorf contenant 50µl de tampon d'extraction (2% CTAB ; 1,4M NaCl ; 0,2% 2-mercaptoéthanol; 20mM EDTA ; 100mM Tris HCl ; pH 8) préalablement chauffé à 65°C. Le broyat est additionné de 150µl du tampon d'extraction et incubé à 65°C pendant 1h. Après traitement par un volume de chloroforme-alcool isoamylique (24 : 1), une centrifugation pendant 10 min à 8000 rpm à 4°C permet de récupérer le surnageant dans un tube Eppendorf contenant un volume égal d'isopropanol. Après une nuit à -20°C, le culot contenant les acides nucléiques est récupéré suite à une centrifugation de 15 min à 13500 rpm et à 4°C. Le culot est ensuite lavé avec 250µl d'éthanol 70% et séché au Speed-Vac avant d'être repris dans 20µl de H2O bi-distillée stérile **(Bouallègue, 2017; Lebbal, 2017;Jalalizand et *al.* 2012).**

- **Méthode Chelex ® 100**

Pour chaque colonie échantillonnée utilisée dans l'analyse phylogénétique, l'ADN a été extrait individuellement de cinq à dix pucerons dans une solution de résine à 10% (p / v) de

Chelex ® 100 (Bio-Rad Laboratories, CA, USA) dans une plaque à 96 puits. En bref, nous avons rempli les puits avec 8 µl de protéinase K à 20 mg / ml, puis ajouté un puceron dans

chaque puits et enfin 100 µl de solution de résine Chelex ® 100 à 10% (p / v). La plaque a été incubée à 55 ° C toute la nuit. Le jour suivant, la plaque a été incubée à 95 ° C pendant 15 minutes, à 20 ° C pendant 15 minutes et à nouveau à 95 ° C pendant 15 minutes. La plaque a été vortexée puis brièvement centrifugée afin de recueillir les billes de Chelex à le fond du tube. Enfin, nous avons transféré 100 µl de surnageant sur la plaque de collecte d'ADN. Tous les extraits d'ADN ont été stockés à -20 ° C, et aussi : l'ADN génomique total a été extrait d'un échantillon individuel avec le kit DNeasy Blood & Tissue (Qiagen, Hilden, Allemagne) dans 50 µl de tampon d'extraction. Tous les échantillons d'ADN ont été stockés à -20 ° C **(Piffaretti et *al* .2012).**

I-2-2-Méthodes des kits

Un kit d'extraction est un paquet commercialisé qui contient tous les réactifs (solutions) prêt à l'emploi et/ou matériels (tubes, colonnes, fioles de solutions, rack magnétique…) permettant de réaliser l'extraction de l'ADN de façon rapide. Les kits trouvés aujourd'hui sur le marché sont spécifiques à l'espèce ou au type de l'organisme étudié (procaryote, eucaryote, ruminant, règne, espèce, etc.), au type de source de l'ADN (plantes, sang, tissus, fèces, etc.), au type d'acide nucléique qu'on veut extraire (ARN, ADN génomique, ADN mitochondrial…) et à la méthode d'extraction (kits manuels et kits pour les extracteurs automatiques qui contiennent juste les tampons de lyse, d'élution…)**(Caron et *al*.2004 in Allala ,2010).**

I-2-3 Méthodes automatiques

Actuellement, les appareils les plus diffusés sont capables d'extraire l'ADN d'une façon entièrement automatique sur n'importe quel type d'échantillon et ce, en moins de 3 heures. Ces instruments restent chers, mais sont remboursables sur leurs années d'utilisation et par rapport au grand nombre d'échantillons qu'ils font extraire en une durée très courte et avec une haute précision. Les extracteurs automatiques utilisent plusieurs technologies :

- Technologie « Magtration » : automatise la méthode d'extraction magnétique.
- Technologie des « rod » : utilise les tiges magnétiques.
- Technologie de l'extraction par filtration sur membrane poreuse très mince (80µm), elle

utilise des résines échangeuses d'anions disposées sur des plaques de filtration.
- Technologie de la centrifugation avec utilisation des bras robotiques capables d‘ouvrir et de fermer des tubes **(Merel, 2007).**
Vu qu‘il existe une grande diversité de méthodes d‘extraction et de purification des acides nucléiques, le choix de la technique la plus adéquate repose généralement sur les critères suivants :
• L‘acide nucléique cible,
• L‘organisme source,
• La nature et la quantité du matériel de départ (tissu, feuille, graine, matériel transformé, volume disponible de l‘échantillon, nombre d‘échantillons, etc.),
•Les résultats escomptés (rendement, pureté, temps de purification requis,..) **(Allala ,2010).**

I-3- Amplification PCR et Séquençage des pucerons (Analyse d'ADN des pucerons)

Depuis environ 1990, plusieurs marqueurs d'ADN ont été utilisés, dont certains impliquent la réaction enchaîne par polymérase (PCR) et le séquençage. Parmi ces techniques celle de l'ADN amplifié de façon aléatoire polymorphique DNA RAPD (Randomly Amplified Polymorphic) **(Loxdale et Lushai, 2007 in labaal 2017).**
Piffaretti,(2012) utilise un test d’identification par PCR-RFLP (Restriction Fragment Lenght Polymorphisme), a été mis au point, et des marqueurs moléculaire sont été développés :
* 3 couples d’amorces ont été mis au point pour amplifier 3 fragments de gènes bactériens (Leu3F/Leu5R, MethelF/MethelR, Trpbel_F/Trpbel_R)
* la définition d’un nouveau couple d’amorces pour le gène nucléaire Aph afin d’avoir un meilleur rendement autant chez H1 que chez H2 (AphelicF/AphelicR)
* la definition d’un nouveau couple d’amorces pour amplifier un fragment du gène CytB des individus H2 collectes en Inde sur pêchers. (CytBhelicF/CytBhelicR).
*4 marqueurs microsatellites additionnels ont été développés et intégrés dans les PCR-multiplex.
- Amplification PCR : Pour l'analyse moléculaire, un seul individu de puceron d'une plante échantillonnée a été considéré comme un échantillon unique. L’amplification PCR a été réalisée dans un thermocycleur (Eppendorf) dans des volumes de 50 µl contenant 1–2 µl d’ADN génomique, 5 µl de chaque amorce (10 µM), 5 µl de tampon de réaction PCR, 5 µl de

mélange dNTP (2 mM chacun).), 4 à 8 µl de MgCl2 à 25 mM et 1,25 U de polymérase AmpliTaq Gold 360 (5 U / µl) et ddH2O à 50 µl. Les paramètres de cyclage étaient les suivants: dénaturation à 95 ° C pendant 10 min (1 cycle), dénaturation à 95 ° C pendant 30 ", recuit à 49 ° C pendant 30" et extension à 72 ° C pendant 30 "(32–37 cycles au total), et une extension finale pendant 5 min (1 cycle). Les produits de PCR ont été soumis à une électrophorèse sur de l'agarose Top Vision à 2% (Fermentas, Lituanie), colorés au bromure d'éthidium et calibrés sur une échelle à ADN MassRuler Low Range (Fermentas, Lituanie) sous lumière UV. Les produits de PCR ont été purifiés et séquencés chez Macrogen Europe (Amsterdam, Pays-Bas).

Les amorces d'amplification ont également été utilisées comme amorces de séquençage. Les séquences d'ADN de chaque échantillon ont été confirmées avec des brins sens et anti-sens et alignées dans l'éditeur de séquence BioEdit **(Hall ,1999).**

Nan Song et *al*.(2016), L'expansion rapide des ressources génomiques et l'explosion de nouvelles technologies de séquençage du génome révolutionnent la recherche en phylogénétique. Les chercheurs sont maintenant en mesure d'obtenir des données phylogénomiques par des moyens rapides et rentables. L'ARN-seq (séquençage d'ARN), également appelé séquençage complet du transcriptome, c'est une technologie qui exploite les capacités du séquençage de nouvelle génération pour révéler un instantané de la présence d'ARN, souvent utilisé pour générer des données de séquence à des fins d'études structurelles et fonctionnelles.
grande de clones d'ADNc échantillonnés correspondant aux transcripts mitochondriaux. Ainsi, il est possible d'extraire des gènes mitochondriaux en tant que sous-produit du séquençage du transcriptome.

L'ADNmt présente certaines propriétés, telles qu'une structure génétique simple, un héritage maternel et un très grand nombre de copies du génome, qui le rendent relativement facile à obtenir et largement utilisé dans l'étude de la phylogénétique, de l'évolution moléculaire et de la conservation génétique.

Des études antérieures ont montré que les génomes mitochondriaux (mitogenomes) sont des marqueurs fiables pour la reconstruction de la phylogénie parmi divers groupes d'insectes. En particulier, le gène mitochondrial de la sous-unité 1 du cytochrome oxydase

(cox1) a été utilisé comme code à barres d'ADN pour identifier les espèces, afin de contrôler et de surveiller les insectes qui menacent le plus les cultures telles que le blé, l'orge, les haricots et les pommes de terre. Cela a encore augmenté le taux de séquençage des gènes mitochondriaux. Comparé aux approches conventionnelles, le séquençage du transcriptome peut surmonter la difficulté de concevoir une masse d'amorces spécifiques à une espèce et d'amplifications longues par PCR. **Smith ,2013** a plaidé pour que les données d'ARN-seq soient une excellente ressource inexploitée pour étudier de nombreux aspects de la fonction et de l'évolution des organites. Il a notamment insisté sur le fait que les chercheurs ne négligent pas les séquences dérivées des mitochondries dans les données d'ARN-seq. Les bases de données du transcriptome produites par séquençage d'ARN incluent tous les PCG (complexes du groupe Polycomb) mitochondriaux et la plupart des gènes d'ARNr. À titre de comparaison, les gènes d'ARNt sont moins couverts. Cela pourrait être dû au fait que les rendements en ARNm sont bien supérieurs à ceux de l'ARNt dans l'ARN-seq, en raison de l'excision des endonucléases. Considérant que l'on pense que cette situation peut être améliorée en augmentant la profondeur de séquençage.

