THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE MONTPELLIER SUPAGRO

En évolution des systèmes infectieux

École doctorale GAIA – Biodiversité, Agriculture, Alimentation, Environnement, Terre, Eau

Unité de recherche BGPI – Biologie et Génétique des Interactions Plante-Parasite

Ecologie de virus responsables de nanisme des céréales : réservoirs sauvages et interactions entre virus

Présentée par Kevin GAUTHIER

Le 28 novembre 2019

Sous la direction d'Emmanuel Jacquot et Gaël Thébaud

Devant le jury composé de

Mme. Sabrina GABA, Directrice de recherche, INRA Chizé, USC Agripop	**Rapporteure**
M. Jean-Michel LETT, Chercheur, CIRAD La Réunion, UMR PVBMT	**Rapporteur**
Mme. Claire NEEMA, Professeur, Montpellier SupAgro, UMR BGPI	**Examinatrice**
M. Eric VERDIN, Ingénieur de recherche, INRA Avignon, UR PV	**Examinateur**
M. Emmanuel JACQUOT, Directeur de rechreche, INRA Montpellier, UMR BGPI	**Directeur de thèse**
M. Gaël THEBAUD, Chargé de recherche, INRA Montpellier, UMR BGPI	**CoDirecteur de thèse**

UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

Montpellier SupAgro

Contenu

Liste des abréviations et des acronymes : 4
Liste des espèces de virus citées : 6
Remerciements 7
Liste des figures : 11
Liste des tableaux : 11
Avant-propos 12
Introduction 13
1. Infection par un phytovirus 13
1.1. Définition d'un phytovirus et interaction avec l'hôte 13
1.2. Transmission des phytovirus 14
1.2.1. Mode de transmission des phytovirus 15
1.2.2. Spécificité de la relation vecteur – virus 15
1.2.3. Choix de l'hôte et inoculation par le vecteur 19
1.2.4. Interactions tripartites modifiant l'équilibre du pathosystème 25
2. Cycles de maladies et épidémies dans un paysage 26
2.1. Paramètres conditionnant la réalisation des cycles des maladies 27
2.1.1. Importance de la biologie des hôtes dans le cycle des maladies 27
2.1.2. Importance de la biologie des vecteurs dans le cycle des maladies 28
2.2. Rôle des différentes populations dans les épidémies 30
2.2.1. Définition du rôle épidémiologique des différentes populations 30
2.2.2. Actions menées pour limiter les épidémies dans la population cible 31
2.2.3. Définition des compartiments cultivés et sauvages 32
2.2.4. Rôle du compartiment sauvage dans la propagation des phytovirus 33
2.3. Impact de la structure du paysage sur les épidémies virales 35
2.3.1. Connectivité physique du paysage 35
2.3.2. Connectivité biologique du paysage 36
2.3.3. Indice de biodiversité 37
2.4. Présentation des modèles d'étude 43
3. Agents viraux impliqués dans la JNO et la PC 44
3.1. Classification des agents de la JNO et de la PC 44
3.2. Organisation des génomes 46
4. Vecteurs et propagation de la JNO et de la PC 47
4.1. Biologie des espèces vectrices des B/CYDV et du WDV 47

4.2. Influence des vecteurs sur la transmission 52
4.2.1. Facteurs biologiques influençant la transmission 52
4.2.2. Facteurs liés au processus de transmission 53
5. Hôtes des virus de la JNO et à la PC 55
5.1. Espèces cultivées infectées par les virus de la JNO et la PC 55
5.2. Limitation de l'impact économique de la JNO et de la PC 56
5.2.1. Type d'actions entreprises pour limiter la propagation des virus de la JNO et de la PC 56
5.2.2. Lutte contre la JNO et la PC 57
5.3. Réservoirs cultivés 104
5.4. Réservoirs sauvages 106
5.4.1. Méthodes d'étude des hôtes sauvages des virus de la JNO et de la PC 106
5.4.2. Gammes d'hôtes sauvages des virus de la JNO et de la PC 107
5.4.3. Facteurs influençant la sensibilité et le rôle des espèces sauvages aux virus de la JNO et de la PC 107
5.5. Présentation du sujet 108
Chapitre 1 : Caractérisation des réservoirs sauvages des B/CYDV et du WDV 112
1. Introduction 112
2. Choix du seuil de détection 144
3. Accessibilité des espèces testées influençant leur rôle dans l'épidémie 146
Chapitre 2 : Influence des co-infections entre B/CYDV et WDV dans le paysage 152
A- Interactions de plusieurs pathogènes dans un environnement proche 152
B- Interactions entre B/CYDV, entre synergie et antagonisme 154
C- Interaction entre WDV 155
D- Interaction entre B/CYDV et WDV 156
3. Discussion générale 182
3.1. Importance du compartiment sauvage dans les épidémies virales 182
3.2. Analyse des faibles prévalences mesurées dans le paysage 183
3.3. Etude de la gamme d'hôtes en conditions contrôlées et en plein champ 185
3.4 Facteurs explicatifs de la répartition des infections à Annoix 186
3.5. Bilan sur le rôle du compartiment sauvage en tant que réservoir viral 187
3.6. Rôles alternatifs du compartiment sauvage dans les épidémies virales 188
3.7. Possibilités de maintien du WDV-Bar dans les cultures d'orge 189
4. Perspectives 190
4.1. Autres réservoirs potentiels des virus de nanisme des céréales 190

4.2. Attribution du rôle du compartiment sauvage dans les épidémies de virus de nanisme des céréales _____ 190
4.3. Poursuivre la caractérisation des gammes d'hôtes sauvages _____ 191
4.4. Poursuivre la caractérisation de l'interaction B/CYDV-WDV _____ 191
Bibliographie _____ 194

Liste des abréviations et des acronymes :

AAP : Acquisition access period (Période d'acquisition)

ADN : Acide desoxyribonucléique

ARN : Acide ribonucléique

B/CYDV : *Barley/Cereal yellow dwarf viruses*

CCI : Controled condition inoculations (inoculation en conditions contrôlées)

COI : Cytochrome oxidase subunit I

CP : Coat protein (Protéine de capside)

COV : Volatile organic compounds (Composés organiques volatiles)

e.g. : Exempli gratia

ELISA : Enzyme linked immunosorbant assay

FAO : Food and agriculture organization (Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture)

FS : Field sampling (échantillonnage au champ)

GSA : Glandes salivaires auxiliaires

IAP : Inoculation access period (Période d'inoculation)

ICTV : International Committee on Taxonomy of Viruses (Comité international pour la taxonomie des virus)

JNO : Jaunisse nanisante de l'orge

LIR : Long intergenic region (Longue région intergénique)

MP : Movement protein (Protéine de mouvement)

ORF : Open reading frame (Cadre ouvert de lecture)

PC : Maladie des pieds chétifs

PCR : Polymerase chain reaction

Rep : Replicase (Réplicase)

RTD : Readthrough domain protein (Protéine de domaine de translecture)

R_0 : Nombre de reproduction de base

SIE : Super infection exclusion (Exclusion des infections séquentielles)

SIR : Short intergenic region (Courte region intergénique)

sp. : species (espèce)

TBIA : Tissu blot immunoassay

VPg : Genome-linked viral protein (Protéine virale associée au génome)

WDV : *Wheat dwarf virus*

WDV-W: *Wheat dwarf virus*, souche blé

WDV-Bar : *Wheat dwarf virus*, souche orge

Liste des espèces de virus citées :

BCTV : *Beet curly top virus*
BGMV : *Bean golden mosaic virus*
BlShV : *Blueberry necrotic shock virus*
BSV : *Banana streak virus*
BYDV-GAV : *Barley yellow dwarf virus-GAV*
BYDV-kerII : *Barley yellow dwarf viru- kerII*
BYDV-kerIII : *Barley yellow dwarf virus-kerIII*
BYDV-MAV : *Barley yellow dwarf virus-MAV*
BYDV-PAS: *Barley yellow dwarf virus-PAS*
BYDV-PAV : *Barley yellow dwarf virus-PAV*
BYDV-SGV : *Barley yellow dwarf virus-SGV*
BYMV : *Bean yellow mosaic virus*
CaMV : *Cauliflower mosaic virus*
CMV : *Cucumber mosaic virus*
CTV : *Citrus tristeza virus*
CYDV-RPS : *Cereal yellow dwarf virus-RPS*
CYDV-RPV : *Cereal yellow dwarf virus-RPV*
GLRaV3 : *Grapevine leafroll-associated virus 3*
GMV : *Groundnut mosaic virus*
LNYV : *Lettuce necrotic yellow virus*
MLV : *Mize line virus*
MSV : *Maize streak virus*
MYDV-RMV : *Maize yellow dwarf virus-RMV*
PLRV : *Potato leaf roll virus*
PPV : *Plum pox virus*
PSbMV : *Pea seedborne mosaic virus*
PVY : *Potato virus Y*
RSV : *Rice stripe virus*
SBMV : *Southern bean mosaic virus*
TBSV : *Tomato bushy stunt virus*
ToRSV *: Tomato ringspot virus*
TSWV : *Tomato spotted wilt virus*
TYLCV : *Tomato leaf curl virus*
TMV : *Tobacco mosaic virus*
TNV : *Tobacco necrosis virus*
ToLCV : *Tomato leaf curl virus*
WDV : *Wheat dwarf virus*
ZYMV : *Zucchini yellow mosaic virus*

Remerciements

Il semble que cette thèse touche à sa fin, après 3 années de travail. Avant de poursuivre, je souhaiterais remercier les personnes, qui m'ont permis d'en arriver là grâce à leur contribution, qu'elle fut grande ou petite.

Habituel acteur des directions de thèse, je souhaite remercier **Emmanuel Jacquot**. Merci pour ton obligeance au cours de ces 3 ans ainsi que pour tes conseils scientifiques sur le projet et pour ta rigueur tout au long de la formation. Cette exigence m'aura incité à me dépasser pour produire les résultats de ce manuscrit. Je souhaite également te remercier pour la préparation de tous les exposés oraux que j'ai réalisé. Merci de m'avoir écouté par rapport à mes souhaits d'orientations ultérieures que je vais essayer d'accomplir. J'ai l'impression de sortir de cette expérience satisfait et réjoui du travail accompli.

Je souhaite également remercier mon co-directeur de thèse **Gaël Thébaud** pour tous ses conseils que ce soit scientifiquement, sur l'analyse ou l'utilisation de R que j'aurai presque réussi à apprivoiser pendant cette thèse. Je voudrais aussi te remercier pour ton écoute sur l'ensemble des difficultés et aussi bon côtés de cette thèse. Merci pour ta perspicacité dans tes remarques et dans tes idées. Merci également pour les moments de loisirs que nous avons eu depuis ce fameux l'Angleterre – Islande jusqu'à Saint Drezery.

Je remercie Bayer Crop Science qui a accepté de financer cette thèse et sans qui rien de tout cela n'aurait été possible. Plus particulièrement je souhaite remercier **Annie de Keyzer** qui m'aura permis d'accéder à de nombreuses données de littérature grise pendant cette thèse. Je te remercie également pour ta gentillesse et ta disponibilité tout au long de mon parcours. Je remercie également **Marc Letroublon, Thomas Delebarre** et **Pascal Leduc** pour leur collaboration pendant cette thèse. Merci également à **Marie-Pascale Latorse** et **Philippe Méresse** pour leur gentillesse et leur disponibilité lors de la visite du site de la Dargoire.

Merci à **Rémy Dupré** pour son aide sur l'identification des *Poaceae* à Annoix ainsi que pour ta gentillesse et tes réponses sur la classification des espèces par la suite.

Je remercie **Sabrina Gaba, Jean Michel Lett, Xavier Tassus** et **Eric Verdin** d'avoir accepté de participer au jury de cette thèse. Merci également à **Christelle Lacroix, Pierre Lefeuvre, Frédéric Fabre, Christine Chevillon** et **Marc Bouvy** pour leurs précieux conseils pendant le comité de suivi.

Je remercie **Claire Neema** pour le rôle qu'elle a joué en tant que directrice d'unité et pour sa participation aux divers processus d'évaluation de cette thèse.

Merci à l'équipe Epi2V de m'avoir accueilli pendant la période de cette thèse. Merci à **Sylvie** pour toutes ces remarques pertinentes sur les projets en cours et pour sa gentillesse. Un grand merci notamment à **Vincent** pour sa bonne humeur permanente et pour son aide sur certaines parties des manipulations. Oui, j'aime les chevaux, Vincent. Merci également à **Marlène** pour beaucoup de choses qu'on pourrait résumer par « être toi-même » et pour ton aide avec les bêtes. J'espère que ces fichues pannes informatiques vont s'arrêter un jour. Merci à **Pierre** pour sa sérénité à toute épreuve et pour son aide. Merci à **François** d'avoir toujours accepté de prendre trente minutes pour répondre à mes petites questions simples de trente secondes. Un grand merci à **Agnès** pour son aide et sa patience avec ma maladresse administrative. Enfin je souhaite remercier **Josiane** (j'espère que tu profites bien de ta retraite), **Sonia, Nicolas, Véronique, Marie, Adeline, Elodie, Quentin et Farooq** pour leur sympathie générale.