Traditionnellement, des données complètes sur le mitogenome ont été générées par des stratégies basées sur la PCR, qui peuvent facilement être confondues avec des matrices d'ADN dégradées, des amplicons PCR et des conditions de séquençage, des amorces spécifiques à une espèce, ainsi que la structure et l'organisation complexes du génome, etc. consommant et coûteux. En revanche, le séquençage de nouvelle génération peut surmonter ces difficultés et permet de déterminer plus efficacement des données complètes sur les gènes mitochondriaux, en particulier lorsque leur prix est devenu relativement moins cher aujourd'hui. Cette étude démontre l'utilité du séquençage du transcriptome pour obtenir des données complètes sur le mitogenome. Cependant, l'inconvénient évident de cette approche est l'incapacité à découvrir l'arrangement des gènes et à obtenir la région de contrôle mitochondrial directement à partir des données de transcription. De plus, le nombre de gènes mitochondriaux détectés par séquençage du transcriptome variait en fonction du niveau d'expression différent selon l'échantillonnage. L'échantillonnage comprend divers facteurs complexes, par exemple, différentes espèces d'insectes, différents stades de développement, sexes et biotypes. Dans cette étude, nous avons eu l'occasion d'échantillonner les formes ailées du puceron *Aphis craccivora* pour le séquençage du transcriptome. La mitochondrie est un organite cellulaire important responsable du métabolisme énergétique. Ainsi, des transcripts

avec d'abondants gènes mitochondriaux ont été obtenus et l'ensemble des 37 gènes mitochondriaux a pu être déterminé à partir du transcrit d'*Aphis Craccivora*.

En général, le séquençage du transcriptome peut fournir l'ensemble complet de PCG mitochondriaux (complexes du groupe Polycomb) et de gènes à ARN partiels, qui répondent à la nécessité d'une recherche systématique basée sur les séquences du mitogenome **(Nan Song et *al* .2016).**

Chapitre II: Synthèse sur l'évolution des pucerons

II- Synthèse sur l'évolution de quelques espèces de puceron

II-1- Le rôle des associations interspécifiques dans la diversification

Les pucerons sont associes de façon spécifique à leur plante hôte et présentent des régimes alimentaires varies (de la monophagie a la polyphagie) qui semblent avoir évolué plusieurs fois de façon indépendante. La diversification des pucerons a été causée non pas par le fait de resté sur son hôte mais par le changement d'hôte. Ce processus nécessite que la migration de puceron d'un hôte à un autre hôte mène à une isolation génétique entre deux populations qui vont éventuellement devenir deux espèces distinctes **(Favret et Voegtlin, 2004).**

La spécialisation pour un hôte donné peut limiter les flux de gènes et conduire à l'apparition de populations génétiquement distinctes associées à un hôte particulier (race d'hôte) ou de variantes génotypiques (biotypes) contournant les gènes de résistance de l'hôte et que l'on identifie généralement sur la base d'expériences de préférence/performance des individus **(Edmunds et Alstad, 1978 ; Rausher, 1983).**
La culture en plantations monoclonales favorise clairement la spécialisation et l'émergence de nouveaux biotypes chez les pucerons ainsi que leur expansion, comme dans le cas de l'apparition de la race d'hôte de *Myzus persicea* (Sulzer) associée au tabac **(Margaritopoulos et *al*. 2009).** L'apparition de biotypes et de races d'hôte adaptés à des cultivars particuliers est également observée chez les pucerons des arbres. Ainsi, dans les vergers de pommiers, quelques cas d'apparition de nouveaux biotypes du puceron lanigère du pommier, *Eriosoma lanigerum* (Hausmann), contournant le gène de résistance Er1 présent dans le génotype Northern Spy ont été rapportés **(Clintock, 1930 ; Giliomee et *al.* 1968).**

Une étude de **Labaal, (2017)** sur le puceron *Aphis spiraecola* des agrumes en Algérie révèle que les individus de ce puceron vivant sur le citronnier Algérien (C) et ceux colonisant le pomelo (P) / l'oranger (O), sont éloignés génétiquement . En revanche, les adultes trouvés sur l'oranger et ceux colonisant le pomelo, sont proches génétiquement.

Par ailleurs, il est constaté que les individus d'*A. spiraecola*, prélevés à partir du mandarinier (M), sont très différents génétiquement mais cette hétérogénéité n'est pas liée à la variété.
Les souches trouvées sur le mandarinier peuvent être réparties en 3 groupes (un groupe proche de C, un groupe proche de P / O et un groupe indépendant).
Le groupe T (citronnier tunisien) comprend un individu proche et un autre éloigné du groupe C (citronnier algérien).

Une étude phylogénétique de **Piffaretti, (2012)** du genre *Brachycaudus* a permis de montrer que l'une de ces espèces, *Brachycaudus helicrysii*, recouvrait probablement deux entités taxonomiques/ phylogénétiques distinctes. *B. helicrysii* (ou puceron vert du prunier) est une espèce normalement hétéroécique, c'est-à- dire qu'elle effectue son cycle de vie en alternant entre un hôte primaire et un hôte secondaire au cours de la saison. Ses hôtes primaires sont le prunier (*Prunus persicae*) et diverses autres espèces de Prunus. Ses hôtes secondaires appartiennent à des familles variées Composées (Tournesol, artichaut), Borraginacées. Certaines populations dans les régions à hiver doux effectuent l'ensemble de leur cycle sur leur hôte secondaire sans passer par une phase sexuée sur un hôte primaire (pucerons anholocycliques).

L'étude de **piffaretti, (2012)** des clones génétiques, les reconstructions phylogénétiques du genre Brachycaudus révèlent la divergence de deux clades au sein de l'espèce *B. helichrysi*, ils ont entamé la recherche d'allèles privés qui a mis en évidence de ces deux espèces sœurs H1 et H2, avec des modes de biologie différents, Un clade comprenant des populations se trouvant uniquement sur des espèces de Prunus, et un clade comprenant des populations qui sont à la fois sur Prunus et sur des espèces appartenant à la famille des composées (Senecio, Achillés..) et des Boraginaceae.

Au cours du processus d'alimentation de puceron russe du blé, *Diuraphis Noxia*, ils libèrent des toxines qui provoquent une décoloration des plantes dont ils se nourrissent. La toxine libérée à l'intérieur des plantes provoque leur décoloration et peut apparaître blanche, violette et jaune à l'œil nu. Lorsqu'ils se nourrissent de plantes en développement, ils peuvent empêcher la tête de la plante de se développer ralentir le développement des plantes). Dans certains cas, le puceron russe du blé blanchit les bords des grains de blé, interrompant ainsi leur développement **(Hein, et *al*.1989; Michaud et Sloderbeck, 2005).**

Le génome de *D. noxia* partage de nombreux gènes avec le puceron modèle actuel, *A. pisum*, mais sa taille, son architecture et ses processus génétiques fonctionnels varient.

Le génome de *D. noxia*, avec son composant élément modérément transposable et répétitif et moins de gènes totaux et de familles de gènes que celui présent dans *A. pisum* , présente un cas pour un degré élevé de conservation génomique dans le temps. La réduction du pourcentage d'éléments répétitifs dans le génome de *D. noxia* peut prendre en compte le nombre plus faible d'expansion de la famille de gènes par rapport à *A. pisum* , et va dans le sens de l'hypothèse selon laquelle l'évolution des insectes est dictée par l'expansion de l'élément transposable et la duplication de gènes. Le génome de *D. noxia* diffère également de celui de *A. pisum*, principalement en ce qui concerne les gènes régissant les processus de détection, d'acceptation et d'alimentation de l'hôte. Cet assemblage du génome décrit *D. noxia* comme une espèce uniquement adaptée à l'alimentation d'animaux graminés utilisant ses protéines salivaires pour modifier la morphologie et le métabolisme de l'hôte. Elle constitue un contraste important par rapport aux pucerons non phytotoxiques qui dépendent de la défense métabolique des plantes composés.

D. noxia possède un faible nombre de gènes de chimiorécepteurs par rapport à d'autres insectes, ce qui suggère qu'il repose peu sur la perception du goût et de l'odeur comme critère de survie. Il possède également beaucoup moins de gènes de détoxication et de défense que l'*A. Pisum* et d'autres insectes, ce qui implique que *D. noxia* a mis au point un autre moyen de contourner les défenses de l'hôte.

La salive des insectes joue un rôle crucial dans leur alimentation. Elle contient une grande variété de composés dont la spécificité d'action permet de disséquer certains mécanismes physiologiques qui régissent les interactions entre l'insecte et son hôte **(Harmel et *al*. 2009)**

Coustaue et *al*. (2015), décrièrent que le niveau d'homologie entre les séquences protéiques salivaires de *D. noxia* et leurs orthologues correspondants de *A. pisum* variait inversement avec l'abondance apparente de chaque protéine dans la salive. Les protéines salivaires communes des insectes telles que la glucose déshydrogénase, la tréhalase et l'apolipophorine figuraient parmi les protéines présentant la plus faible homologie avec leurs orthologues de *A pisum*. En revanche, les protéines salivaires de *D. noxia* qui n'ont pas été observées dans la salive d'autres insectes présentaient une plus grande homologie que les orthologues *d'A. Pisum* et d'autres espèces d'insectes. Cette découverte implique que l'expression des gènes salivaires, plutôt que la divergence des séquences, peut jouer un rôle

dans la spécificité de l'hôte et la phytotoxicité de *D. noxia*. La glucose déshydrogénase et l'apolipophorine sont parmi les protéines les plus courantes et les plus abondantes dans la salive des pucerons. De multiples protéines de glucose déshydrogénase sont présentes dans la salive des pucerons, mais leurs compositions d'acides aminés différentes suggèrent que chaque protéine remplit une fonction différente au sein de l'hôte végétal. L'apolipophorine, présente sous forme d'une copie d'un gène unique Chez *D. noxia*, *A. pisum* et la plupart des autres espèces d'insectes, a été utilisée pour examiner la relation phylogénétique de *D. noxia* avec d'autres arthropodes du point de vue d'un gène à copie unique conservé. Un arbre phylogénétique au maximum de probabilité dérivé d'un alignement d'apolipophorine provenant de onze espèces d'arthropodes a confirmé des schémas phylogénétiques connus, avec une ramification basale de la lignée de pucerons de l'holométabole et une divergence plus récente *de D. noxia* et *A. pisum*.

Nicholson et *al*. (2015) séquencent et assemblent le génome de *D. noxia* Biotype 2, la souche la plus virulente pour les gènes de résistance du blé. Les échafaudages génomiques assemblés couvrent 393 MB, soit 93% de son génome de 421 MB, et contiennent 19 097 gènes. *D. noxia* possède le génome d'insecte le plus riche en AT séquencé à ce jour (70,9%), et un ensemble complet de gènes liés à la méthylation. Le génome *de D. noxia* présente une réduction généralisée et étendue du nombre de gènes par groupe d'orthologues, y compris les groupes de défense, de détoxication, de chimio-sensibilité et de transporteurs de sucre, par rapport au génome d'*Acyrthosiphon pisum*, y compris une réduction de 65% des gènes de chimiorécepteurs. Trente des 34 gènes salivaires connus de *D. noxia* ont été découverts dans cette assemblée. Ces gènes présentaient moins d'homologie que les gènes salivaires couramment exprimés dans la salive des insectes, tels que la glucose déshydrogénase et la tréhalase, mais conservaient une plus grande conservation des gènes exprimés dans *D. salxia* mais non détectés dans la salive d'autres insectes. Des gènes impliqués dans l'activité insecticide et des gènes dérivés d'endosymbiotes ont également été trouvés, ainsi que des gènes impliqués dans la transmission du virus, bien que *D. noxia* ne soit pas un vecteur viral.

Une étude de **(Dubreuil, et *al.* 2015)**, concernant deux espèces de pucerons différentes : le puceron du pois *Acyrthosiphon pisum* et le puceron du pêcher *Myzus percicae*. Chez ces deux espèces, ils ont découvert la présence de plusieurs molécules MIF (facteurs inhibiteurs de la migration des cellules macrophages) dont cinq chez le puceron du pois et trois chez le

puceron du pêcher. Ces protéines qui sont déjà identifiés chez tous les scientifiques comme des protéines qui jouent un rôle important dans la modulation des réponses immunitaires chez les vertébrés mais n'ont pas encore été décrites chez le puceron. Parmi ces protéines, la MIF1, se retrouve dans les glandes salivaires des deux espèces de puceron. Elle est sécrétée avec la salive suggérant ainsi un rôle dans le processus d'alimentation du puceron.
Des travaux complémentaires ont montré que les pucerons ont besoin de MIF1 pour exploiter une plante (figure 1).

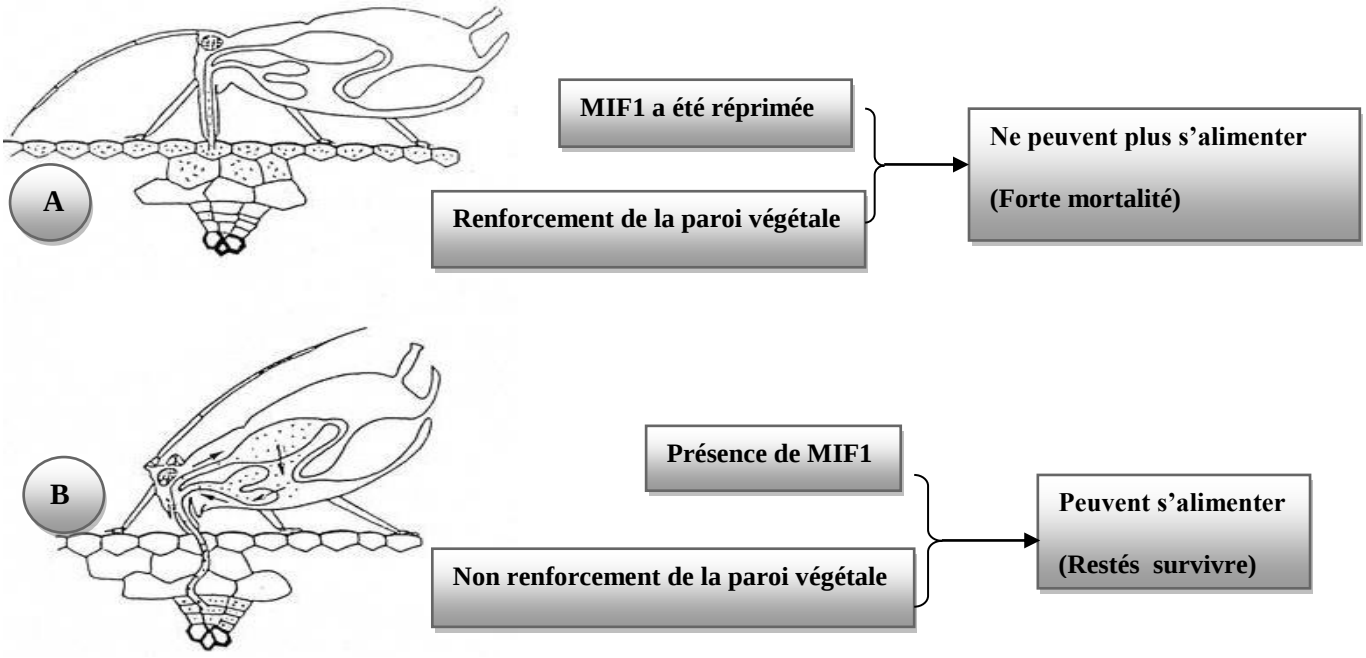

Figure 1 : Rôle des MIF1 dans l'alimentation des pucerons(Albouy et Devergne1998)

La pression osmotique de la sève phloémienne est beaucoup plus forte que celle de l'hémolymphe du puceron **(Karley, et *al*.2005)**, il est donc aisé d'imaginer que le transport des sucres abaissera ce gradient de concentration. L'annotation du génome d'*A. pisum* a mis en évidence l'absence de symporteurs sodium-sucres (ces protéines facilitent le mouvement contre un gradient de concentration). Le transport de sucres de l'intestin vers l'hémolymphe reposerait apparemment sur des uni-porteurs, protéines qui profitent du gradient de

concentration pour transporter les sucres de l'intestin dans les cellules épithéliales puis des cellules épithéliales vers l'hémolymphe. Le génome du puceron du pois contient un large nombre de gènes codant des uniporteurs, dont approximativement 200 gènes codant des protéines de la superfamille MFS (« major facilitator superfamily ») **(Rbtel,2011).**

II-2- L'évolution des associations insecte-plante

les espèces hétéroeciques sont associes à des plantes hôtes non apparentées et possédant des caractéristiques contrastées :souvent une ou des plante(s) herbacée(s) et une plante ligneuse. Les chercheurs ont remarqué que certains pucerons dite spécialiste sont devenu généralistes récemment pour cette raison ils ont décidé de séquencer les deux type (généraliste et spécialiste) pour déterminer le facteur responsable de cette évolution **(Legeai et Ridel ,2017)**. Ils ont déterminé que l'intérêt de disposer de plusieurs génomes d'espèces proches permet d'étudier des points communs à ces génomes de puceron. Par exemple, il semble acquis maintenant que les pucerons aient multiplié certains types de gènes, de manière assez spécifique, et en lien avec leur mode de vie tel que leur relation avec les plantes. Les résultats de ces comparaisons ont permis de montrer que la capacité du puceron vert du Pécher de se nourrir de nombreuses espèces de plantes est en partie corrélée au fonctionnement de gènes codant des protéines appelées « cathepsine B ». Chez les pucerons,
ces gènes sont présents en plusieurs copies dont certaines sont apparues récemment et spécifiquement chez le puceron vert du Pécher. Ces protéines sont des protéases (protéines qui dégradent d'autres protéines) qui dans le cas du puceron vert du Pécher pourraient être impliquées dans des fonctions digestives. Mais ceci reste à être démontré car la sève élaborée dont se nourrissent les pucerons ne contient pas ou très peu de protéines. Par contre, ces protéines, si elles sont injectées dans la plante, pourraient jouer un rôle dans la capacité de ce puceron à faire « accepter » sa présence par un grand nombre de plantes hôtes, en interférant sur l'aptitude de ces dernières à se défendre contre l'attaque des pucerons **(Site 4).**

plusieurs espèces du genre *Sitobion* **(Sunnucks et *al*. 1996; Wilson et *al*.1999**) se révèlent être purement clonales. L'espèce *Sitobion avenae* comprend deux super clones généralistes dont l'émergence a été favorisée par les pratiques agricoles **(Haack et *al*. 2000; Figueroa et *al*.2005).**

Enfin, *Aphis gossypii* est constitue de super clones, chacun spécialise sur quelques espèces de plantes hôtes, et sont distribues dans le monde entier **(Carletto et *al*. 2009).**

II -3- L'évolution du mode de reproduction

L'évolution et le maintien de la reproduction asexuée chez les pucerons, représentent les deux sujets les plus étudiés récemment dans plusieurs thèses, comme **(Delmotte, 2001; Halkett ,2004; Frantz, 2005; Peccoud ,2009)** dans lesquels les mécanismes évolutifs ont été décrits et étudiés de façon théoriquement et expérimentalement**.(Piffaretti, 2012).**
la reproduction sexuee ou la parthénogenèse apomictique laissent une signature génétique différente, du fait de réarrangements génomiques très contrastes après chaque événement de reproduction **(Meeus et Agnew 2007**; **Schurko et Logsdon 2009).**

Les études réalisées sur les pucerons des grandes cultures ont montré qu'il existait le plus souvent un cline latitudinal avec prédominance de clones anholocycliques dans les régions à hivers doux, de clones holocycliques dans les régions à hiver rude, et de clones intermédiaires dans les régions à hiver fluctuant **(Dedryver et *al*. 1998; Simon et *al.* 1999 ; Lewellyn et *al*. 2003).**

Trois principales voies de la perte de la sexualité ont été avancées (synthétisées dans **Simon et *al*. (2003))**, conduisant au contournement de la méiose lors de la production des gamètes femelles:

1/ une origine spontanée par mutation, qui serait faciliter dans un environnement ou les pressions de sélection sur la production d'œufs résistants seraient relâcher,

2/ une perte par hybridation interspécifique entre deux lignées sexuées, ou intra spécifique entre des mâles issus d'une lignée asexuée et des femelles de lignée sexuée (= parthénogenèse contagieuse),

3/ une origine infectieuse liée a une modification phénotypique induite par un micro organisme (e.g. Wolbachia).

Gauffre 2005, à déterminer aussi que *Sitobion avenae* présente des modes de reproduction différents selon la plante hôte (tableau 1).

Tableau 1 : répartition des modes de reproduction de Sitobion avenae par plante hôte (Gauffre 2005).

Plante hôte	Holocyclique		Intermédiaire		Anholocyclique		Androcyclique	
	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%
Blé	1	2,5	6	15	2	5	31	77,5
Orge	0	0	4	19	2	9,5	15	71,4
Avoine	1	8,3	2	16,7	0	0	9	75
Folle avoine	0	0	15	28,8	6	11,5	31	59,6
Brome	0	0	4	66,7	0	0	2	33,3
Dactyle	3	13,6	3	13,6	6	27,3	10	45,5
Houlque	0	0	1	50	1	50	0	0
Paturin	1	10	6	60	3	30	0	0
Total	6	4	41	25	20	12	98	59

Il existe des variations dans le mode de reproduction, les lignées « classiques » alternent annuellement une phase parthénogénétique et une phase sexuée ; elles sont qualifiées de lignées holocycliques ou « sexuées » par simplification. D'autres maintiennent une production d'individus parthénogénétiques en plus de formes sexuées (lignées mixtes ou intermédiaires). Certaines lignées se reproduisent exclusivement par parthénogenèse (lignées dites asexuées, clonales, ou encore anholocycliques). Voire ne produisent plus de femelles ovipares (lignées androcycliques).