Je souhaite vraiment remercier toutes les personnes qui contribuent à l'atmosphère de travail à BGPI, particulièrement **Maryline**, **Michel, Michel** & **Michel, Henry et Loïc.** J'ai une pensée spéciale pour toi **Rémy** et je pense que tu es vraiment quelqu'un de bien. Merci pour tout ce que tu m'auras apporté et je te souhaite le meilleur pour la suite. Je suis content de voir qu'il reste des gens comme toi à notre époque.

Merci à **Pierre, Sylvie et François** pour leur participation au super commando de choc de fin de thèse.

Merci à **Mikhail** pour les cours de virologie que tu nous as donnés pendant la troisième année de thèse. J'ai essayé de les réinvestir au mieux dans cette thèse.

Je souhaite remercier les 14876 graminées et les 5653 pucerons ainsi que les 5766 cicadelles pour avoir généreusement fait don de leur vie à la science pendant cette thèse. Votre sacrifice ne sera pas oublié.

Je vais poursuivre en remerciant le troupeau de thésards et de stagiaires que j'ai pu côtoyer durant ces 3 années à BGPI. **Hilaire** je te remercie pour ton sourire pendant ces 6 mois et **Audrey** pour ta gentillesse et ton ouverture d'esprit. J'espère te revoir sur les terrains de volley très prochainement. Merci à **Maud** pour tes invitations régulières chez toi et pour ton sourire, à **Emeline** pour son superbe t-shirt grâce auquel j'ai toujours la banane. Je remercie **Mathias** pour son authenticité et pour le prêt de son portable au moment opportun. Je remercie **Florian** pour avoir supporté nos tentatives expérimentales de jeu à la pétanque, **Rémi** pour son talent avec les arrosages et son amour pour les buts de dernière minute et **Valentin** pour son inventivité permanente (ça avance ton projet de direction du CIRAD ?). Merci à **Guillaume** pour sa gentillesse et sa capacité inégalée à

choisir les meilleurs stagiaires. Merci à **Edwige** pour tout le temps que tu as investi dans le groupe et pour ton honnêteté inoxydable et à **Jérémy** pour ton humour et ta gentillesse. Je te souhaite d'être plus heureux avec Manon qu'avec l'OM ces dernières années. Un grand merci à **Pascal** qui a réussi à me supporter pendant deux ans dans le bureau. J'espère que tu garderas la pêche (ou plutôt l'abricot) après mon départ et que cette fois, tu n'avaleras pas le noyau. Je remercie **Thomas** qui m'a proposé un verre pour me changer les idées les lundi, mardi, mercredi, jeudi, vendredi, samedi et dimanche de chaque semaine ainsi que pour nos afterworks statistiques éclairées sur les ronds points. Un énorme merci à petite **Faustine** pour tout ce qu'elle a fait pour moi. Merci pour ta gentillesse, ton originalité et ton humour. Tu es quelqu'un d'assez unique et j'étais très heureux de passer tout ce temps avec toi. J'espère que tu arriveras à accomplir une partie de tes rêves (parce qu'il y en a beaucoup). Pour moi tu es un peu l'incarnation de la célèbre phrase de François Garagnon « il vaut mieux rêver sa vie que vivre ses rêves ». Ne change surtout pas. Je souhaite aussi adresser de grands remerciements à **Coralie** pour tout ce que tu as fait pour moi sur un plan personnel comme professionnel. Désolé de t'avoir obligée à jouer les éboueurs à l'occasion. Ton parcours est pour moi une grande source d'inspiration et j'espère arriver à mettre en pratique certains de tes principes. Merci pour ta joie, ta bonne humeur et ta vision du monde. Enfin je souhaite exprimer toute ma gratitude à **Maëlle**. Cette thèse n'aurait clairement pas été la même sans toi. Merci de m'avoir souvent soutenu, compris quelle que soit la situation. Ton courage dans toutes les situations est très communicatif. J'ai des difficultés à trouver les mots pour te remercier suffisamment mais tu auras grandement contribué à mon développement sur ces trois dernières années et c'est pour moi inestimable. Finalement, c'est un peu comme si on l'avait fait à deux, cette thèse.

Merci aux deux (quasi) meilleures post doc du monde (ou presque) **Anne Sicard et Lucie Tamisier** pour tous vos conseils et votre calme. J'espère que vous penserez à moi une fois que vous aurez un poste, ce qui ne saurait tarder, j'en suis persuadé.

Je remercie les enseignants qui ont contribué à mon parcours scientifique et donné le gout pour la science, notamment **Sebastien Ravassard, Sandrine Maeker, Emmanuel Pietre, Nicolas Sard** et **Alain Hehn.** Je remercie également **Thomas Dobrenel** et **Johannes Hanson** pour leur gentillesse et la transmission de leurs connaissances lors de mon passage à l'UPSC.

Milles mercis à mes amis qui ont effectué tout ou partie de ce parcours avec moi que ce soit pendant la prépa **Estelle & Estelle, Margot** (nos kholles mémorables), **Anissia, Gustave, Mathilde, Mickaël, Aurore, Maxime, Amélie** et pour tous nos moments de rigolade avant, après et parfois pendant la prépa. Merci à **Claire, Géraldine** et à **Alicia** avec qui j'ai partagé des moments inoubliables à l'ENSAIA, en Suède et au Portugal et à **Guillaume** pour l'ensemble des moments sportifs (souvent), festifs ou

studieux que nous avons partagé. Jamais je n'oublierai les moments avec vous. Merci à **Marie Santoni** pour les brefs moments que nous avons partagé. Même si notre interlude aura été bref, ton soutien et ta gentillesse m'auront marqué. Je te souhaite le meilleur pour la suite.

Je voudrais également remercier mes coéquipiers du Saint Gély Volley Ball, **Iep, Cédric, Greg, Estelle, Stephan, Sylvain, Amélie, Lilian, Emilien, Romane** avec qui j'aurais passé des moments incroyables sur et hors du terrain. **Lilian** je te souhaite également un rétablissement des plus rapides. Une pensée spéciale pour **Gaétan, Jérôme, Johanna et Quentin** (Balkany) et pour les tournois que nous avons faits ensembles, nos franches rigolades et notre complicité sur le terrain qui m'auront énormément aidé à surmonter les épreuves.

Avant de terminer je voudrais remercier mes parents **Bruno et Michèle** pour leur soutien sans faille pendant ces 8 années d'études. Merci de m'avoir permis d'en arriver là que ce soit sur le plan financier ou humain. J'aimerais vous dédicacer ce mémoire

Le mot de la fin sera pour toi **Sarah Ruffiat** et pour ta famille**.** Tu es vraiment quelqu'un d'inestimable, ta bonne humeur permanente, ta gentillesse, ton envie de changer le monde et ton humour sont pour moi une source de motivation et de force incommensurable. Tu as probablement changé ma vie et j'ai conscience d'avoir énormément de chance de t'avoir rencontré. Je ne sais pas de quoi le futur sera fait, mais avec toi il sera radieux. Merci pour ton soutien sans faille pendant cette thèse. Je suis content que les travaux de fleuriste te plaisent.

Liste des figures:

Figure 1 : Illustration des différentes étapes de la transmission circulante des virus par un vecteur 17
Figure 2: Mouvements du virus à courte et longue distance dans l'hôte infecté. 23
Figure 3 : Spécialisation des virus par rapport à leurs vecteurs et à leurs hôtes par classe ou par espèce virale. 24
Figure 4: Interactions entre les 3 membres du pathosystème d'un virus transmis par vecteur au cours d'un cycle infectieux. 26
Figure 5: Cycles épidémiques viraux dans le cas d'une culture pérenne ou annuelle. 28
Figure 6: Représentation théorique du rôle des vecteurs dans le maintien des virus dans les culture 29
Figure 7: Mécanismes liant une augmentation de la diversité et une baisse de la prévalence virale 36
Figure 8: Classification des Barley/Cereal yellow dwarf viruses et du Wheat dwarf virus 44
Figure 9 : Génome des B/CYDV appartenant au genre Luteovirus et des B/CYDV appartenant au genre Polerovirus et génome du WDV 45
Figure 10: Représentation du cycle de vie des céréales d'hiver et du puceron Rhopalosiphum padi. 49
Figure 11: Représentation du cycle de vie des céréales d'hiver et de la cicadelle Psammotettix alienus. 50
Figure 12: Cycles épidémiques viraux dans le cas des céréales. 105
Figure 13: Comparaison des cycles des virus de nanisme dans un scénario théorique où l'ensemble des populations hôtes sont infectées et dans le scénario observé à Annoix 192

Liste des tableaux:

Tableau 1 *: Principales caractéristiques de la transmission des virus par les insectes.* 18
Tableau 2: Caractéristiques d'alimentation des principaux types de vecteur de phytovirus. 21
Tableau 3*: Résumé des caractéristiques des principaux indices de diversité alpha.* 40
Tableau 4*: Résumé des caractéristiques des principaux indices de diversité béta.* 42
Tableau 5*: Efficacité de transmission des B/CYDV à un hôte en fonction de l'espèce vectrice.* 48
Tableau 6: *Résumé des principaux paramètres des cycles de vie des pucerons vecteurs des B/CYDV.* 52
Tableau 7: *Résumé des principaux facteurs influençant la transmission des B/CYDV et du WDV par leurs vecteurs respectifs.* 54
Tableau 8*: Présentation des différents seuils utilisés en ELISA pour le diagnostic des échantillons infectés.* 145
Tableau 9 *: Récapitulatif de la présence des différentes espèces végétales identifiées à Annoix, de leurs cycles de vie ainsi que de leur sensibilité aux virus.* 147

Avant-propos

L'équilibre alimentaire mondial est devenu un des enjeux majeurs du XXIème siècle. Selon la FAO, plus de 820 millions de personnes souffraient de la faim dans le monde en 2018 (FAO *et al.*, 2018) ce qui représentait plus d'une personne sur 9.

Pour parvenir à nourrir une population toujours grandissante, l'agriculture s'est adaptée, subissant de profondes transformations, pour augmenter la quantité de nourriture produite. Cette augmentation de rendement s'est accompagnée d'une augmentation des intrants utilisés, fertilisants et engrais d'une part mais également de pesticides (dont l'utilisation a augmenté de 58% en 20 ans d'après la FAO) d'autre part. L'utilisation des produits phytosanitaires permet de sauver environ 30% de la production agricole menacée par les divers organismes (adventices, ravageurs, agents phytopathogènes fongiques, bactériens ou viraux) (Oerke, 2006) mais provoque des controverses en raison d'effets collatéraux sur la santé humaine et l'environnement, notamment. Ces effets collatéraux ont motivé des politiques publiques visant à réduire l'utilisation des produits phytosanitaires (e.g. Directive 2009/128/EC à l'échelle européenne, plan Ecophyto à l'échelle française).

L'abandon pur et simple de leur utilisation parait très discutable sur un plan éthique, au risque d'augmenter la taille de la population malnutrie. La recherche d'alternatives devient capitale pour développer des systèmes de culture efficaces et moins consommateurs en produits phytosanitaires. Ces alternatives doivent permettre de concilier réduction de l'utilisation des produits phytosanitaires et performance économique. L'un des leviers pour atteindre cet objectif consiste à supprimer les traitements inutiles et optimiser le positionnement dans le cycle cultural des traitements restants.

Cette approche nécessite cependant une bonne connaissance des cycles des différents bioagresseurs, afin d'anticiper au mieux leur présence. Cette connaissance est souvent disponible dans les réservoirs cultivés, mais elle est souvent lacunaire dans les milieux sauvages, généralement peu étudiés (Alexander *et al.*, 2013). Les organismes issus du milieu sauvage peuvent pourtant jouer un rôle essentiel dans la dynamique de populations des bioagresseurs et dans leur interaction avec les cultures (Haydon *et al.*, 2002; Caron *et al.*, 2015) mais sont pour l'instant peu étudiés, compliquant les approches d'analyses de risque par rapport aux organismes nuisibles y séjournant.

Au-delà de l'aspect agricole, un meilleur aperçu des dynamiques de bioagresseurs dans le compartiment sauvage permettrait d'adopter des approches de conservation des espèces en

écologie (Malmstrom *et al.*, 2005a), alors que les approches favorisant l'écologie et la biodiversité tendent à se généraliser.