Lorsque l'on regroupe les pucerons *Sitobion avenae* par mode de reproduction (sexué et asexué), la population « sexué » ne présente pas de différence significative entre hétérozygotie observée et hétérozygotie attendue (Ho=0.69 et He=0.70) tandis qu'il y a un excès significatif en hétérozygotes dans la population « asexué » (Ho=0.74 et He=0.67).

II-4 -Le déterminisme du polymorphisme

La morphes sexués ou asexués, ailes ou aptères et de la plasticité phénotypique (variation intra-spécifique d'un même morphe lié a la plante hôte ou aux associations bactériennes secondaires par exemple). L'étude de **Robin, (2011)** à révèle que la couleur des insectes est une caractéristique importante dans les relations prédateur-proie. Chez le puceron du pois *Acyrthosiphon pisum* , notamment, il a été montré que les coccinelles consomment plutôt les pucerons roses alors que les guêpes parasitoïdes attaquent de préférence les pucerons verts. Ces deux couleurs coexistent au sein d'une même population se qui signifié la présence ou l'absence de certains gènes impliqués dans la synthèse des pigments responsables de la coloration des pucerons **(Simon,2010).**

Par **Mélanie et *al*.(2017),** les symbiotes microbiens jouent un rôle crucial dans l'écologie et l'évolution de leurs porteurs en modifiant leur phénotype, c'est-à-dire l'ensemble de leurs caractères observables. Certains symbiotes assurent des apports nutritionnels à leurs porteurs, d'autres leur fournissent une protection contre un ennemi (figure, 2,3 et 4).

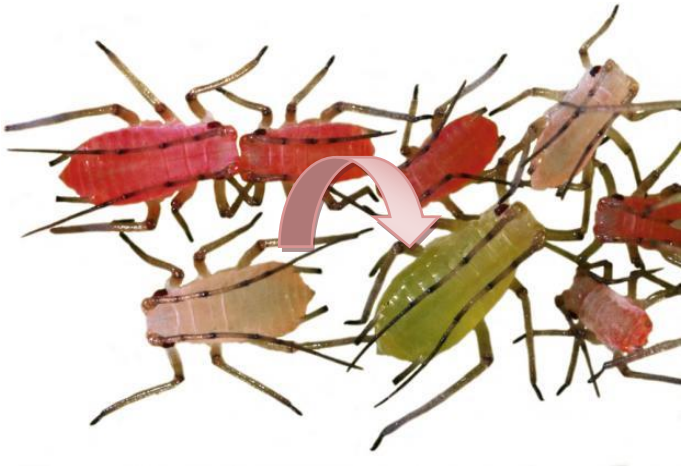

Figure 2: *Acyrthosiphon pisum* rose transforme en vert(espace-science.org 2011)

Le responsable de changement de couleur la bactérie *Rickettsiella* , la méthode facile basé sur l'utilisation des antibiotiques bien ciblés pour éliminer la bactérie et obtenir des lignées roses sains , ensuite Ils ont réinfecté certaines avec *Rickettsiella*. Le résultat était net , seules ces dernières changeaient de couleur après trois ou quatre jours **(Simon et *al* 2010).**

Figure 3 : coccinelle attaque les pucerons Roses (agriculteur fou)

Figure 4 : guêpe parasitoïde attaque les pucerons verts (Joseph Moisan-de serres)

D'après **Mélanie et *al.* (2017)** ; Un des symbiotes du puceron du pois, la bactérie *Hamiltonella defensa.* Le microorganisme confère aux pucerons qui l'hébergent une protection contre les attaques des guêpes parasitoïdes, leurs principaux ennemis naturels. Ces guêpes pondent leurs œufs à l'intérieur du corps du puceron. En se développant, la larve finit par tuer son puceron hôte. Si le puceron est associé à *Hamiltonella defensa*, le développement de l'œuf est bloqué par des toxines secrétées par la bactérie**.** Afin de comprendre comment ce symbiote microbien modifie le phénotype des pucerons du pois, les scientifiques ont analysé les effets liés à la présence d' *Hamiltonella defensa* dans différentes lignées de pucerons sur des plantes distinctes (pois, luzerne, trèfle, bugrane épineuse, genêt des teinturiers...). Un des défis des scientifiques a été de recréer en laboratoire les conditions de vie des pucerons, notamment la grande diversité des relations symbiotiques qu'ils possèdent, pour étudier au mieux l'effet de la bactérie sur leurs caractéristiques. Une symbiose protectrice variable et dépendante de nombreux paramètres. Trente lignées de pucerons ont été étudiées :

chacune différait pour sa composition symbiotique et la plante à laquelle elle est adaptée.

- La reproduction des générations ailées : Lorsque les pucerons sont attaqués par des prédateurs comme les coccinelles, ils produisent des descendants ailés par reproduction clonale (parthénogenèse). La production de descendants ailés en réponse à la prédation est donc un exemple de plasticité trans-générationelle puisque le génotype des individus ailés et non-ailés, deux phénotypes très différents, est le même. Cette variation phénotypique est essentiellement due au fait que la détection de prédateurs par les pucerons déclenche la mise en place de marques épigénétiques complexes ayant pour effet de modifier en profondeur l'expression d'un grand nombre de gènes dans la génération suivante **(Simon et *al.* 2012)** (Figure 5).

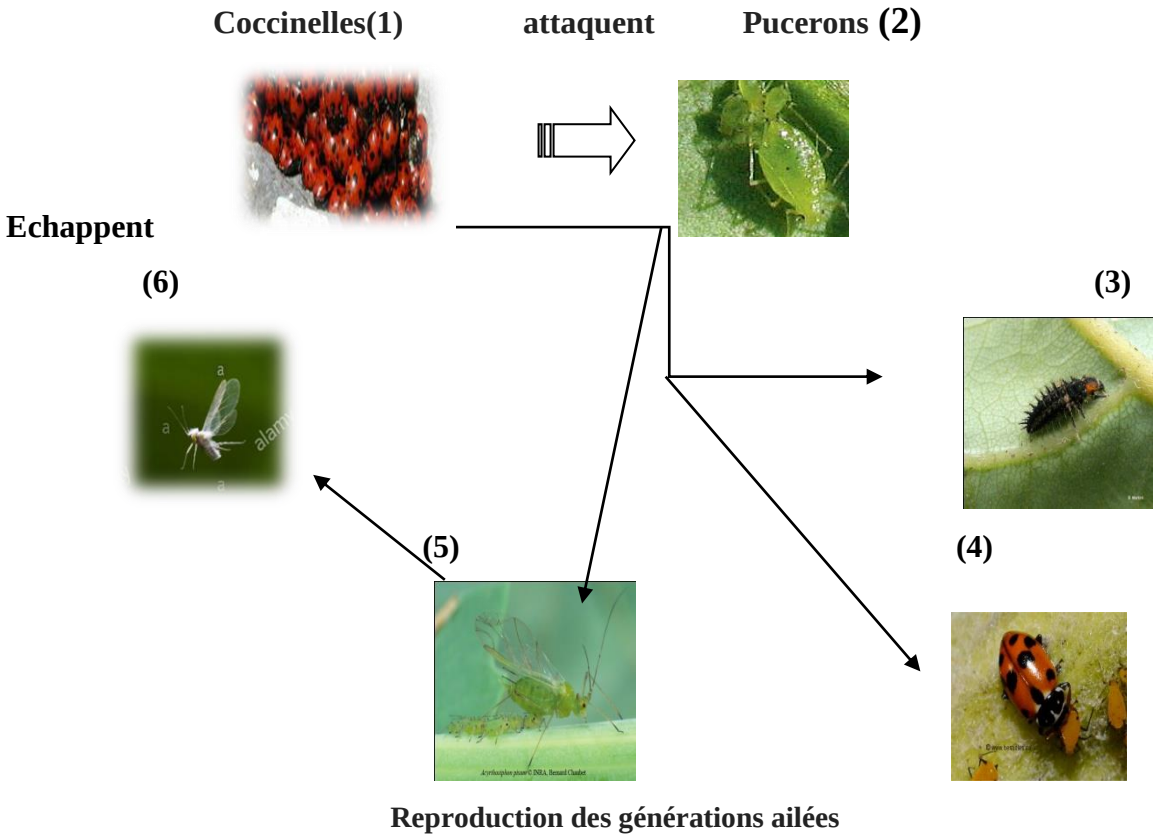

Figure 5 : reproduction des générations ailées pour échapper des coccinelles (1-Getty, 2-L.Jung, 3-D. Martiré, 4-Bestioles.ca, 5- Bernard chaubet, 6- Alamy)

Afin de tester la persistance du phénotype ailé une fois enlevé les prédateurs, les chercheurs ont généré à trois étapes de cette longue histoire de sélection des lignées parallèles dans lesquelles ils ont retiré les prédateurs. Ils ont constaté que plus les pucerons sont exposés longtemps à des prédateurs, moins le phénotype ailé persiste dans la population. Comme

attendu, les pucerons soumis longtemps à la prédation ont donc diminué leur capacité à faire des descendants ailés en présence de prédateur.

Aussi, ce qui concerne le puceron *Sitobion avenae* une étude par **Gauffre, 2005**, à montrer que, *S. avenae* présente un polymorphisme de couleur dont le déterminisme est au moins pour partie génétique. **Dedryver et *al*. (1994)** distinguent 4 types colorés, deux types clairs (vert clair et clair orangé) et deux types foncés (vert foncé et brun), en fonction de la plante hôte d'origine (figure 6).

Figure 6: Polymorphisme de couleur chez *Sitobion avenae* (Gauffre, 2005)

Le tableau 2 présente les nombres et les proportions respectives des deux types colorés en fonction de la plante hôte d'origine. Dans l'ensemble de l'échantillon, il a observe une prédominance du type clair sur le type foncé (87%).

Parmi les 166 clones de *S. avenae* étudiés nous avons identifié 67 allèles au total, soit respectivement 6, 13, 4, 8, 12 et 24 allèles pour les locus Sm17, Sm10, S5L, S4s, S17B et S16B et en moyenne un peu plus de 11 allèles par locus.

Trois des allèles du locus S17B sont caractéristiques des pucerons foncés (les allèles 210, 212 et 214). Ils sont présents dans ce groupe de pucerons en 41 exemplaires sur 44 possibles.

D'autre part, trois allèles sont très fréquents chez les pucerons clairs : 202 et 204 et surtout 195 présent chez près de 90% des pucerons clairs. Enfin, 39 clones clairs possèdent un allèle typique des pucerons foncés à l'état hétérozygote et seulement 3 individus clairs portent deux allèles « foncés ».

Tableau 2 : répartition des types colorés de *Sitobion avenae* par plante hôte (Gauffre 2005).