Introduction

Les organismes nuisibles aux cultures peuvent être divisés entre pathogènes et ravageurs (Oerke, 2006). Si les ravageurs sont généralement facilement identifiables et parfois contrôlables avec des moyens autres que la lutte chimique (e.g. désherbage manuel, piégeage ou emploi de prédateurs) ce n'est pas forcément le cas des pathogènes (e.g. aucun produit virucide pour les plantes n'est disponible). L'usage des antibiotiques en Europe pour lutter contre les agents pathogènes est interdit mais il reste possible, bien que strictement encadré aux Etats Unis (Sundin & Wang, 2018). Certains des micro-organismes pathogènes sont visibles à la surface de leurs hôtes (champignons) mais ce n'est pas le cas des virus. L'identification d'une infection par un virus au champ se fait généralement par observation d'altérations physiologiques chez la plante cultivée (e.g. chlorose, nanisme). Ces symptômes apparaissant également dans d'autres situations (carence en nutriments, stress abiotique), l'identification des agents viraux en se basant uniquement sur ces symptômes est particulièrement difficile, plusieurs espèces virales pouvant causer le même symptôme.

La connaissance des mécanismes de propagation des virus et des dommages qu'ils causent dans les cultures est parfois très parcellaire. Ces derniers représentent pourtant quasiment la moitié des maladies émergentes des cultures (Anderson *et al.*, 2004). Ces maladies sont définies comme « des maladies dont la prévalence a augmenté les vingt dernières années ou risque d'augmenter dans un futur proche » par le comité américain de surveillance des maladies microbiennes émergentes (1992). Cette définition englobe à la fois les augmentations de prévalence dues à l'amélioration des outils de détection ou à un changement d'environnement du pathogène tel que ceux qu'ils ont subi avec la transformation du contexte agricole. Dans ces conditions, la caractérisation des risques sanitaires imposés aux cultures par les virus semble devenir un enjeu majeur dans l'optique de la protection des productions végétales.

1. Infection par un phytovirus

1.1. Définition d'un phytovirus et interaction avec l'hôte

La première définition d'un virus de plantes distinguait 2 caractères fondamentaux : la présence d'un seul type d'acide nucléique (ADN ou ARN) qui constitue le génome viral et leur mode

de reproduction basé sur la réplication de leur matériel génétique par parasitisme absolu (Lwoff, 1953).

Au niveau structurel, les particules des virus de plantes (ou phytovirus) sont constitués d'acides nucléiques encapsidés dans une capside protéique. Au minimum, le génome d'un phytovirus code une protéine de capside (CP), une polymérase et une protéine de mouvement (MP). Les phytovirus ne disposent pas de système de synthèse de protéines et ne peuvent pas se multiplier seuls (Hull, 2014). Généralement, leur durée de vie hors de l'hôte est limitée, une demi-vie de 46 à 80 heures dans l'eau (cas du *Tobacco necrosis virus*) étant considérée comme plutôt longue (Mehle & Ravnikar, 2012). Ils sont donc dépendants du métabolisme d'un autre organisme pour y parvenir.

L'inoculation virale peut être définie comme la mise en contact du virus avec son hôte. Un organisme peut être qualifié d'hôte s'il peut être infecté par le virus et que ce dernier peut s'y répliquer (Hull, 2014). L'ensemble des hôtes d'un virus est appelé gamme d'hôtes.

Une fois le virus présent dans les cellules de l'organisme de son hôte, il détourne le métabolisme de son hôte à son profit, entrainant l'accumulation des particules virales dans les tissus infectés. Ce changement dans le métabolisme de l'hôte engendre des altérations de son état physiologique appelées symptômes. L'ensemble de ces symptômes est appelé maladie. Chaque hôte réagit différemment à l'infection virale. L'intensité des symptômes est très variable allant d'une absence d'expression de ces derniers dans l'hôte (ou infection asymptomatique) jusqu'à la mort de l'hôte (Hull, 2014).

Parmi les symptômes les plus courants causés par des phytovirus, on trouve les mosaïques, jaunissements, enroulements foliaires, nécroses ou encore la diminution de la taille de la plante hôte (ou nanisme)(Hull, 2014). Ces symptômes sont importants dans la description des phytovirus, la plupart étant nommés par le nom de leur hôte d'origine et du symptôme majeur causé. Historiquement, ils ont même été utilisés pour réaliser une classification des différents agents viraux (Holmes, 1939). Cette classification a été rapidement abandonnée en raison de l'augmentation importante du nombre d'agents viraux qui causaient le même symptôme. La diversité des virus à classer a fortement augmenté depuis, passant de 50 espèces dans les années 1930 (Hull, 2014) à 1016 espèces et 309 espèces putatives lors de la neuvième édition ICTV (King *et al.*, 2011).

1.2. Transmission des phytovirus

L'infection d'un nouvel hôte, qu'il soit sain ou déjà infecté, par un virus provenant d'un hôte environnant est appelé transmission. Lors de l'infection d'un hôte par un agent viral, la concentration du virus dans son organisme tend à augmenter avec le temps, au moins initialement. Le virus peut

également coloniser de nouveaux tissus de l'hôte au cours de l'infection. Un hôte dont le virus est présent dans les tissus à partir desquels ce dernier peut être transmis peut être considéré comme une source virale potentielle. Cette source virale participera au processus épidémique du virus dans son environnement. La concentration du virus dans l'organisme de l'hôte est appelée charge virale. Un hôte infecté qui ne peut pas servir de source virale pour le processus d'infection est qualifié de latent. L'hôte est dit infectieux à la fin de sa période de latence, c'est-à-dire la durée de temps qui s'écoule entre son infection et le moment où il pourra contribuer au processus de transmission en tant que source virale (Madden *et al.*, 2007; Suffert & Thompson, 2018). Le processus de transmission peut se produire selon deux grands types de processus différents : soit le virus est transmis à la descendance de l'individu infecté (transmission verticale), soit le virus est transmis à d'autres individus (transmission horizontale).

1.2.1. Mode de transmission des phytovirus

La transmission horizontale est de loin la plus répandue chez les virus, étant possible chez quasiment toutes les espèces de virus de plante. Ce type de transmissions peut se produire de plusieurs manières, certaines étant anthropiques (utilisation d'outils infectés, plantation de matériel végétal infecté), d'autres étant naturelles que ce soit de manière passive (sol, eau, contact entre plantes infectées) ou par l'intermédiaire d'un autre organisme vivant. La stabilité physique du virus est un des critères essentiels à la transmission lorsque cette dernière ne fait pas appel à un autre organisme vivant. Un virus stable dans son hôte et à l'extérieur a plus de chances d'être transmis, notamment de manière mécanique (Hull, 2014).

Un organisme vivant est qualifié de vecteur d'un virus lorsqu'il peut l'acquérir et le transmettre. La transmission par vecteur est très fréquente dans le cas des phytovirus; plus de 70% de ceux décrits (en 1991) peuvent être transmis de cette manière (Nault, 1997). Parmi les différents vecteurs (e.g. insectes, champignons, nématodes ou même cuscutes (Hull, 2014)), les arthropodes, notamment les hémiptères, sont particulièrement représentés dans le processus de transmission. Ils permettent l'inoculation de plus de 450 virus à leurs hôtes (Jones, 2004; Elena *et al.*, 2014).

1.2.2. Spécificité de la relation vecteur – virus

Les processus de transmission par vecteurs peuvent être divisés en 4 modes : non circulant, semi-persistant, circulant non multipliant et circulant multipliant (Ng & Falk, 2006).

Les virus transmis selon le mode non persistant sont retenus exclusivement au niveau des pièces buccales des insectes vecteurs et sont directement transmissibles après acquisition. Ils peuvent être acquis et inoculés au cours des piqûres d'essai de ce dernier sur l'hôte. Il s'agit de piqûres très brèves (moins d'une minute) et superficielles (réalisées au niveau de l'épiderme) qui

permettent à l'insecte de tester la qualité nutritive de son hôte (Powell *et al.*, 2006). Les vecteurs ne conservent le virus que pendant quelques heures et quelques piqûres au maximum.

Le mode de transmission semi-persistant est assez proche du mode non persistant dont il est souvent considéré comme une variante. Dans ce cas précis, les virus sont localisés au niveau des pièces buccales et dans l'œsophage pour certains virus (Chen *et al.*, 2011). Les étapes du cycle de transmission sont les mêmes que pour le mode non circulant mais elles durent plus longtemps (Ng & Falk, 2006).

La transmission des virus de plantes selon les modes circulants par les insectes est découpée en 3 phases : acquisition du virus par l'insecte, latence du virus dans le corps de l'insecte et inoculation du virus par l'insecte. La phase d'acquisition correspond à l'entrée du virus dans le tube digestif de l'insecte au cours de l'alimentation de ce dernier sur un hôte infecté. Au cours de cette étape, le virus traverse le canal alimentaire des stylets et l'œsophage avec le bol alimentaire du vecteur. La latence du virus correspond à la durée nécessaire pour que le virus situé dans la lumière du tube digestif atteigne la lumière des glandes salivaires. Ce trajet commence par la traversée par endocytose (Gray & Banerjee, 1999) de l'intestin postérieur (ou plus rarement de l'intestin moyen (Garret *et al.*, 1996)) du vecteur par les particules virales qui intègrent l'hémolymphe (Gildow, 1985). Les particules virales traversent alors le corps du vecteur par voie passive dans l'hémolymphe avant de coloniser les glandes salivaires auxiliaires. Une fois la phase de latence passée, le vecteur est dit infectieux. Le virus est inoculé lorsque le vecteur salive dans les cellules de l'hôte. Tant que le virus n'est pas incorporé aux sécrétions salivaires du vecteur, il n'est pas transmissible par ce dernier (Nault, 1997). Enfin, l'inoculation correspond à la libération des particules virales dans les tissus de l'hôte sur lequel le vecteur se nourrit (Figure 1).

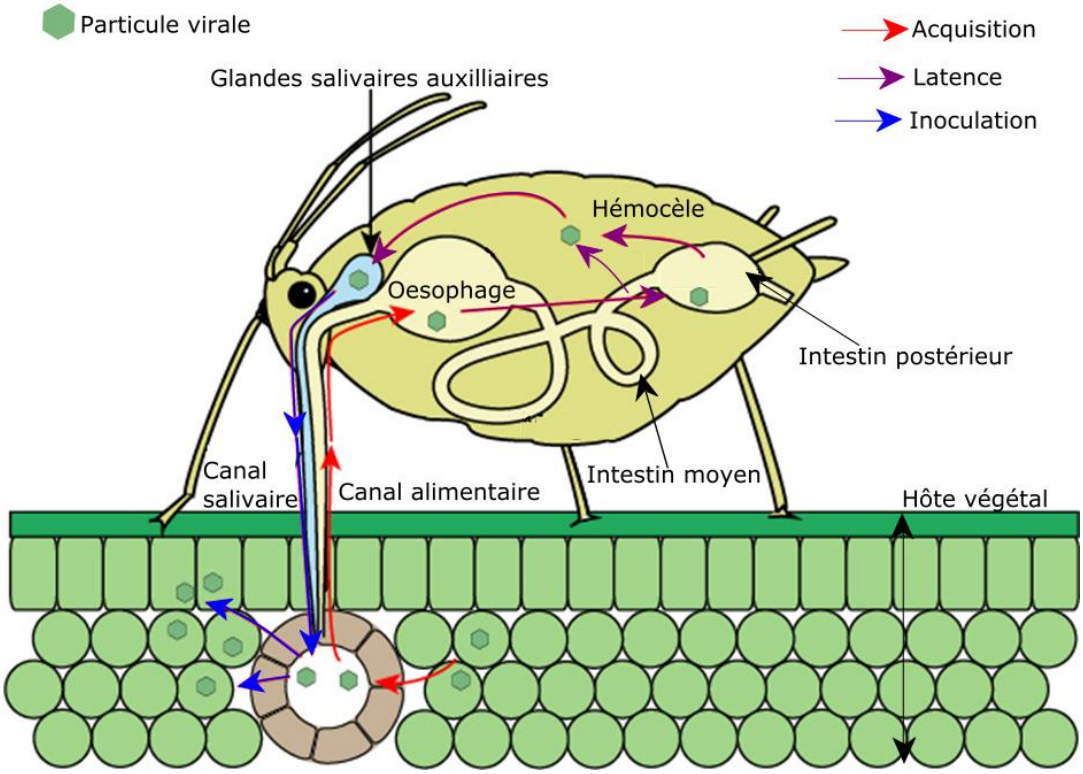


Figure 1 : Illustration des différentes étapes de la transmission circulante des virus par un vecteur. Adapté de ViralZone www.expasy.org/viralzone, Swiss Institute of Bioinformatics

Le mode de transmission circulant non multipliant se caractérise par i) la dispersion du virus dans le corps du vecteur au-delà de l'œsophage mais la non-multiplication du virus dans son organisme (Sylvester, 1980), ii) l'absence d'évènement d'infection lors de piqûres d'essai réalisées hors phloème (ces étapes sont réalisées lors des étapes d'ingestion de la sève et de salivation, réalisées dans le phloème), iii) l'absence de transmission du virus à la descendance des vecteurs (Nault, 1997), iv) la conservation du statut virulifère par le vecteur pendant une longue période. Cette période, nommée rétention, désigne la durée pendant laquelle le vecteur peut inoculer le virus acquis. Dans le cas des virus circulants, cette période est plutôt longue, allant d'au moins quelques jours (e.g. la cochenille farineuse et le GLRaV3 (Tsai *et al.*, 2008) à une quinzaine de jours (e.g. les aleurodes et le ToLCV (Muniyappa *et al.*, 2000) voire plus d'un mois (e.g. la cicadelle verte et le BCTV (Wintermantel & Kaffka, 2006). Elle est souvent limitée par la durée de vie du vecteur. Le mode de transmission multipliant ressemble au mode de transmission circulant non multipliant. Néanmoins, le virus colonise les cellules du corps de son vecteur, s'y réplique et peut être transmis directement à la descendance. Le cycle de transmission est également plus long que celui du mode circulant non multipliant (Ng & Falk, 2006).

La transmission verticale chez l'hôte est rare et seules 131 espèces virales (environ 15% de toutes les espèces connues à l'époque) sont transmises à la descendance d'un hôte infecté (Power & Flecker, 2003). Ce type de transmission est également possible chez le vecteur (uniquement dans le cas des virus circulants), de façon exceptionnelle. La transmission verticale n'est possible que si l'hôte infecté se reproduit avant sa mort. Ce mode de reproduction semble plus favorable aux virus faiblement pathogènes ou aux virus infectant des hôtes se reproduisant rapidement par multiplication végétative (e.g. bananier) (Power & Irwin, 1992).

Les caractéristiques des différents modes de transmission sont résumées dans le Tableau 1.

Tableau 1 : ***Principales caractéristiques de la transmission des virus par les insectes.***

Caractéristique	**Facteurs liés aux modes de transmission**			
Mode de transmission	**Non circulant**		**Circulant**	
	Non persistant	**Semi-persistant**	**Non multipliant**	**Multipliant**
Localisation du virus dans l'insecte	pièces buccales	pièces buccales - œsophage	GSA - intestin - hémolymphe	nombreux tissus
Durée d'acquisition	s - min	min - heure	heures	heures
Durée de latence	X	X	heures	jours - semaines
Durée d'inoculation	s - min	min - heure	heures	heures
Durée de rétention	min - heures	heures - jours	jours - vie	jours - vie
Réplication vecteur	non	non	non	oui
Transmission à la descendance	non	non	non	parfois

s : secondes, min : minutes, X : sans objet. GSA : glandes salivaires auxiliaires. Adapté de Nault (1997).

Lorsque le virus est transmis exclusivement par vecteurs, la relation virus – vecteurs est très importante pour la transmission virale. Dans certains cas, les virus peuvent même réagir aux piqûres réalisées par l'un de leurs vecteurs sur leur hôte et optimiser le processus de transmission. Plus précisément, la piqûre réalisée par le vecteur, provoque la formation de corps à transmission i.e. des agrégats de protéines virales et de génomes viraux dans les cellules infectées par le *Cauliflower mosaic virus* (Martiniere *et al.*, 2013).

La majorité des virus transmis par vecteurs semble exclusive par rapport à ces derniers (59% des espèces virales ne sont transmises que par une seule espèce vectrice). Pour un virus donné, le nombre d'espèces vectrices peut tout de même varier de un (e.g : *Bean golden mosaic virus)* (Morales & Singh, 1991) à plus de soixante (e.g : *Cucumber mosaic virus*) (Brunt *et al.*, 1996). Le mode de transmission influence directement le nombre d'espèces vectrices. Les espèces virales qui progressent plus loin que les pièces buccales ont environ 15% de chances supplémentaires d'être exclusives à leur vecteur que les espèces transmises par mode non circulant (Power & Flecker, 2003). En revanche, les vecteurs sont beaucoup moins spécifiques des virus qu'ils transmettent, à titre d'exemple *Myzus persicae* transmet plus de 100 virus. La spécificité de la relation virus – vecteur a également un impact sur la gamme d'hôtes des virus exclusivement transmis par vecteurs, la gamme d'hôtes du virus étant incluse dans celles de l'ensemble des vecteurs.

1.2.3. Choix de l'hôte et inoculation par le vecteur

Les interactions entre l'hôte et le vecteur sont différentes en fonction du couple hôte – vecteur considéré. La majorité des travaux conduits sur ces interactions concerne les pucerons (Fereres & Moreno, 2009), les aleurodes et les cicadelles, 5 phases en lien avec le comportement alimentaire de ces derniers étant décrites : le choix de la plante à distance (pendant le vol), la prise de contact avec l'hôte et le choix de la surface d'atterrissage, l'évaluation des qualités nutritionnelles de l'hôte, l'insertion des stylets dans les tissus appropriés (généralement le phloème) et l'ingestion de la sève (Fereres & Moreno, 2009).

Pour les pucerons, le premier critère permettant le choix d'un hôte est la couleur perçue, les pucerons semblant plus sensibles aux couleurs vertes, bleues et aux ultraviolets (Antignus & Ben-Yakir, 2004). Ils localisent leur hôte par contraste avec les couleurs du sol (Döring *et al.*, 2004). Les aleurodes semblent répondre au même type de stimulus (Mellor *et al.*, 1997) alors que les cicadelles semblent favoriser la couleur jaune (Todd *et al.*, 1990). La couleur est le premier stimulus que le vecteur reçoit (surtout lorsqu'il est loin de son hôte) mais son choix est également orienté par les composés organiques volatiles (COV) émis par les différentes plantes (Nottingham *et al.*, 1991). La perception des COV sert essentiellement à affiner le premier choix du vecteur mais reste peu discriminante. Le choix de se nourrir ou de quitter l'hôte semble s'effectuer après les piqûres d'essai (Kring, 1972).

Le choix de la surface d'atterrissage et d'alimentation est guidé par des stimuli tactiles et olfactifs. Les surfaces lisses favorisent l'atterrissage et l'alimentation alors que les surfaces rugueuses, particulièrement celles qui possèdent des trichomes, sont répulsives pour le vecteur (Döring *et al.*, 2004). Les pucerons et les aleurodes préfèrent se nourrir sur la face inférieure des

feuilles, plus lisse (Summers *et al.*, 1996; Brentassi & Marino de Remes Lenicov, 2006), les cicadelles préférant pour leur part la face supérieure des feuilles (Sreejith & Sebastian, 2015). L'âge des tissus influence aussi le choix du vecteur, celui-ci préférant dans la grande majorité des cas des tissus jeunes, plus tendres (Fereres & Moreno, 2009). Enfin, les COV captés par les sensilles antennaires des vecteurs peuvent orienter le choix de la surface par ces derniers (Pettersson, 1973).

L'alimentation d'un hémiptère se déroule en plusieurs phases bien distinctes : la dégustation de l'hôte, la phase de cheminement durant laquelle le vecteur déplace ses stylets dans l'espace intercellulaire et qui se termine par la rupture de la paroi d'une cellule, la phase de salivation lors de laquelle le vecteur injecte sa salive dans la cellule cible, la phase d'ingestion passive de la sève et dans certains cas une ingestion active du xylème (Tjallingii, 1987). Une fois la surface d'alimentation choisie, les pucerons effectuent plusieurs piqûres d'essai dans les tissus superficiels pour évaluer la qualité nutritive de l'hôte (Fereres & Moreno, 2009). Ces piqûres sont des réflexes chez certains pucerons (e.g. *Myzus persicae*) et se produisent dès qu'ils rencontrent une surface plane (Hashiba & Miwasa, 1970). Au cours de ces piqûres d'essai, le puceron prélève une petite quantité du contenu intracellulaire de son hôte et le goûte avec son organe gustatif interne situé près de l'œsophage (Moreno *et al.*, 2011). Ce type de piqûre superficielle a également été observé chez certains aleurodes (e.g. *Trialeurodes vaporariorum*) (Lei *et al.*, 1998) mais de manière beaucoup plus ponctuelle (environ une fois par heure) et jamais lors de la première minute d'alimentation. D'autres espèces d'aleurodes (e.g. *Bemisia tabaci*) n'effectuent même pas de piqûres superficielles (Janssen *et al.*, 1989), suggérant que les aleurodes utilisent d'autres mécanismes pour choisir leur plante hôte. Ce procédé pourrait être basé sur la reconnaissance des composés chimiques que les aleurodes détectent à la surface des cellules à l'aide de leurs chemosenseurs (Lei *et al.*, 1998). Les cicadelles ont un comportement alimentaire différent, certaines (e.g. *Cicadulina mbila, Empoasca spp*.) n'effectuent pas de piqûres d'essai et détruisent toutes les cellules sur le passage de leurs stylets. Ce comportement alimentaire semble expliquer pourquoi les cicadelles ne sont pas décrites comme vectrices de virus non circulants et sont plus rapides que les pucerons lors de l'acquisition et l'inoculation de virus circulants. Les dommages directs causés par l'alimentation des cicadelles sont par conséquent plus importants que ceux d'autres hémiptères et sont qualifiés de « brûlure de cicadelle » (Lett *et al.*, 2001; Backus *et al.*, 2005).

Une fois que l'hôte a été jugé acceptable par le puceron, ce dernier enfonce ses stylets plus loin dans les tissus, de manière longitudinale, en cherchant à atteindre les vaisseaux conducteurs. Le puceron salive dans le compartiment extracellulaire (apoplasme) ce qui facilite la progression de ses stylets. Il réalise également quelques piqûres dans les cellules proches du cheminement de ses stylets (Fereres & Moreno, 2009). Les aleurodes ont un mode de fonctionnement similaire mais n'effectuent

que peu de piqûres dans les cellules proches de leurs stylets. Les cicadelles sont divisées en deux classes (pointeuses et brûleuses) en fonction de leur comportement alimentaire. Elles semblent diriger directement leurs stylets vers les vaisseaux conducteurs avec des étapes de lacération plus ou moins prononcées selon leur classe d'appartenance. L'ensemble des caractéristiques alimentaires des 3 types de vecteurs est résumé dans le Tableau 2.

Tableau 2 : Caractéristiques d'alimentation des principaux types de vecteur de phytovirus.

Caractéristique	**Vecteurs**		
Type de vecteurs	Pucerons	Aleurodes	Cicadelles
Longueur d'onde de prédilection	Bleu, jaune, UV, vert	Bleu, UV, vert	Jaune, vert
Face de la feuille	Inférieure	Inférieure	Supérieure
Choix de l'hôte	Multiples piqûres d'essai	Chimiorécepteurs	A priori aucun
Fréquence piqûres d'essai	Nombreuses au début	Très rares (1-2/h)	Aucune
Cheminement des stylets	Intercellulaire, test des tissus au fur et à mesure	Intercellulaire	Direct, destruction des cellules sur le chemin
Durée du processus d'alimentation	Longue	Moyenne	Brève

L'hôte ne reste pas passif et possède des mécanismes de défense contre les insectes piqueurs-suceurs. Le premier type de mécanismes est purement physique, certaines espèces végétales disposent de surfaces inadaptées aux vecteurs (e.g. trichomes, cires) (Jaouannet *et al.*, 2014). D'autres mécanismes se déclenchent à différentes périodes, allant de l'hypersensibilité pour les plus rapides en passant par la production de composés de défense (e.g. phytoalexines), la réallocation des glucides dans d'autres compartiments ou encore la production de bouchons de callose dans les vaisseaux pour limiter la progression de l'insecte (Kettles *et al.*, 2013). L'hôte synthétise parfois des composés chimiques qui provoquent une réduction du taux de reproduction des insectes herbivores (e.g. *Myzus persicae* sur *Arabidopsis thaliana* avec la camalexine (Kettles *et al.*, 2013)). Un mécanisme plus orignal consiste en une modification de la composition des COV suite à une attaque

d'herbivore, favorisant l'arrivée d'un parasitoïde tuant l'insecte herbivore (e.g. le maïs et la noctuelle *Spodoptera exigua* (Turlings *et al.*, 1990)).

Les insectes disposent de voies permettant de contourner les défenses de l'hôte, en évitant par exemple la formation de bouchons de callose (Kettles *et al.*, 2013). L'équilibre entre l'efficacité des mécanismes de défense de la plante et de leur contournement par l'insecte détermine si l'insecte peut se nourrir efficacement sur son hôte où s'il doit le quitter pour en chercher un autre.

Une fois l'hôte testé (ou choisi dans le cas des virus circulants) par le vecteur, le processus d'inoculation virale débute. Après inoculation de la première cellule de l'hôte, le virus se multiplie et colonise toute ou partie des cellules de la plante causant des altérations physiologiques (Dawson & Hilf, 1992). Dans la grande majorité des cas, ces altérations physiologiques occasionnent une diminution de la valeur sélective de l'hôte dans son environnement mais il existe des exceptions (Malmstrom & Alexander, 2016). La virulence est définie comme l'altération de l'état physiologique d'un hôte suite à l'exploitation de ses ressources par un phytovirus (Read & Taylor, 2001). Elle tient compte à la fois de l'augmentation de la mortalité et de la réduction de la fécondité de l'hôte (Galvani, 2003). La virulence est spécifique du couple hôte – virus et augmente avec la sévérité des symptômes.