Plante hôte	Foncé		clair	
	effectif	%	effectif	%
Blé	1	2,5	39	97,5
Orge	2	9,5	19	90,5
Avoine	1	8,3	11	91,7
Folle avoine	2	3,8	50	96,2
Brome	0	0	6	100
Dactyle	5	22,7	17	77,3
Houlque	1	50	1	50
Pâturin	10	100	0	0
Total	22	13	143	87

- Evolution au changement environnemental : L'idée de cette étude à commencer quand les scientifiques ont remarqué que les pucerons *Acyrthosiphon pisum* sont verts quand il fait froid (8 °C), orange en conditions de vie optimales (22 °C) et blanc si la population est trop grande et les ressources peu nombreuses. Leurs but est de répondre à la question :(quel avantage pourrait-il y avoir à générer soi-même et en aussi grande quantité des caroténoïdes ? **(Alain et *al.*2012).**

Les caroténoïdes sont des pigments synthétisés dans les chloroplastes des plantes et par certains organismes photosynthétiques comme les algues, quelques bactéries et des champignons. Comme ils sont polyinsaturés et hautement conjugués, ils absorbent facilementla lumière, dans le bleu en général, d'où la coloration rouge orangé entourant la source chaude **(Site 2).**

Les carotènes les plus couramment rencontrés sont le β-carotène et le lycopène, les pigments qui respectivement confèrent la couleur orangée des racines des carottes et la couleur rouge des tomates mûres **(Site 3).**

La structure de base du carotène est hautement hydrophobe et incluse dans la bicouche lipidique. D'autre part, la liaison non covalente aux protéines circulantes de l'hémolymphe, quiles rendent solubles dans l'eau et / ou transportables, représente une fraction importante de la charge totale de caroténoïde chez les pucerons. Ces molécules présentent des couleurs allant du jaune au orange, mais une modification chimique et / ou une liaison aux protéines peuvent déclencher des changements vers le vert ou le brunâtre. Leurs fonctions sont bien documentées dans la photosynthèse des plantes, où elles recueillent de l'énergie lumineuse pour la chlorophylle et éliminent l'oxygène **(Christian et *al* .2012)**

Le puceron *A. pisum* peut donc présenter une forte charge de carotène conférant une couleur orange intense en fonction du contexte environnemental. Cependant, de nombreux autres pigments sont également synthétisés dans cette espèce **(Alain et *al.*2012).**

Dans cette étude les scientifiques sont analysés les composants caroténoïdes de quelques variantes présentant une pigmentation singulière (verdâtre, orange et jaune / blanc pâle). Les descendants de pucerons d'une mère fondatrice unique ont été placés dans différents environnements défavorables afin de sélectionner des variantes viables et robustes dans des contextes de clonalité. Ils ont trouvé de manière surprenante, une souche adaptée au froid a été obtenue après un processus de sélection et présente une pigmentation verdâtre singulière. Le panel de molécules de carotène trouvées dans les phénotypes vert et orange a été analysé de manière approfondie par spectrométrie de masse après extraction / isolement chromatographique et également par la technologie d'imagerie Raman directement sur des pucerons vivants afin de révéler la signature du carotène. Les fonctions physiologiques supposées pouvant utiliser des molécules de caroténoïde ont été étudiées.

***L'expérience comme suit:**

Dix pucerons adultes orange ont été placés chaque jour à 8 ° C pendant cinq mois avant d'obtenir une colonie viable et robuste de variantes verts. (Figure 7).

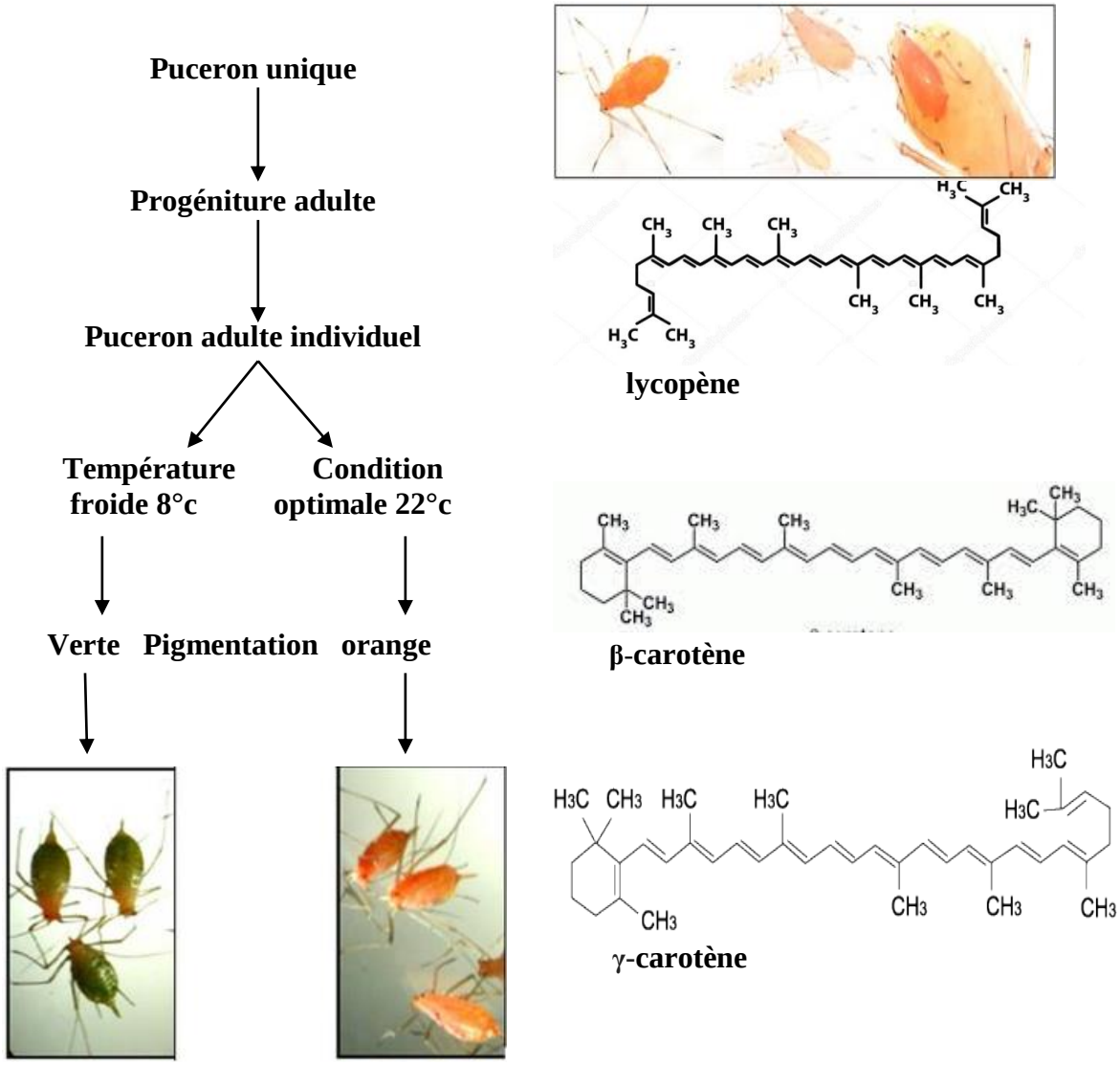

Figure 7 : protocole utilisé pour sélectionner la variante verte (valmalette et *al.*2012)

Les résultats : Par chance, les descendants des pucerons adultes orange n'ont pas survécu à 8 ° C, la plupart des larves sont mortes du stade larvaire de 1 à 4. Les conditions froides (8 ° C) ont permis de sélectionner une lignée viable et robuste de pucerons verts parmi les descendants oranges d'une mère fondatrice unique adaptée à 22 ° C. Fait important, le passage à la variante verte adaptée au froid n'a jamais eu lieu chez les adultes orange, ce qui exclut une induction enzymatique directe. Le phénotype vert est héréditaire dans les conditions dans lesquelles il a émergé, mais sa pigmentation singulière s'estompe lorsqu'il est replacé dans des conditions optimales à 22 ° C. Ceci démontre qu'une population de pucerons clonaux sous pression de sélection est capable de générer des traits complexes guidant l'aptitude environnementale et sous-tendant le recrutement de réseaux de gènes. Le scénario exclut la sélection d'allèles en tant qu'explication (succès de l'adaptation phénotypique trop rapidement pour impliquer un processus darwinien) et soutient fortement l'hypothèse d'une régulation épigénétique. Le mécanisme pourrait résider dans la méthylation extensive de l'ADN en tant que signal moléculaire permettant de transmettre des caractères complexes dans le cadre d'un génome inchangé. En revanche, si la pigmentation rose / orange est dominante à 22 ° C dans des conditions optimales (faible densité de population et ressources abondantes), la dégradation des conditions (raréfaction des ressources, forte densité de population) provoque la disparition progressive du rose / orange phénotype et son remplacement par des couleurs pâles / blanches / jaunes. La plasticité de la couleur pâle (changement de couleur orange à pâle / blanc / jaune) est induite proportionnellement par l'augmentation de la densité de population et la raréfaction des ressources. Le phénotype pâle / blanc / jaune), reflète un environnement défavorable et peut être considéré comme une forme de survie qui a rejeté certains processus biochimiques moins essentiels pour minimiser les coûts énergétiques (figure 8).