Comme avec les insectes, l'hôte possède des mécanismes de défenses contre les infections. Bien que les végétaux ne disposent pas de système immunitaire au sens strict, par homologie avec les mammifères, il existe des mécanismes qui permettent à l'hôte de se défendre contre le virus. L'efficacité de ces mécanismes dépend beaucoup des espèces végétales et virales considérées mais l'un des plus connus étant le *gene silencing* (Lindbo & Dougherty, 2005). Ce mécanisme, basé sur la reconnaissance et la dégradation des ARN viraux contribue à limiter la multiplication virale dans l'organisme de l'hôte (Ding, 2010). Certains virus parviennent à contourner ce mécanisme à l'aide de protéines suppresseur de *gene silencing* (parmi les plus connues, se trouvent notamment la protéine P19 du *Tomato bushy stunt virus* (Lakatos *et al.*, 2004) ou la protéine P0 présente chez les *Polerovirus* (Bortolamiol *et al.*, 2007)).

Une autre stratégie de l'hôte permettant de résister aux virus se produit sous la forme de réactions d'hypersensibilités (e.g. *Arabidopsis thaliana* en réaction à une infection par le *Tobacco mosaic virus* (Greenberg *et al.*, 1994)). L'hôte accumule une forte concentration d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) provoquant la mort des cellules de l'hôte (Mandadi & Scholthof, 2013). Les réactions hypersensibles émanent de la reconnaissance des protéines virales (e.g. protéine de capside, réplicase, protéine de mouvement) par le produit d'un gène de résistance de la plante (Gururani *et al.*, 2012).

Lorsque le virus infecte un hôte végétal et contourne ses mécanismes de défense, il quitte la cellule initialement infectée (point d'entrée) et se propage dans une partie des tissus de l'hôte. Les mouvements du virus au sein de l'organisme végétal sont subdivisés en deux catégories : les mouvements de cellule à cellule et les mouvements à longue distance par les vaisseaux conducteurs (Samuel, 1934; Hipper *et al.*, 2013).

Le mouvement de cellule à cellule du virus a lieu par l'intermédiaire des plasmodesmes. La protéine de mouvement du virus s'associe aux plasmodesmes, permettant l'ouverture de ces derniers et le passage de la capside ou d'une ribonucléoprotéide dans la cellule adjacente (Gibbs, 1976; den Hollander *et al.*, 2016). Le temps d'infection d'une seconde cellule depuis la première est dépendant du couple virus – hôte mais la majorité des études estime que ce processus prend environ 4 heures à température ambiante (Uppal, 1934; Fry & Matthews, 1963; Derrick *et al.*, 1992).

Le mouvement à longue distance des virus se fait par l'intermédiaire des vaisseaux conducteurs, dans la grande majorité des cas ceux du phloème (Leisner, 1992), plus rarement ceux du xylème (cas du *Southern bean mosaic virus* (Schneider & Worley, 1959)). Dans le phloème, le transport implique 5 étapes : l'entrée dans les cellules compagnes, l'entrée dans les vaisseaux phloémiens, le transport en lui-même, la sortie des vaisseaux et enfin la sortie des cellules compagnes dans le cas des virus généralistes (Hull, 2014). L'étape d'entrée dans le phloème requiert souvent la protéine de capside (Schoelz *et al.*, 2011). La protéine de mouvement semble nécessaire lors de l'entrée et de la sortie du phloème (Fajardo *et al.*, 2013) (Figure 2). Le mouvement à longue distance peut atteindre 3,5 cm/h, ce qui est 10 à 100 fois plus rapide que le mouvement de cellule à cellule (Worley, 1965). La distribution finale du virus dans la plante dépend du type de tissu infecté par le virus, des flux de sève dans la plantes, des capacités de l'hôte à limiter la dispersion du virus environnementaux.

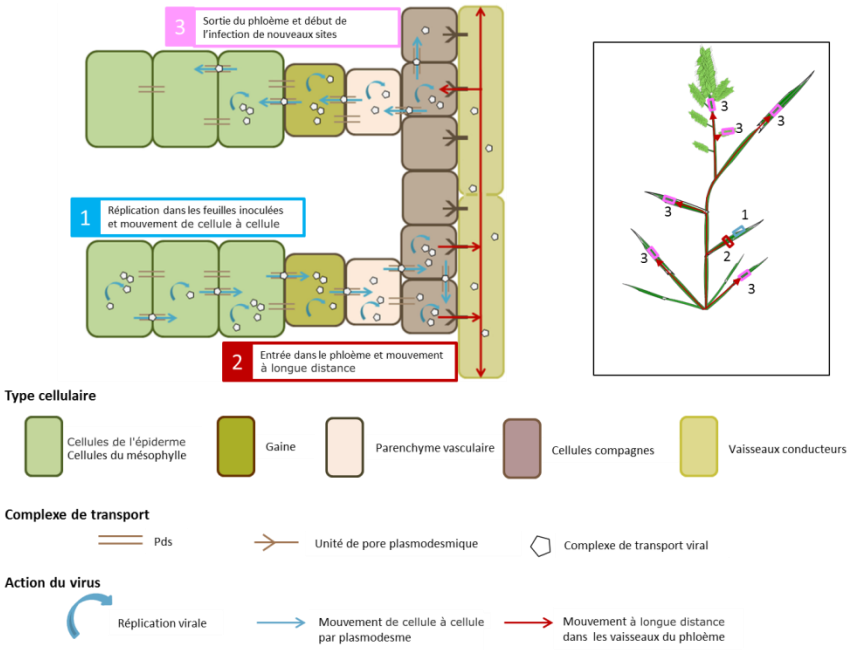


Figure 2 *: Mouvements du virus à courte et longue distance dans l'hôte infecté.* Adapté de (Hipper *et al.*, 2013)

La taille des gammes d'hôtes est très variable, allant d'une espèce identifiée (e.g. *Maize line virus*) (Kulkarni, 1973) à plus de 1200 (pour le *Cucumber mosaic virus)* (Edwardson & Christie, 1991). La spécificité des relations virus – vecteurs et virus – hôte est résumée dans la Figure 3. Les phytovirus sont plus souvent généralistes par rapport à leurs hôtes (seuls 10% des virus n'ont qu'un seul hôte) que par rapport à leurs vecteurs (Power & Flecker, 2003). Par ailleurs, il n'existe pas de virus spécialiste d'un hôte avec une large gamme de vecteurs (Power & Flecker, 2003). La transmission verticale est plus fréquente chez les virus qui possèdent une gamme d'hôtes étroite. Ainsi, 36% des virus spécialistes peuvent être transmis verticalement à l'hôte contre seulement 6% des virus ayant plus d'un hôte identifié (Power & Flecker, 2003).

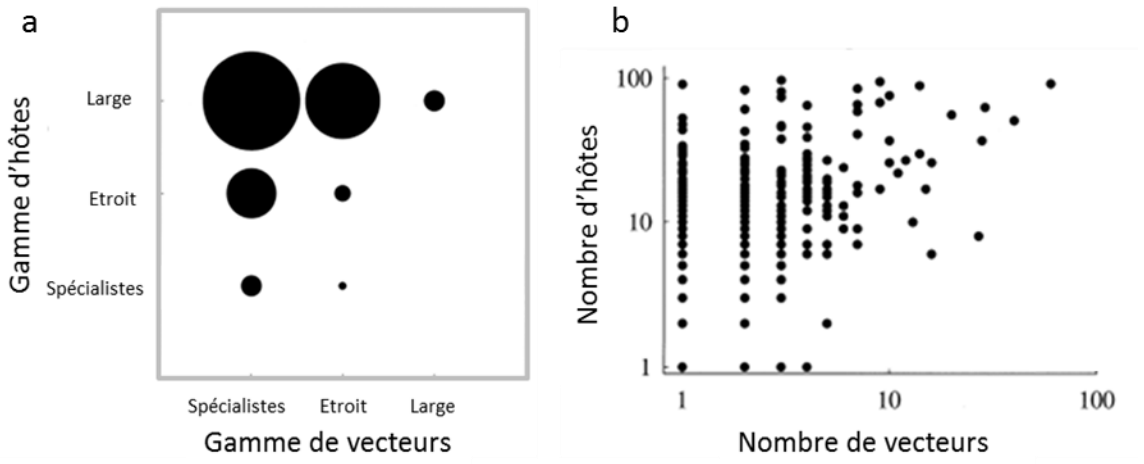


Figure 3 *: Spécialisation des virus par rapport à leurs vecteurs et à leurs hôtes par classe (a) ou par espèce virale (b).* Spécialiste désigne les virus restreints à une seule espèce de vecteur/hôte, étroit les virus associés à 2 à 5 espèces de

vecteurs/hôtes et large désigne les virus associés à plus de 5 espèces de vecteurs/hôtes. L'analyse a été réalisée sur 474 espèces virales. La taille des points est proportionnelle au nombre d'espèces virales dans chaque classe (a). Un point représente une espèce virale (b) **(Power & Flecker, 2003)**.

Il existe deux facteurs majeurs qui peuvent biaiser la connaissance des gammes d'hôtes des virus : l'importance économique du virus et le type d'expérimentation réalisé (Power & Flecker, 2003). La gamme d'hôtes des virus avec un fort impact économique sur les productions agricoles est beaucoup plus étudiée que pour les virus causant des pertes mineures. Le nombre d'études réalisées sur les virus peu représentés dans les cultures étant faible, une sous-estimation de leur gamme d'hôte réelle semble probable. A l'inverse, l'utilisation de certaines méthodes de laboratoire générant une combinaison virus – hôte dans une configuration qui n'existe pas au champ (e.g. agro-infiltration qui dispense du vecteur) peut entraîner une surestimation de la gamme d'hôte du virus par rapport à la situation au champ.

1.2.4. Interactions tripartites modifiant l'équilibre du pathosystème

Dans le cas des virus exclusivement transmis par vecteur, l'infection d'un hôte n'est possible que si le virus et le vecteur parviennent à contourner les défenses de l'hôte. L'équilibre entre les défenses de l'hôte est régit par les interactions entre les différents membres du pathosystème décrites ci-dessus. La nature des relations décrites entre les différents membres du pathosystème peut être modifiée par les interactions tripartites qui affectent l'ensemble du pathosystème.

Les interactions entre les 3 membres d'un pathosystème ont surtout été étudiés pour des vecteurs pucerons et favorisent globalement la transmission du virus (Colvin *et al.*, 2006). Ainsi, certains vecteurs se reproduisent plus rapidement sur des plantes infectées (e.g. *Aphis fabae* sur des plantes infectées par le *Bean yellow mosaic virus* (Kennedy, 1951)), d'autres vivent plus longtemps (e.g. *Myzus persicae* sur des plantes infectées par le *Bean yellow mosaic virus* (Baker, 1960) ou produisent plus d'ailés (e.g. *Aphis craccivora* sur les plantes infectées par le *Groundnut rosette virus* (Naidu *et al.*, 1998) ou *Aphis gossypii* sur les plantes infectées par le *Zucchini yellow mosaic virus* (Blua & Perring, 1992)).

L'hôte infecté est parfois plus attractif pour les pucerons *(e.g. Myzus persicae* et *Aphis gossypii* sont attirés par les plantes infectées par le *Cucumber mosaic virus* (Mauck *et al.*, 2010)) avec une augmentation de la teneur en acides aminés (e.g. infection par le *Tomato spotted wilt virus* (Selman *et al.*, 1961)) ou en glucides (e.g. infection par les virus *Barley/Cereal yellow dwarf* (Fereres *et al.*, 1990)) dans la sève. L'infection par un virus peut également modifier le comportement alimentaire du puceron sur son hôte avec par exemple une réduction de la phase d'inactivité (e.g. *Potato virus Y* et *Macrosiphum euphorbiae* (Boquel *et al.*, 2011)) ou une augmentation de la durée de la phase d'ingestion (e.g. *Tomato yellow leaf curl virus* et *Bemisa tabaci* (Moreno-Delafuente *et al.*, 2013)). La

littérature concernant les interactions triples impliquant un vecteur cicadelle est beaucoup plus limitée, mais on retrouve une augmentation du contenu en acides aminés dans les plantes infectées, ce qui favorise leur choix par les cicadelles (e.g. plantes infectées par le *Beet curly top virus)*. Les infections peuvent aussi changer le comportement alimentaire des cicadelles (qui peuvent ingérer le mésophylle au cours de leur alimentation, ce tissu contenant la majorité des virions sont principalement localisés (Pinner *et al.*, 1993; Mesfin & Bosque-Perez, 1998)) et augmenter les probabilités d'acquisition du virus (e.g. la cicadelle *Cicadulina storeyi* et le *Maize streak virus* (Mesfin & Bosque-Perez, 1998)). Les interactions permettant l'apparition d'une maladie au sein d'un organisme hôte sont représentées sur la Figure 4.