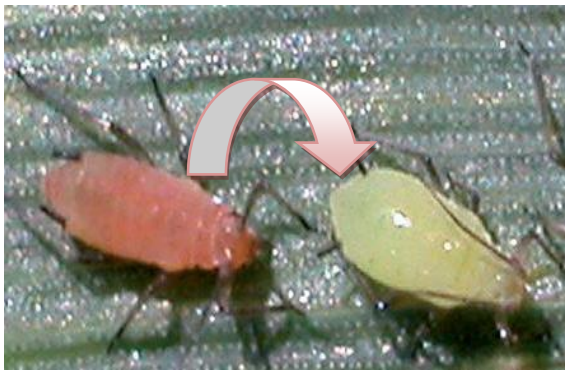

Figure 8 : Le phénotype blanc raréfaction des ressources (Arvalis)

II-5- L’évolution et le maintien des associations biologiques (Cospéciation)

Comme de nombreux insectes, les pucerons abritent une endosymbiose bactérienne, impliquant ici une bactérie du genre *Buchnera.* Comme les pucerons sont faciles à se procurer, à se élever, et se reproduisent très rapidement, le couple puceron-*buchnera* est devenu l’un des modèles d’association symbiotique les mieux étudiés. Ces travaux ont ainsi mené à plusieurs découvertes de portée très générale sur la symbiose. La bactérie est située à l’intérieur des cellules de deux organes symétrique appelés bactériomes qu’on ne trouve que dans l’abdomen des insectes symbiotiques (Douglas, 1998). *Buchnera* reçoit des sucres de son hôte et produit les 10 acides aminés essentiels que ce dernier est incapable de synthétiser, avant de les transmettre. La symbiose est obligatoire pour les deux partenaires. Un puceron traité aux antibiotiques et donc dépourvu de symbiotes ne peut plus croitre ni se reproduire, et *Buchnera* ne survit pas quand on l’isole de sont hôte **(Duperron, 1988).**

Une étude de**Yuan-Chen et *al* .(2016)**,la plante hôte détermine la taille de la population d'un symbiote obligatoire *Buchnera aphidicola* chez les pucerons, Une expérience a été effectué sur Six espèces de plantes hôtes, (coton, citrouille, niébé, courgette, concombre et Hibiscus), et des cultures de clones d’*Aphis Gossypii* collectées sur coton et du concombre qui ont été élevées pendant 12 ans sur ces plantes hôtes dans des chambres de croissance à 24 ± 1 ° C avec un cycle lumière / obscurité de 14 h / 10 h et une humidité relative de 70 à 80%. Les cultures ont été fondées sur des pucerons récoltés dans des champs agricoles en juillet 2001 à Nanjing, puis maintenues sous forme de lignées asexuées. Des populations naturelles d'A. Gossypii ont été échantillonnées chez cinq espèces de plantes hôtes: des pucerons d'hibiscus ont été collectés le 23 avril 2013 sur le campus de l'Université agricole de Nanjing (n [nombre de pucerons] = 22), puis de pucerons du coton (n = 24), le concombre (n = 24), la citrouille (n = 24) et la courgette (n = 24) ont tous été recueillis le 8 septembre 2013 à la station expérimentale de l'Université agricole de Nanjing.

Les feuilles ont été remplacées avant de se faner tous les 3 à 4 jours. Après avoir produit suffisamment de descendants pour initier des colonies de laboratoire, les pucerons récoltés dans les différentes cultures ont été conservés dans de l'éthanol à 75% à -20 ° C, puis dosés pour détecter des endosymbiontes bactériennes facultatives. Un échantillon de pucerons âgés de 5 jours de la première génération sur chaque feuille de plante hôte a été prélevé pour

évaluer la densité de *Buchnera*. Tous les échantillons ont été génotypés et issus d'un puceron de chaque génotype utilisé pour fonder une lignée qui a été élevée sur des courgettes. Après l'extrait de l'ADN bactérien, Le diagnostic PCR a confirmé que ces bactériocytes contenaient *Buchnera*. La densité de bactériocytes a été utilisée pour évaluer la taille de la population de *Buchnera.* Les tailles de population de *Buchnera* dans les pucerons maintenues en laboratoire sur le coton et le concombre ont été mesurées, et pour le Génotype et l'endosymbiose de pucerons, les résultats ont révélé aux Quatre génotypes (I, II, III et IV) trouvé dans les collections de 106 individus d'*A. Gossypii* provenant d'hibiscus, de coton, de concombre, de citrouille et de courgettes à Nanjing, en Chine. Les pucerons sur l'hibiscus et le coton appartenaient principalement au génotype II, tandis que ceux du concombre et du potiron appartenaient principalement au génotype IV. Les pucerons sur les courgettes étaient les plus divers, les génotypes II, III et IV étant tous présents et le III étant le plus commun.

Le nombre moyen de bactéries dans les pucerons maintenus sur le concombre était significativement supérieur à celui des bactéries maintenues sur le coton. La taille de la population de *Buchnera*, mesurée par le rapport de la densité des gènes du symbiote à l'hôte, était 2,7 fois plus élevée chez le concombre que chez le coton. La correspondance entre les résultats bactériocytes et qPCR indique que ces derniers peuvent être utilisés pour évaluer la taille de la population de *Buchnera* chez les pucerons. Les populations de *Buchnera* différaient également fortement entre les populations naturelles d'A. Gossypii collectées à partir de coton, de concombre, d'hibiscus et de courgettes, les pucerons d'hibiscus et de courgettes présentant des effectifs plus élevés que ceux de coton et de concombre, et pour déterminer la relation entre la densité de Buchnera et l'utilisation des pucerons par l'hôte un transfert des pucerons vers une nouvelle plante hôte, les densités de *Buchnera* chez *A. gossypii* montrent généralement des fluctuations marquées avant de se stabiliser à un nouvel équilibre pouvant varier selon les plantes hôtes. Ces fluctuations ne se produisaient pas si les pucerons étaient transférés sur des feuilles de la même espèce sur laquelle ils avaient été maintenus en laboratoire.

Par exemple, les densités de *Buchnera* chez les pucerons élevés depuis plus de 10 ans sur du coton fluctuaient énormément lorsqu'elles étaient transférées sur des courgettes et du niébé, mais elles variaient peu lorsqu'elles étaient laissées sur du coton, lorsque les pucerons des

populations de coton ont été élevés sur des courgettes pendant cinq générations et ceux des concombres ont été élevés sur du niébé pendant une génération, ils ont pu utiliser le nouvel hôte, ce qui suggère un élargissement dans l'alimentation. Lorsque les pucerons de la population de coton ont été élevés sur des courgettes, les densités de *Buchnera* ont considérablement augmenté et se sont approchées de leur niveau chez les pucerons des populations de concombres. En revanche, les densités de *Buchnera* chez les pucerons des populations de concombres ont chuté au niveau atteint chez les pucerons du coton quand ils ont été élevés sur du niébé. Les changements dans les processus de la population de *Buchnera* fournissent ainsi un niveau de plasticité phénotypique qui peut être particulièrement précieux dans un organisme largement clonal tel qu'un puceron.

- **Evolution de la résistance aux insecticides :** L'ADN d'environ de 200 pucerons échantillonnés en pomme de terre à travers la Wallonie a été analysé pour mettre en évidence la présence de mutations spécifiques conférant à son porteur une résistance aux pyréthrinoïdes (mutations L1014F, M918T et M918L, dites kdr et Super-kdr (Knock-Down Resistance), aux carbamates (MACE) (Modified AcetylCholinEsterase) et/ou aux néonicotinoïdes (R81T).

Les résultats indiquent que moins de 2% des pucerons testés ne présentent aucune résistance. Une présence très importante des résistances aux pyréthrinoïdes est mise en évidence, avec plus de 98% des pucerons porteurs d'au moins une des trois mutations connues et certains pucerons porteurs de plusieurs de ces mutations à la fois. La résistance aux carbamates est également bien présente, avec environ 40% des échantillons positifs. Par contre, aucun puceron n'était porteur de la mutation leur conférant une résistance aux néonicotinoïdes. La fréquence de la présence des résistances aux pyréthrinoïdes est interpellant, surtout quand on réalise que 25 des 35 produits utilisés en pomme de terre pour lutter contre la transmission des viroses appartiennent à cette famille et que ces insecticides sont proposés comme alternative aux néonicotinoïdes en betterave pour lutter contre la transmission des virus de la jaunisse **(Domininque, 2018).**

Conclusion:

A la suite de cette étude nous avons pu conclure que : l'étude détaillé des pucerons basée sur, (Extraction d'ADN, Séquençage, et PCR….), par les chercheurs se modifiée, par des méthodes classiques : comme (Méthode Salines, Méthode du Chelex 100, Méthode de Doyle et Doyle (1987) et Méthode Phénol-Chloroforme….), à des méthodes récents : (les kits) vers l'automatisation qui utilise les appareils les plus diffusés capables d'extraire l'ADN d'une façon entièrement automatique sur n'importe quel type d'échantillon, et en moins de 3 heures. Toutes ces méthodes se défèrents l'un de l'autre, soit par les produits utilisés, soit par les étapes ; mais tous, sont utiliseés pour le même but qui donne une vision spéciale de l'histoire de la diversification (l'évolution) des pucerons comme l'exemple de la résistance aux insecticides (*Myzus percicae*), ou l'existence de deux sous-espèces sœurs appelés clade d'une même espèce du puceron *Brachycaudus helichrysi.*

Elle suppose, la prise en compte d'interactions fonctionnelles et génétiques entre des formes qui évoluent très différentes exemple, la Polymorphisme de couleur qui due, soit à l'association a une bactérie (*Acyrthosiphon pisum* **),** soit à la plante hôte (*Macrosiphum euphorbiae et Sitobion avenae* **),** ou à la façon de défendre contre les prédateurs, comme nous avons vu soit : par reproduction des générations ailées, soit à l'association à une bactérie secondaire.

L'histoire de l'évolution des pucerons à une dynamique complexe des changements et de l'adaptation liée au changement climatique (Température), la géographie, (région chaude, tropicale….) la plante hôte, et les prédateurs (nombre élevé ou moins élevé) d'une part, et à l'intervention de l'activité humaine (utilisation des insecticides) d'une autre part.

Finalement, le secret de la longévité de cet espèce depuis plusieurs siècles, se résume dans la grande capacité adaptative aux différents changements environnementale par le phénomène de l'évolution, ces mécanismes nous apparaître très mystère, et comme il a dit Darwin « L'évolution est le moteur de la diversité », les chercheurs ont besoin plus des recherches et de matériel plus spécifiques pour mieux comprendre ces mécanismes.

Références bibliographiques

***Alain Robichon ;Jean Christophe ; Valmalette ;Aviv Dombrovsky ;Pierre Brat ; Christian Mertz ,2012** «Light- induced electron transfer and ATP synthesis in a carotene synthesizing insect» le journal « scientific reports » 2, Article number: 579.

***Allala ,2010** « Comparaison de méthodes d'extraction de l'ADN de lapin à partir du sang : Fiabilité et Coût » Projet de Fin d'Etudes .Université de 7 Novembre , Tunis. 59p

***Anu Singh Cundy, Gary Shin 2017**« Découvrir la biologie » deuxième édition, chapitre14 L'évolution à l'œuvre, la sélection naturelle conduit à l'évolution adaptative, page 316.

***Bouallègue Maryem ,2017** « plasticité des génomes des pucerons des céréales et de leur plante hôte : recherche in silico et in vitro des éléments transposables des superfamilles tc1-mariner-is630 et piggybac » thèse de doctorat. de l'univ de Tunis l manar et de l'université paris-saclay, page,51-52.

***Braendle, C., Davis, G. K., Brisson, J. A. et Stern, D. L,2006** « Wing dimorphism in aphids» article Heredity, 97, 192–199. Short Review | Published: 05 July 2006

***Brisson, Jennifer. A, 2010** « Aphid wing dimorphisms: linking environmental and genetic control of trait variation» article :Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, Published 27 February 2010.

*** Carletto, J., E. Lombaert, P. Chavigny, T. Brevault, L. Lapchin, et F. Vanlerberghe-Masutti, 2009** «Ecological Specialization of the Aphid Aphis gossypii Glover on Cultivated Host Plants» Molecular Ecology 18 (10) (mai 1): 2198-2212. doi:10.1111/j.1365- 294X.2009.04190.x.