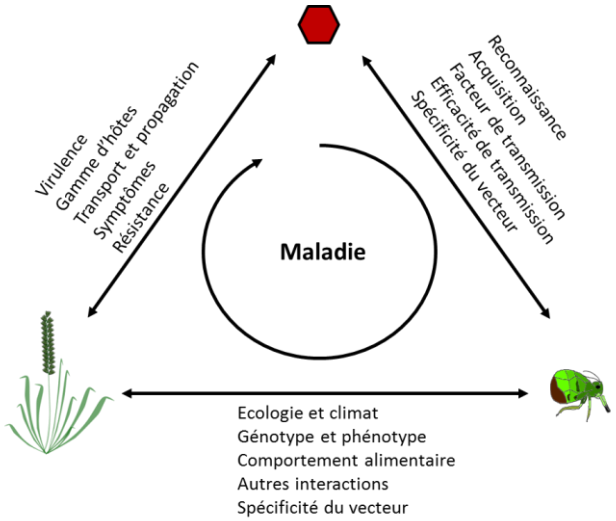


Figure 4*: Interactions entre les 3 membres du pathosystème d'un virus transmis par vecteur au cours d'un cycle infectieux.* Adapté de **(Hull, 2014)**.

La répétition du processus d'infection à plus large échelle est appelée épidémie.

2. Cycles de maladies et épidémies dans un paysage

L'épidémie peut se définir comme la répétition des processus de transmission du phytovirus entrainant une augmentation du nombre d'hôtes infectés. Le cycle de la maladie désigne l'ensemble des interactions entre le pathogène, les hôtes et l'environnement permettant le développement de la maladie (De Wolf & Isard, 2007). Le cycle de maladie le plus simple repose sur une seule espèce hôte (e.g. *Blueberry necrotic shock virus*, un virus infectant les myrtilles uniquement transmissibles par pollen (MacDonald *et al.*, 1991)) alors que d'autres sont plus complexes, avec des interactions entre plusieurs espèces de vecteurs et d'hôtes (e.g. *Tomato ringspot virus*, un virus infectant notamment les tomates et qui est transmissible mécaniquement, par les graines et par des nématodes (Parrella *et al.*, 2003)) (Jones, 2014). La stratégie écologique des virus dans un paysage peut être divisée en 4 catégories selon leur stratégie de maintien dans le paysage : persistant,

endogène, aigu et chronique (Roossinck, 2010). Le maintien dans un paysage prend en compte deux grandes caractéristiques : la possibilité d'infecter de nouveaux hôtes et le maintien dans les plantes infectées.

Le mode persistant correspond à un extrême où le virus ne se transmet pas du tout horizontalement. Le virus ne se déplace même pas dans l'apoplasme de son hôte. La transmission se fait via les gamètes de l'hôte infecté. Bien que ce mode de persistance puisse sembler inefficace, des prévalences locales atteignant 70% ont été observées. Les *Partitiviridae* sont un exemple de famille virale ayant une stratégie écologique persistante (Roossinck, 2010). Le mode endogène correspond aux virus intégrés dans le génome de leur hôte, et donc également transmis verticalement. Ceux-ci sont généralement transmissibles également de manière horizontale, lorsque les séquences de virus sont traduites depuis le génome (e.g. eBSOLV, eBSGFV, eBSIMV) (Geering *et al.*, 2005; Hohn *et al.*, 2008)).

Le mode aigu se caractérise par une transmission horizontale importante, parfois accompagnée d'une transmission verticale dans certaines espèces hôtes. Les virus avec cette stratégie écologique s'accumulent de manière importante dans leurs hôtes. Avec le temps, ce type d'infection peut conduire à la mort de l'hôte, à une rémission ou à un maintien très long dans l'hôte avec une diminution des symptômes (stratégie écologique chronique) (Roossinck, 2010).

Quelle que soit la stratégie écologique utilisée, les cycles de vie des hôtes et des vecteurs ainsi que la spécificité de leur relation sont des éléments clés pour comprendre le cycle épidémique des virus étudiés.

2.1. Paramètres conditionnant la réalisation des cycles des maladies

2.1.1. Importance de la biologie des hôtes dans le cycle des maladies

Le cycle de vie et le nombre d'espèces hôtes ont une influence sur la réalisation du cycle épidémique interannuel. La présentation de ce cycle est souvent centrée sur le rôle des hôtes cultivés.

Lorsque l'hôte est pérenne, le virus peut se maintenir plusieurs années dans le paysage au sein de ce dernier (Figure 5a). L'hôte n'étant pas retiré du paysage lors de la récolte, il peut servir de source virale lorsque le virus est transmissible horizontalement. La présence d'un hôte cultivé pérenne n'exclut pas l'infection d'autres espèces hôtes par le virus mais ces infections ne sont pas nécessaires à la réalisation du cycle de la maladie dans le compartiment cultivé (Llácer, 2006; Garcia *et al.*, 2014).

En revanche, lorsque l'hôte cultivé est annuel, certains modes de récolte sont destructifs pour l'hôte cultivé (e.g. céréales, pomme de terre, oignon, salade). L'état physiologique de l'hôte peut également être altéré avant sa récolte (e.g. dessèchement des céréales). Ces événements peuvent causer une rupture du cycle épidémique dans le compartiment cultivé en retirant la population infectée du paysage. Lorsque la transmission verticale est possible, les virus peuvent se maintenir plusieurs années consécutives dans les parcelles, mais ce mécanisme ne concerne qu'un nombre limité (environ 15%) d'espèces virales. L'interculture constitue donc, dans la majorité des cas, une interruption du cycle de la maladie dans le compartiment cultivé. Lorsque l'hôte cultivé en question n'est pas immédiatement ressemé, la réalisation du cycle épidémique dans les cultures implique la présence d'une population alternative pendant l'interculture. L'analyse du cycle épidémique dans son intégralité requiert alors la compréhension de la dispersion du pathogène dans ce réservoir de maintien qui est une étape incontournable du cycle de la maladie dans les cultures (Figure 5).

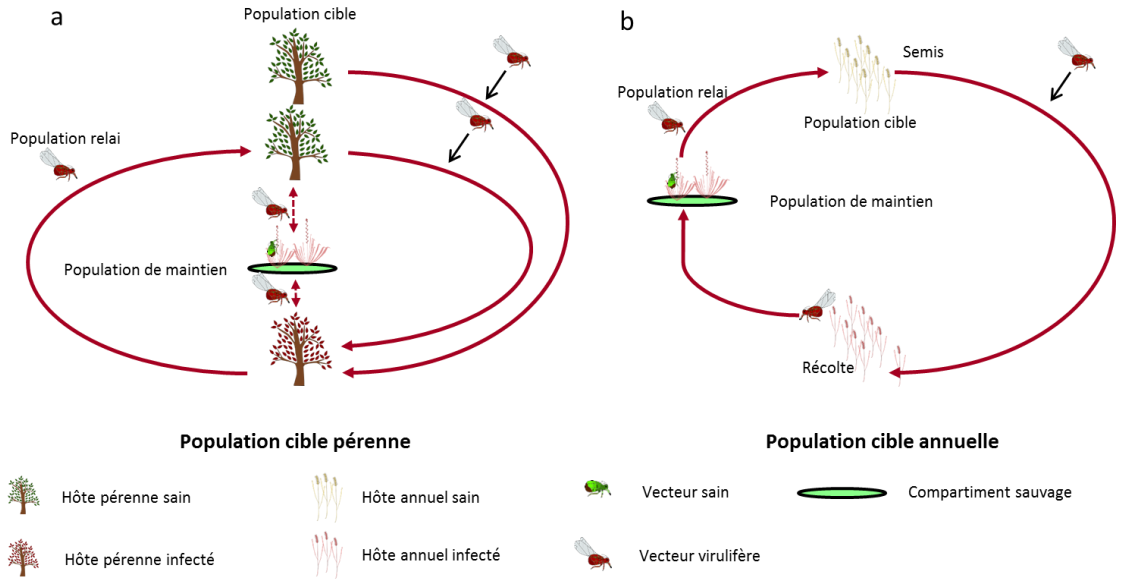


Figure 5 *: Cycles épidémiques viraux dans le cas d'une culture pérenne (a) ou annuelle (b).*

La compréhension de la dispersion et du maintien du virus requiert donc de s'intéresser aux hôtes cultivés mais également aux autres populations (plantes non cultivées, vecteurs) qui peuvent jouer un rôle dans le cycle de la maladie.

2.1.2. Importance de la biologie des vecteurs dans le cycle des maladies

Le nombre d'espèces vectrices a une importance à la fois dans la propagation du virus car un nombre d'espèces vectrices plus élevé donne potentiellement accès à un plus grand nombre d'hôtes (Power & Flecker, 2003). Au-delà de la présence des vecteurs, leur cycle de vie peut conditionner le maintien d'un virus dans le paysage. Les vecteurs peuvent être divisés en deux catégories selon leur

stratégie reproductive : les r-stratèges et les K-stratèges. Les r-stratèges désignent les vecteurs qui se reproduisent rapidement, en très grand nombre mais qui vivent peu de temps. Ce type de stratégie favorise une dispersion rapide du virus par des populations de vecteurs nombreuses. Cette dispersion est favorable dans des environnements instables (avec des modifications fréquentes dans les compositions d'hôtes) et à la colonisation de nouveaux espaces (Harrison, 1981). A l'inverse, les K-stratèges sont des vecteurs avec un taux de reproduction plus bas, un temps de développement plus long mais également une durée de vie supérieure. Cette stratégie induit une stabilité relative des populations de vecteurs et favorise une progression du nombre d'infections sur le long terme ainsi qu'une stabilité du virus dans les environnements déjà colonisés (Harrison, 1981). Les K-stratèges favorisent la persistance du virus dans le compartiment vecteur en raison de leur durée de vie plus longue, et pourraient contribuer au maintien du virus dans le paysage, même en l'absence d'hôtes (e.g. cas conceptuel du *Beet curly top virus* et de la cicadelle *Circulifer tenellus* (Creamer *et al.*, 2003)) (Figure 6a). En pratique, de tels cas restent très rares et peu de vecteurs peuvent survivre aussi longtemps dans la nature et ces éléments sont très mal décrits.

Certains virus sont également transmissibles d'une génération de vecteurs à l'autre en l'absence d'hôtes, par voie transovarienne. Ce mécanisme de transmission reste relativement peu représenté chez les virus de plantes, seuls certains virus circulants multipliants (qui représentent 11,8% des espèces de virus végétaux (Hogenhout *et al.*, 2008)) pouvant être transmis de cette manière. Si l'efficacité de ce mécanisme de transmission est variable (e.g. entre 20 et 100% chez les *Tenuivirus* (Falk & Tsai, 1998; Heydarnejad *et al.*, 2007), il pourrait s'agir d'un mécanisme important de maintien du virus dans le paysage, en l'absence d'hôte (e.g. cas du *Rice stripe virus* et du fulgore *Laodelphax striatellus* (Figure 6b). En pratique, le *Rice stripe virus* a un effet délétère sur le développement de son vecteur, ce qui conduit à fortement limiter l'expansion de populations d'insectes virulifères (Li *et al.*, 2015). La combinaison des deux mécanismes de maintien bien que possible sur le papier, reste peu décrite dans la littérature, l'ensemble des éléments produits semblant écarter ces possibilités.

Si les vecteurs peuvent permettre la transmission des virus entre hôtes, il paraît peu probable qu'ils participent au maintien du virus durant l'absence de l'hôte cultivé du paysage. La définition des rôles de chacune des populations impliquées dans le cycle de la maladie semble essentielle pour comprendre le déroulement de ce cycle.

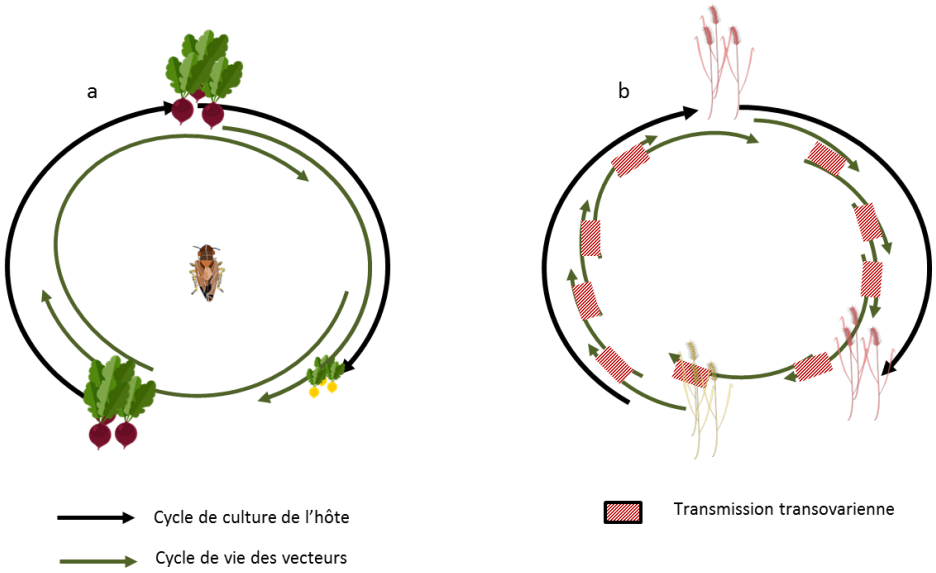


Figure 6 : Représentation théorique du rôle des vecteurs dans le maintien des virus dans les cultures. a : Vecteurs avec de longs cycles de vie pouvant servir de réservoir au virus en l'absence d'hôtes, b : Transmission transovarienne chez le vecteur lui conférant un rôle de réservoir en l'absence d'hôte.