***Christian Mertz ,Alain Robichon ;Jean Christophe ; Valmalette ;Aviv Dombrovsky ;Pierre Brat ,2012** «Light- induced electron transfer and ATP synthesis in a carotene synthesizing insect» le journal « scientific reports » 2, Article number: 579.

***Cockburn. A. F et Fritz, G. A,1996** «Isolation and purification of insect DNA» In: Clapp J. P. (ed.), Species Diagnostics Protocols: PCR and Other Nucleic Acid Methods, Ed.

***Coustau, E Harald Keller, Christine. Naessens, G. Dubreuil, P. Giordanengo, O. Baron, N. Minet-Kebdani, 2015** «A secreted MIF cytokine enables aphid feeding and represses plant immune responses» publiés dans la revue Current Biology. 1898-903. doi: 10.1016/j.cub.2015.05.047. Epub 2015 Jun 25.

***Dajoz Roger, 2012** L'évolution biologique au XXIe siècle: les faits, les théories, page 4.

***Darwin Charles, 1866** : «De l'origine des espèces par sélection naturelle ou des lois de transformation des êtres Organisés» Page 15 et 16.

***Dedryver, C. A., J. F. Le Gallic, et *al*. 1994** « Local intraspecific variation in the cereal aphid *Sitobion avenae* F» IOBC/WPRS Bulletin 17(4): 16-19.

***Dedryver, C. A., J. F. Le Gallic, et *al.* 1998** « Life cycle of the cereal aphid *Sitobion avenae* : polymorphism and comparison of life history traits associated with sexuality » Ecological Entomology 23(2): 123-132.

***Delmotte ,2001** « Evolution des modes de reproduction chez le puceron *Rhopalosiphum padi* (L.) »: Rapports de la génétique des populations et de la phylogénie moléculaire ». Biologie, Ecole nationale supérieure d'Agronomie de Rennes.

* **Dobzhansky Theodosius, 1973**« Nothing in Biology Makes Sense Except in the Light of Evolution», American Biology Teacher, vol. 35, no 3, mars 1973, p. 125 129 (JSTOR 4444260) ;réédité par J.Peter Zetterberg (dir.), *Evolution versus Creationism*, ORYX Press, 1983.

*** Domininque Mingeot ; Jansen, J.P ,2018** «Le puceron, Myzus persicae » : monitoring de la résistance aux insecticides enWallonie, des résultats préliminaires interpellant, magazine (CRA-W INFO) volume 59,page 2.

***Douglas AE,1998** « Nutitional intéraction in insect-microbien symbioses :aphids and their symbiotic bacteria *Buchnera* »,Annual Revieu of Entomology,vol.43,page 17-37.

***Douglas A. E,2005** « The significance of gut sucrase activity for osmoregulation in the pea aphid, Acyrthosiphon pisum. » Journal of Insect Physiology, , 51(12): 1313-1319.

***Dubreuil. P; Harald Keller;Christine Coustau, E. Naessens, G;Giordanengo, O. Baron, N. Minet-Kebdani, 2015** « A secreted MIF cytokine enables aphid feeding and represses plant immune responses » publiés dans la revue Current Biology. 1898-903. doi: 10.1016/j.cub.2015.05.047. Epub 2015 Jun 25.

***Duperron Sébastien** « Les symbioses microbiennes associations au cœur du vivant » page 44.

***Estelle POSTIC, 2016** «Caractérisation de pucerons et efficacité des parasitoïdes dans le cadre d'un programme de lutte biologique en culture de fraisier sous abri » Mémoire de stage Présenté pour l'obtention du diplôme d'ingénieur agronome Montpellier.25 p

***Favret Colin et Voegtlin David J, 2004** «Speciation by host-switching in pinyon Cinara (Insecta: Hemiptera: Aphididae) » Mol Phylogenet Evol. 2004 Jul;32(1):139-51.

*** Figueroa, C C, J-C Simon, J-F Le Gallic, N Prunier- Leterme, L M Briones, C-A Dedryver, etH MNiemeyer, 2005** "Genetic structure and clonaldiversity of an. introduced pest in Chile, the cereal aphid Sitobion avenae ". Heredity 95 (1)(avril 20): 24-33.

*** Franck Antoine, 2008** « capture conditionnement expedition mise en collection des insectes et acariens en vue de leur identification » page 20.

***Frantz, Adrien, 2005** « Spécialisation écologique du puceron du pois, *Acyrthosiphon pisum* » Différenciation génétique et phénotypique entre races d'hôte». pour obtenir le diplôme de docteur de l'institut superieur des sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage Spécialité : Biologie – Agronomie 165p.

***Gauffer Bertrand, 2005** «Spécialisation écologique et mode de reproduction chez le puceron *Sitobion avenae* dans les paysages agricoles» Thèse Master 2 recherche : Ethologie, Ecologie, Evolution Ecole doctorale Vie-Agro-Santé ; université de Rennes France page 36.

*** Haack, L., J. C. Simon, J. P. Gauthier, M. Plantegenest, et C. A. Dedryver,2000** 2066. "Evidence for predominant clones in a cyclically parthenogenetic organism providedby combined demographic and genetic analyses". Molecular Ecology 9 (12) (decembre): 2055- doi:10.1046/j.1365- 294X.2000.01108.x.

***Halkett Fabien, 2004** Dynamique et génétique des lignées du puceron *Rhopalosiphum padi* en interaction lors de la reproduction sexuée : conséquences pour le maintien du polymorphisme des stratégies de reproduction ».Thèse de doctorat en Biologie et agronomie**.**

***Hall .Thomas A ,1999** BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. Department of Microbiology,North Carolina State University, Raleigh, NC 27695,USA. 1999 Oxford University Press.

*** Harmel N, eric Haubruge, Frédéric Francis, 2010** « Etude des salives de pucerons : un préalable au développement de nouveaux bio-insecticides » Biotechnol. Agron. Soc. Environ.14(2), 369-378**.**

***Hein, G., F. Baxendale, J. Campbell, A. Hagen, J. Kalisch,1989** "G89-936 Russian Wheat

Aphid" (On-line). Accessed March 01, 2014 at http://digitalcommons.unl.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=2096&context=extensionhist&seiredir=1&referer=http%3A%2F%2Fwww.google.com%2Furl%3Fq%3Dhttp%253A%252F%252Fdigitalcommons.unl.edu%252Fcgi%252Fviewcontent.cgi%253Farticle%253D2096%2526context%253Dextensionhist%26sa%3DD%26sntz%3D1%26usg%3DAFQjCNGEHwxqOEAO6TNkgLGIW_kS9UCiiQ#search=%22http%3A%2F%2Fdigitalcommons.unl.edu%2Fcgi%2Fviewcontent.cgi%3Farticle%3D2096%26context%3Dextensionhist%22.

***Jalalizand Ali Reza; Hosein Mirhendi ; Azadeh Karimi ; Mehrdad Modaresi; Esmaeil Mahmoodi ,2012** « Morphological and Molecular Identification Aphids of Rosae »Volume 4, 2012, Pages 12-15 APCBEE Procedia. https://doi.org/10.1016/j.apcbee.2012.11.003

***Lambers, D. H. R, 1966 "**Polymorphism in Aphididae" Annual Review of Entomology,11, 47–78.

***Lebbal Salim,2017**« Etude bioécologique des pucerons inféodés aux agrumes dans la région de Skikda » Thèse Doctorat en Science. Université de Batna ,113p.

***Legeai Fabrice et Arnaud Ridel ,2017** « Génomique des Pucerons » article Publié dans la revue Genome Biology est le fruit de collaborations entre des laboratoires anglais, américains et français, dans le cadre du Consortium International de la (IAGC pour International Aphid Genomics Consortium). PUBLIÉ LE 28/04/2017.

***Llewellyn, K. S., H. D. Loxdale, et *al.* 2003** « Migration and genetic structure of the grain aphid (*Sitobion avenae*) in Britain related to climate and clonal fluctuationas revealed using microsatellites » Molecular Ecology 12(1): 21-34.

***Loxdale H. D et Lushai G, 2007** Population genetic issues: The unfolding story using CAB molecular markers. In: van Emden H. F. & Harrington R. (eds.), Aphids as Crop Pests, Ed. International (UK), 31 - 67.

***Margaritopoulos, J. T., Tsitsipis, J. A., Zintzaras, E. et Blackman, R. L, 2000** Host-correlated morphological variation of Myzus Persicae (Hemiptera: Aphididae). populations in Greece. Bulletin of Entomological Research,90, 233–244

***Margaritopoulos, J. T., L. Kasprowicz, G. L. Malloch, et B. Fenton , 2009** «Tracking the Global Dispersal of a Cosmopolitan Insect Pest, the Peach Potato Aphid». BMC Ecology 9 (1): 13.

*** Meeûs, T., F. Prugnolle, et P. Agnew, 2007** « Asexual reproduction: Genetics and evolutionary aspects ». Cellular and Molecular Life Sciences 64 (11): 1355-1372.

***Mélanie Leclair, Inèse Pon, Frédérique Mahéo, Stéphanie Morlière et *al*. 2017** » evolutionary aspects ». Cellular and Molecular Life Sciences 64 (11): 1355-1372. «L'association avec une bactérie symbiotique enrichit la diversité du puceron du pois L'étude est faite par des chercheurs de l'Institut de Génétique Environnement Plantes (IGEPP) du centre Inra Rennes Bretagne-Normandie,. Leurs résultats publiés dans la et Protection des revue :Evolutionary Ecology.

***Merel Patrick, 2007** «Automatisation et biologie moléculaire : de l'extraction des acides nucléiques à la PCR temps-réel » Spectra Biologie, n°162: p88, [12-05-2010]. Available from internet «URL: http://www.spectra biology.com »

***Michaud J. P, J.P. Sloderbeck, 2005 "**Russian wheat aphid An introduced pest of small grains in the High Plains" (on-line pdf). Kansas State University. Accessed March01, 2014 at http://www.ksre.ksu.edu/bookstore/pubs/mf2666.pdf.

***Miller, G. L. et Foottit, R. G,2009 "**The taxonomy of crop pests: the aphids. Insect Biodiversity" Science and Society. West Sussex, UK: John Wiley and Sons.

***Minks, A. K. et Harrewijn, P,1987** "Aphids: Their Biology,Natural Enemies, and Control" Amsterdam, the Netherlands Elsevie.

***Nan Song, Hao Zhang , Hu Li , Wanzhi Cai ,2016** «All 37 Mitochondrial Genes of Aphid *Aphis craccivora* Obtained from Transcriptome Sequencing: Implications for the Xiao-Yue Evolution of Aphids » Published online 2016 Jun 17. doi: 10.1371/journal.pone.0157857. Hong,editor.