2.2. Rôle des différentes populations dans les épidémies

2.2.1. Définition du rôle épidémiologique des différentes populations

Lors d'un cycle épidémique, on peut diviser les populations d'organismes en fonction de leur rôle dans l'épidémiologie du virus étudié. Ainsi, la population d'intérêt (très souvent économique) est nommée population cible. Il s'agit de la population dont on essaie de prédire les taux d'infections pour mieux la protéger. Cette population peut être toujours présente dans l'environnement étudié (hôte continu) ou absente pendant une période (hôte discontinu) (Zhang & Holt, 2001). Une espèce d'hôtes annuels constitue un bon exemple de population discontinue.

En parallèle, la plupart des cycles épidémiques comportent une population de maintien dans laquelle le pathogène peut subsister en l'absence d'autres hôtes. Si cette population sert de réservoir viral pour la population cible, elle est également appelée population source (Haydon *et al.*, 2002). Il ne s'agit cependant pas de la seule population, les cultures infectées étant aussi des sources.

Dans le cas des végétaux, Il est rare que la population source et la population cible interagissent directement. Le passage du virus étudié de l'une à l'autre se fait par l'intermédiaire d'une population relai. Il s'agit d'une population composés d'organismes dans lesquels le virus ne peut pas se maintenir mais qui est directement connectée aux deux autres populations (Caron *et al.*, 2015). Dans le cas de virus végétaux transmis par vecteurs, ces derniers sont un bon exemple de population relai.

2.2.2. Actions menées pour limiter les épidémies dans la population cible

La gestion d'une épidémie peut s'effectuer par des actions sur chacune de ces populations (Haydon *et al.*, 2002). Une première possibilité est d'agir sur la population cible afin d'y limiter la prévalence du virus. Selon la nature de la population cible, l'action peut être préventive (utilisation de substances de défense des plantes, anticipation de la présence du virus en adaptant les pratiques culturales par exemple) ou épuratrice (élimination de l'hôte infecté, par exemple l'arrachage de l'arbre après la détection de son infection dans le cas de la sharka) (Pleydell *et al.*, 2018). Les actions sur la population cible est ne requièrent aucune connaissance sur les deux autres types de populations. Cependant elles ne sont pas toujours économiquement acceptables (en raison des pertes économiques qu'elles peuvent engendrer) ou réalistes (taille de la population cible trop importante, rendant la prospection et l'arrachage sélectifs très difficiles (dans le cas des céréales par exemple)). Elle peut également s'avérer insuffisante si la pression du pathogène est forte (Haydon *et al.*, 2002).

Une autre option pour diminuer l'impact des épidémies est de réduire les effectifs des populations relai pour limiter les contacts indirects entre populations sources et cibles. L'utilisation d'insecticides pour éliminer les insectes vecteurs est une des illustrations de ce principe. Cette pratique peut donner des résultats satisfaisants sur le plan économique dans certains cas, comme la gestion des virus Barley/Cereal yellow dwarf, du *Tomato yellow leaf curl virus* ou encore du *Potato leafroll virus* (Boiteau & Singh, 1999; Ahmed *et al.*, 2001; Royer *et al.*, 2005). Cependant, elle peut soulever des controverses quant aux effets sur l'environnement de la matière utilisée (Plumb, 1986). Cette approche est souvent choisie pour limiter l'impact des virus transmis par vecteurs, parfois en association avec une autre méthode (adaptation des pratiques culturales). Souvent considérée comme assez générique, elle est particulièrement difficile à mettre en œuvre si les populations relais sont très variées ou méconnues dans le système.

Un autre type de solution consiste à essayer de réduire la population de maintien ou au moins de limiter son rôle dans l'épidémie virale dans le compartiment cultivé. L'objectif de ce type d'approche est de limiter le nombre d'infections primaires dans les parcelles, notamment au démarrage des cultures. Cette solution, bien moins générique, nécessite une bonne connaissance des différentes populations de maintien (identifier quels sont les hôtes du virus, leur période de présence par rapport à la population cible et aux virus étudiées). Les populations de maintien peuvent être de nature différentes mais le compartiment sauvage est souvent cité comme réservoir potentiel de virus (Haydon *et al.*, 2002; Roossinck, 2010; Caron *et al.*, 2015; Ingwell *et al.*, 2017).

2.2.3. Définition des compartiments cultivés et sauvages

Le compartiment cultivé désigne l'ensemble des parcelles contenant des espèces végétales semées par l'agriculteur. Il s'agit généralement de la population cible dans le cadre des travaux en épidémiologie. Ce compartiment subit de fréquentes interventions humaines (e.g. contrôle régulier des populations présentes dans les champs, utilisation de matières actives pour lutter contre les ravageurs ou les vecteurs) (Burdon & Thrall, 2008). Une partie de ces interventions vise à réduire la compétition interspécifique en éliminant les plantes non cultivées présentes dans la parcelle. L'ensemble de ces conditions contribue à générer un environnement génétiquement très peu diversifié avec une forte densité d'hôtes potentiels (Burdon & Thrall, 2008). La combinaison de ces deux facteurs rend le compartiment cultivé potentiellement très propice aux épidémies virales.

Le compartiment sauvage d'un paysage est constitué de l'ensemble des espèces végétales sur lesquelles il n'y a pas d'intervention humaine directe (Alexander *et al.*, 2013). Il est beaucoup plus hétérogène que le compartiment cultivé, avec des variations interspécifiques (diversité beaucoup plus importante) et intraspécifiques (âge, stade de développement). La densité d'hôtes du pathogène est généralement beaucoup moins importante que dans les parcelles cultivées, avec la présence d'espèces non hôtes en mélange. En revanche, la diversité génétique des espèces présentes dans le compartiment sauvage favorise la diversité génétique des populations de pathogènes qui s'adaptent, en réponse aux multiples hôtes différents colonisables. La prévalence virale dans le compartiment sauvage est souvent moindre que celle observée en champ, hormis dans certaines prairies monospécifiques (Bos, 1981; Roossinck, 2010; Ingwell *et al.*, 2017). La présence simultanée de plusieurs espèces végétales dans un même environnement entraîne une forte compétition interspécifique qui est défavorable à l'apparition d'isolats très virulents. En effet, ces isolats imposent des désavantages sélectifs importants à leur hôte (e.g. biomasse réduite, physiologie altérée, nombre de graines réduit) qui sont limitants pour l'espèce hôte dans un contexte aussi compétitif. L'isolat agressif risque donc de disparaître avec son hôte (Burdon & Thrall, 2008; Burdon *et al.*, 2013; Alexander *et al.*, 2013).

Les hôtes sauvages et cultivés ne sont pas totalement séparés dans un paysage. On peut par exemple trouver des plantes non cultivées dans les parcelles (adventices), l'élimination de ces dernières par l'agriculteur étant souvent partielle. Par ailleurs, les bords de parcelles constituent une frontière entre hôtes cultivés et hôtes sauvages (Burdon & Thrall, 2008). Cette frontière n'est pas fermée mais elle constitue une véritable zone d'échanges ou interface agro-écologique. Dans cette zone du paysage, la proximité spatiale est forte non seulement entre les hôtes sauvages et cultivés, mais aussi entre les différentes populations de pathogènes associées. L'interface agro-écologique est une zone permettant des recombinaisons importantes pour les populations de pathogènes (Burdon

& Thrall, 2008). La réduction de l'espace entre les deux types d'hôtes favorise la transmission des pathogènes d'un type d'hôtes vers l'autre par les vecteurs en diminuant la distance à parcourir par ces derniers (Alexander *et al.*, 2013).

2.2.4. Rôle du compartiment sauvage dans la propagation des phytovirus

Le compartiment sauvage a été particulièrement peu étudié dans le cadre des épidémies de virus végétaux (Alexander *et al.*, 2013). Il y a plusieurs raisons qui expliquent cette carence dans le nombre d'études réalisées, la première étant la difficulté d'étudier le statut sanitaire des plantes sauvages sans moyens techniques importants. En effet les plantes sauvages exprimant peu de symptômes en réponse à une infection virale, il n'est pas souvent possible d'identifier les plantes infectées avec une méthode symptomatologique là où cette option peut être envisageable pour les plantes cultivées (Cooper & Jones, 2006). L'arrivée d'outils sérologiques et moléculaires a permis une progression importante dans la capacité de détection de ces infections, notamment en conditions naturelles (où la caractérisation biologique était peu adaptée aux études à grande échelle). Au-delà de la difficulté posée par l'aspect technique de l'étude, il est difficile de conclure sur le statut « non infecté » d'un hôte sauvage. Si le suivi des populations de vecteurs est parfois réalisé en parcelles, notamment par les agriculteurs pour savoir quand positionner leurs traitements phytosanitaires, ce type de suivi est rarement réalisé dans le compartiment sauvage. En conditions naturelles, il est donc très difficile de faire la différence entre une plante non inoculée et non infectée, notamment dans le compartiment sauvage où les populations de vecteurs ne sont pas surveillées.

Il n'y a que très peu de suivis épidémiques périodiques dans le compartiment sauvage sauf pour des épidémies marquantes avérées ou attendues (Cooper & Jones, 2006). L'ensemble de ces facteurs (plantes moins symptomatiques, manque de surveillance, faible densité d'hôtes sensibles, forte diversité d'espèces végétales) rendent les épidémies virales plus difficiles à détecter dans le compartiment sauvage que dans les cultures. En conséquence, l'étude du compartiment sauvage est souvent considérée comme complexe et couteuse, ce qui a contribué à limiter le nombre d'études réalisées. Le faible nombre d'étude réalisé ne permet pas une surveillance efficace du compartiment sauvage, permettant la dispersion des pathogènes dans le compartiment sauvage. Ces maladies peuvent rester longuement cachées dans le compartiment sauvage jusqu'à leur passage dans le compartiment cultivé. Ce passage peut être facilité par un changement de pratiques dans le paysage agricole (e.g. introduction d'une nouvelle espèce cultivée, intensification d'une culture) (Cooper & Jones, 2006) et causer des pertes localement très élevées. L'émergence de nouvelles maladies causées par des virus n'est d'ailleurs par un phénomène rare, représentant quasiment la moitié des maladies émergentes en agriculture (Anderson *et al.*, 2004).

Même si le compartiment sauvage peut avoir un impact très important dans le cycle des maladies des cultures, ce rôle n'est pas systématique. L'importance du compartiment sauvage dans les cycles des maladies des cultures dépend à la fois de la biologie de l'hôte cultivé mais également de l'espèce virale. On peut diviser les espèces virales en deux catégories en fonction du type de compartiment (cultivé ou sauvage) dans lequel elles sont régulièrement identifiées. Une espèce virale est qualifiée de CULPAD (cultivated-plant-adapted) si elle est majoritairement trouvée dans les cultures, et de WILPAD (wild-plant-adapted) si elle est retrouvée à la fois dans les espèces sauvages et cultivées (Harrison, 1981). Les virus CULPAD ont une gamme d'hôtes plus réduite que celle des WILPAD. La transmission par vecteur est souvent plus réduite chez les virus CULPAD qui sont plus souvent transmis par contact (e.g. les *Tobamovirus* forment de nombreuses particules très stable, facilement transmissibles par contact) ou de manière verticale (e.g. *Ilarvirus).* Ils exploitent leurs particularités de transmission pour persister longtemps dans le paysage. Les virus WILPAD, au contraire, sont davantage transmis par insecte (e.g. *Geminivirus, Luteovirus)* et leur persistance dans le paysage s'explique soit par une période de rétention très longue (*Geminivirus),* soit par l'infection de plantes pérennes qui servent de réservoirs (*Luteovirus)* (Harrison, 1981). Une espèce virale capable d'infecter à la fois des espèces végétales cultivées et sauvages mais présentant de grandes différences entre isolats de ces compartiments est considérée comme CULPAD (Harrison, 1981). Le retrait des hôtes sauvages est donc une stratégie efficace pour limiter la propagation des WILPAD mais pas pour limiter celle des CULPAD (Cooper & Jones, 2006). Plus un virus possède d'hôtes sauvages dans sa gamme d'hôtes, moins sa dynamique épidémique sera impactée par la récolte de ses hôtes cultivés, ce dernier possédant plusieurs autres hôtes alternatifs (Jones, 2004; Cooper & Jones, 2006).