*** Nevo, E., et Coll, M, 2001 "**Effect of Nitrogen Fertilization on Aphis gossypii (Homoptera: Aphididae): Variation in Size, Color, and Reproduction. Journal of Economic Entomology, 94(1), 27-32. doi:10.1603/0022- 0493-94.1.27

***Nicholson Scott J; Michael L; Nickerson,Michael Dean,Yan Song,Peter R Hoyt;Hwanseok Rhee,Changhoon Kim et Gary J Puterka, 2015** « The genome of Diuraphis noxia, a global aphid pest of small grains. » BMC Genomics 2015 Jun 5;16:429. doi: 10.1186/s12864-015-1525-1.

***Peccoud, Jean,2009** « Spéciation écologique et radiation adaptative dans le complexe du puceron du pois, Acyrthosiphon pisum». agrocampus ouest: l'institut supérieur des sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage.

***Piffaretti Joséphine,2012** «Différenciation génétique et écologique des populations du puceronvBrachycaudus helichrysi (Hemiptera : Aphididae) : mise en évidence de deux espèces sœurs aux cycles de vie contrastés »Thèse présentée à Montpellier SupAgro pour obtenir le diplôme de doctorat le 30 nov 2012.

***Piffaretti Josephine ; Flavie Vanlerberghe-Masutti ;ashraf Tayeh,Anne-Laure Clamens ;Armelle Cœur D'Acier etEmmanuelle Jousselin,2012** «Molecular phylogeny reveals the existence of two sibling species in the aphid pest *Brachycaudus helichrysi* (Hemiptera: Aphididae) » First published: 07 February 2012 https://doi.org/10.1111/j.1463-6409.2012.00531.x

***Rabtel. A,2011** « Développement embryonnaire du puceron Acyrthosiphon pisum : caractérisation de voies métaboliques et gènes clé dans les interactions trophiques avec Buchnera aphidicola » These doctorat. Univ de Lyon.236 Karley A. J., Ashford D. A., Minto L. M., Pritchard J.,

***Robin Vergon Jeanne, 2011** « Ravageurs du pois, Les pucerons passent du rose au vert pour échapper aux coccinelles ». Terre-net Média. Article dans le quotidien de l'éleveur.

***Ruiz-Montoya, L., Nunez-Farfan, J. et Domınguez, C. A, 2005** "Changes in morphological traits of the cabbage aphid (Brevicoryne brassicae) associated with the use of different host plants"Ecological Research,20, 591–598.

***Simon, J. C., S. Carre, et *al*. 2003** "Host-based divergence in populations of the pea aphid:insights from nuclear markers and the prevalence of facultative symbionts." Proceedings ofthe Royal Society of London Series B-Biological Sciences 270(1525): 1703-1712.

***Simon Jean Christophe ;Lise Roy ;Séverine Fontaine ;Maurice Hullé ;Laetitia Caddoux ; Christine Brazier ; Éric Morignat, ;Annie Micoud ; Didier Calavas 2010** « La résistance aux insecticides chez le puceron vert du pêcher, Étude des allèles de résistance aux insecticides chez le puceron vert du pêcher (*Myzus persicae*) et de leur dispersion spatiotemporelle dans diverses cultures » , page 24,25,26. <https://www.anses.fr/fr/content/les-cahiers-de-la-recherche>. <anses-01707351>

*** Simon Jean-Christophe, Alexandra Magro, Benoit Pujol, Jean-Louis Hemptinne, et deux étudiants, 2012** « L'évolution sans diversité génétique, le puceron du pois comme étude du cas »projet d'une équipe du laboratoire Evolution et Diversité Biologique (EDB UMR 5174 , Université Fédérale de Toulouse Midi-Pyrénées, CNRS, IRD, UPS).

***Smith DR. 2013** « RNA-Seq data: a goldmine for organelle research » Brief Funct Genomics.; 12: 454–456. 10.1093/bfgp/els066.

***Stephen Richards**« La séquence du génome du puceron dévoilée » du Baylor College of Medicine aux États-Unis CORDIS Résultats de la recherche de l'UE

*** Sunnucks, P., P. R. England, A. C. Taylor, et D. F. Hales, 1996** «Microsatellite and chromosome evolution of parthenogenetic Sitobion aphids in Australia ». Genetics 144

(2): 747-756.

*** Wilson, A. C. C., P. Sunnucks, et D. F. Hales, 1999** ≪ Microevolution, Low Clonal Diversity and Genetic Affinities of Parthenogenetic Sitobion Aphids in New Zealand ≫. Molecular Ecology 8 (10): 1655–1666. doi:10.1046/j.1365- 294x.1999.00751.x.

***Wool, D. et Hales, D. F, 1997** « Phenotypic plasticity in Australian cotton aphid (Homoptera: Aphididae): host plant effects on morphological variationAnnals of the Entomological Society of America,90, 316–328.

***Yuan-Chen Zhang, Wen-Jie Cao, Le-Rong Zhong, H. Charles J. Godfray, Xiang-Dong Liu ,2016** "Host Plant Determines the Population Size of an Obligate Symbiont (Buchnera aphidicola) in Aphids" (University of Michigan).

***Zhang. B, O. Edwards, L.Kang, S. Fuller, 2012** Russian wheat aphids (*Diuraphis noxia*) in China: native range expansion or recent introduction? Molecular Ecology,21/09 :2144-2144.AccessedMarch31,2014at: http://vikingvoyage.grandview.edu:2048/login?url=http://search.ebscohost.com/login. aspx? direct=true&db=aph&AN=74304023&scope=site

***Les sites internet:**

Site 1: (http://www.scienceetfoi.com/ressources/description-explication-evolution) Catégorie Preuves scientifiques de l'évolution, Question Qu'est-ce que l'évolution ? Date : dimanche 08 Sep 2013.

Site 2: (http://www.societechimiquedefrance.fr/carotenoides). Caroténoïdes des plantes pdf -*Caroténoïdes - Société Chimique de France* Les *caroténoïdes 04.04.2017*

Site 3 : (http://ressources.unisciel.fr/photosynthese/co/grain_39_1.html) Photosynthèse ; Les caroténoïdes

Site 4: (http://www.spe.inra.fr/Toutes-les-actualites/puceron-vert-du-pecher) Pourquoi séquencer plusieurs génomes de pucerons ? Départements Inra ; Santé des plantes et environnement PUBLIÉ LE 28/04/2017.

ملخص

أصبحت الدراسة الوراثية للمن عن طريق استخراج الحمض النووي و دراسة تسلسل النكليوتيدات فيه هي الركيزة الأساسية و المرحلة الهامة في تحديد التغييرات التي مست المن المتطور ، وانطلاقا من كل ما رأيناه من دراسات الباحثين ونتائجها:

- أصبح المن مقاومًا لدرجات الحرارة المنخفضة و ذلك بتغيير لونه ، (نحو اللون الأخضر) أو تجاه الألوان الشاحبة(ابيض أو اصفر باهت) لتحمل نقص في كمية الغذاء ، وتعتبر عملية التحول هذه عملية إنزيمية بحتة مصدرها أصباغ الكروتينويد و التي اثبت العلماء توفرها بكميات هائلة في جسم المن.
- يقوم المن بمواجهة الحشرات المفترسة ، إما عن طريق إنتاج أجيال جديدة مجنحة تمكنه من الفرار (خاصة من الخنافس)،) أو عن طريق الارتباط مع بكتيريا تكافلية ثانوية ضد الطفيليات حيث هذه البكتيريا لا تسمح لبيض الطفيلي بالتطور في جسم المن بقتلها.
- تحول بعض أنواع المن من حشرات خاصة (تستغل نوع واحد أو أنواع محدودة من النباتات)إلى أنواع عامة تكون قادرة على استغلال أنواع كثيرة من النباتات من عائلات مختلفة.
- مقاومة المن للمبيدات الحشرية بحدوث طفرات وراثية تمس مواقع التمركز المستهدفة من طرف المبيدات الحشرية.
- مقاومة المن للنباتات المعدلة وراثيا عن طريق خاصية اللعاب السام والذي يكون تأثيره قويا جدا لا ينتهي إلا بالقضاء على النبات نهائيا.....

أخيرا يعتبر المن من الحشرات التي تتميز بالية للحياة خاصة تتمثل في عملية التطور للتأقلم السريع لمختلف التغيرات البيئية و لهذا السبب يظهر جليا الصعوبة الكبيرة في محاولات التخلص منها.

Résumé

L'étude génétique des pucerons par extraction d'ADN, PCR, et séquençage est devenu la base ou l'essentielle étape pour déterminer les modifications qu'ont touché les pucerons évolues, et à partir de tous ce que nous avons vu d'après les études des chercheurs et leurs résultats :

- Le puceron est devenu résistant à des basses températures par le changement du couleur, (vers le vert), soit vers les couleurs pâles pour résister au manque des ressources les deux mécanismes sont enzymatique dues à l'abondance des pigments de caroténoïdes.
- Fait face aux prédateurs, soit par production des générations ailées (échapper aux coccinelles), soit par l'association à une bactérie symbiotique contre le parasitoïde (la bactérie tue les œufs de parasitoïde).
- Transformer d'un puceron spécialiste à un puceron généraliste pour pouvoir exploité plusieurs types de plante très différente.

- Résistance aux insecticides par l'apparition des mutations au niveau des allèles ciblés par les insecticides.
- Résistance aux plantes modifiées génétiquement par des symptômes phytotoxiques qui endommagent et finissent par détruire son hôte…

Finalement le puceron est un insecte qu'est caractérisé par un mécanisme de vie, ave une évolution très adaptative à tout changement environnemental, pour cette raison, (à cause de l'évolution), il apparaître très difficile de débarrasser de ce type de ravageur.

Abstrac

The genetic study of aphids by DNA extraction, PCR, and sequencing has become the basis or essential step in determining the changes that aphids have evolved, and from all that we have seen from researchers' studies and their results:

- The aphid has become resistant to low temperatures by changing the color, (towards green) or towards the pale colors to resist the lack of resources both mechanisms are enzymatic due to the abundance of carotenoid pigments.
- Confronting predators, either by producing winged generations (escaping ladybugs) or by association with a symbiotic bacterium against the parasitoid (the bacterium kills parasitoid eggs).
- Transform from a specialist aphid to a generalist aphid to be able to exploit several types of very different plant.
- Resistance to insecticides by the appearance of mutations in the alleles targeted by insecticides.
- Resistance to plants genetically modified by phytotoxic symptoms that damage and end up destroying its host .....

Finally the aphid is an insect that is characterized by a mechanism of life, with a very adaptive evolution to any environmental change, for this reason (because of the evolution), it seems very difficult to get rid of this type of pest.