L'importance du compartiment sauvage dans la propagation des virus phytopathogènes transmis par vecteurs peut aller de négligeable (e.g. *Pea seedborne mosaic virus* (Stevenson & Hagedorn, 1973)) à essentielle (e.g. *Lettuce necrotic yellows virus* (Stubbs & Grogan, 1963)). Une des études les plus emblématiques concernant le rôle du compartiment sauvage dans les épidémies a été réalisée au Canada où plus de 99.000 échantillons appartenant à 188 espèces de 53 familles botaniques ont été prélevés sans parvenir à y détecter le *Plum pox virus* (PPV) alors que ce virus possède une large gamme d'hôtes au laboratoire et que ces plantes ont été prélevées dans des sites où la prévalence du PPV dans les *Prunus* atteignait au moins 10% (Stobbs *et al.*, 2005).

Même en cas de détection du virus dans le compartiment sauvage, il n'est pas possible d'affirmer directement un rôle de ce dernier dans le cycle épidémique du virus. Il est possible que les isolats présents dans le compartiment sauvage et le compartiment cultivé soient très différents et que les virus infectant un type d'hôtes ne puissent infecter l'autre (Stubbs & Grogan, 1963). Seule

une ressemblance génétique importante entre les populations d'isolats issus des compartiments sauvages et cultivés permet de conjecturer l'existence de flux entre ces compartiments.

La composition (en espèces notamment) n'est pas le seul paramètre important pour comprendre l'évolution d'une épidémie. Même si deux communautés se ressemblent en terme de composition végétale, les prévalences virales entre elles peuvent être très différentes en fonction de l'aménagement de l'espace. En effet, lorsqu'un pathogène change d'hôte il doit parcourir une distance différente suivant la localisation de la source et du nouvel hôte. Le cycle épidémique d'un phytovirus dans un environnement est aussi affecté par l'agencement des espèces végétales(Cooper & Harrison, 1973).

2.3. Impact de la structure du paysage sur les épidémies virales

Dans la pratique, les différentes populations sensibles (cible et de maintien) ne sont pas toutes contigües et le virus franchit l'espace qui les sépare au cours des différentes phases de l'épidémie. En considérant que les différentes populations d'hôtes sont fragmentées dans le paysage, un des paramètres importants pour estimer leur rôle dans l'épidémie est la connectivité du paysage. Ce paramètre peut être divisé en deux principales composantes : la structure du paysage et la composition en espèces de chacune des populations (Plantegenest *et al.*, 2007).

2.3.1. Connectivité physique du paysage

La connectivité physique correspond à la distance géographique entre deux communautés hôtes. Elle est fortement influencée par la structure du paysage, notamment la présence d'obstacles qui augmentent artificiellement la distance entre communautés. Les principaux paramètres sont ceux qui ont une influence sur le vent, tels que les haies (Marrou *et al.*, 1979) ou au contraire les corridors (Tischendorf & Fahrig, 2000) qui peuvent interférer avec la dispersion des vecteurs. Globalement les éléments faisant obstacle au vent sont plutôt un frein à la dispersion des agents pathogènes et inversement (Marrou *et al.*, 1979). Au contraire, il est possible que les obstacles servent de refuges aux vecteurs des agents pathogènes et favorisent la dispersion du virus en maintenant les populations de vecteurs (Irwin & Thresh, 1990).

Un autre paramètre structural ayant une influence sur la dispersion des pathogènes est la taille des zones dans le paysage (Traore *et al.*, 2005). L'influence de la taille des parcelles est difficile à estimer étant donné que deux effets potentiellement antagonistes coexistent. D'une part la multiplication des parcelles augmente la distance que le virus parcourt entre chaque communauté par rapport à une grande parcelle, ce qui tend à réduire les taux d'infections observés (Traore *et al.*, 2005). Cet effet affecte majoritairement la dispersion des CULPAD. D'autre part, une hausse du nombre de parcelles augmente la surface de contact entre les populations sources et cibles. Plusieurs

études ont ainsi montré que les bords des parcelles sont souvent plus infectés que le centre par les agents pathogènes (Rizzo & Garbelotto, 2003; Dallot *et al.*, 2004). Cet effet est plutôt favorable à la dispersion des WILPAD. La présence d'espèce non hôtes du virus dans le paysage a aussi une influence physique sur la dispersion des virus, augmentant la distance à parcourir par le vecteur avant de trouver un nouvel hôte (Cooper & Jones, 2006). L'éloignement physique des populations hôtes provoque généralement une diminution de la prévalence virale dans le paysage (Keesing *et al.*, 2006; Plantegenest *et al.*, 2007).

2.3.2. Connectivité biologique du paysage

Le deuxième type de paramètres qui influence la connectivité d'un paysage est la composition en espèces des différentes populations. De manière générale, une augmentation de la diversité des espèces présentes dans le paysage provoque une diminution du risque de maladie. La présence d'espèces non hôtes pour le virus entraîne un effet de dilution des hôtes. Cette dilution s'explique par le fait que le virus peut entrer en contact avec des espèces non hôtes, réduisant *de facto* sa prévalence globale dans le paysage (Figure 7a). La présence d'une espèce non hôte supplémentaire contribue parfois indirectement à réduire l'efficacité de transmission du pathogène lorsque sa présence a des effets positifs sur la physiologie de l'hôte sensible, contribuant à une réduction de la charge virale dans les tissus de l'hôte infecté (Figure 7b) (Keesing *et al.*, 2006).

Deux autres phénomènes ont des effets plus modérés impliquant la réduction du nombre d'hôtes disponibles, par augmentation de la mortalité des plantes infectés ou par augmentation de la compétition interspécifique (Keesing *et al.*, 2006) (Figure 7c et Figure 7e). La présence du virus contribue à moduler la composition des communautés végétales. La virulence du virus étant variable suivant l'espèce végétale infectée, l'infection modifie la compétition entre les espèces d'un même environnement en éliminant les hôtes les plus sensibles et en infectant uniquement certaines espèces (Malmstrom *et al.*, 2005b). Dans certains cas, une infection virale peut même être favorable à l'hôte (Malmstrom & Alexander, 2016). La diminution de la densité des espèces hôtes peut parfois augmenter la probabilité d'acquisition du virus à court terme. En effet un nombre inférieur de plantes est disponible pour une population identique de vecteurs, augmentant le ratio de plantes infectées sur le nombre de plantes disponibles (Irwin & Thresh, 1990). Il semble cependant que cette diminution soit bénéfique sur le long terme (Burdon & Chilvers, 1982). L'ensemble des effets causés par une dilution des hôtes sensibles est expliqué dans la Figure 7. Le cas (d) n'est pas applicable aux plantes.

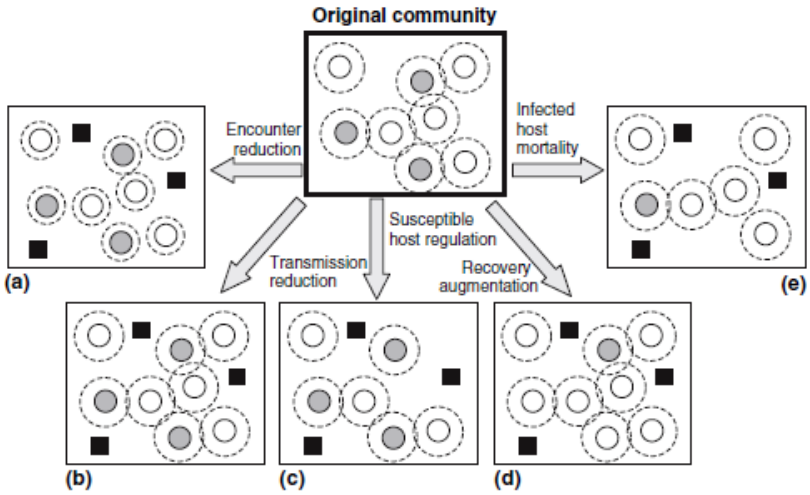


Figure 7: ***Mécanismes liant une augmentation de la diversité et une baisse de la prévalence virale.*** *Les ronds représentent l'espèce sensible, les carrés une espèce non hôte. Les ronds pleins désignent les hôtes infectés. 7a : réduction de la probabilité de rencontre virus-hôte avec l'ajout d'espèces non hôtes, 7b : réduction de la transmission causée par une augmentation de fitness due à la nouvelle espèce non hôte, 7c : réduction du nombre de plantes hôtes (compétition inter spécifique), 7d : augmentation de la rémission, 7e : mort des hôtes infectés* (Keesing *et al.*, 2006).

Cependant, dans le cas d'un virus qui possède plusieurs vecteurs, la multiplication des hôtes peut permettre à d'autres vecteurs d'acquérir ce dernier et ainsi contribuer à une hausse de la transmission (Randolph & Dobson, 2012).

Au-delà de la diversité des espèces étudiées, la présence d'un hôte très sensible au virus peut à elle seule causer une augmentation importante du nombre de plantes infectées dans les communautés. Les individus de cette espèce sont facilement infectés et servent de source à l'infection d'autres espèces moins sensibles, augmentant la pression du pathogène de manière générale (Power & Mitchell, 2004). A l'inverse, une espèce infectée par un virus peut avoir un rôle mineur dans l'épidémiologie de ce virus si elle n'est pas hôte de ces principaux vecteurs (Cooper & Jones, 2006). Le nombre d'hôtes joue un rôle important dans l'épidémiologie des phytovirus. Le choix de la méthode d'évaluation de la biodiversité a un impact important dans le processus de compréhension des épidémies de virus.

2.3.3. Indice de biodiversité

2.3.3.1. Diversité alpha

La diversité alpha caractérise la diversité des espèces présentes au sein d'une même communauté, par exemple dans un site géographique. Ces mesures reposent sur deux caractéristiques des communautés étudiées : le nombre d'espèces présentes (ou richesse d'espèces) et leur importance relative (ou uniformité) (Whittaker, 1960). Rapidement, les indices de mesures de la diversité alpha se sont multipliés (Shannon, 1948; Simpson, 1949; Whittaker, 1960; Hill, 1973;

Chao, 1987), créant des confusions sur le sens des termes (e.g. diversité et richesse) et l'indice à utiliser. Ces confusions ont pris tellement d'ampleur que certains auteurs ont remis en question l'intérêt d'étudier la diversité en proposant des mesures alternatives (Hurlbert, 1971). En pratique, le choix de l'indice s'effectue en fonction de l'objectif de l'étude et certains auteurs conseillent l'utilisation de plusieurs indices afin d'affiner le résultat obtenu (Whittaker, 1972).

Il existe de très nombreux indicateurs de diversité alpha en biologie végétale, le plus simple et le plus utilisé encore aujourd'hui étant la richesse (Whittaker, 1960; Magurran, 2013). Cet indicateur est simplement le nombre d'espèces présentes dans la communauté étudiée. Chaque espèce ayant le même poids dans cet indice, les espèces rares sont surreprésentées dans le calcul par rapport à leur répartition dans le prélèvement. La richesse est un indice peu efficace pour discriminer différents sites au sein d'un même prélèvement mais permet de mieux prendre en compte l'influence de facteurs extérieurs (e.g. intervention humaine) sur la biodiversité (Morris *et al.*, 2014). A l'inverse, l'indice de dominance de Berger Parker (Berger & Parker, 1970) correspond à la proportion de l'espèce la plus représentée dans le prélèvement. Il n'est pas adapté à la caractérisation de la diversité dans un prélèvement mais permet de mettre facilement en évidence une espèce très représentée (Equation 1).

$$BP = \frac{N_{max}}{N_{tot}}$$

Equation 1 : Calcul de la dominance par l'indice de Berger-Parker. Nmax représente le nombre d'individus de l'espèce la plus représenté, Ntot représente le nombre d'individus total du prélèvement.

La richesse et la dominance de Berger-Parker sont des indices parfois considérés comme trop simple pour mettre en évidence les différences de compositions présentes entre sites. D'autres indices plus résolutifs leur sont parfois préférés comme l'indice de Shannon, ou l'indice de diversité de Simpson. Le choix de l'indice s'effectue en fonction de l'objectif de l'étude et de la distribution des effectifs prélevés, l'indice de Shannon étant peu influencés par les différentes prévalences, celui de Simpson étant très sensibles aux espèces très représentées dans le prélèvement.

L'indice de Shannon (H') est basé sur l'incertitude entourant l'identité d'un inconnu dans un système d'information (Shannon, 1948). Un indice élevé est indicateur d'une diversité plus importante. Cet indice est cependant compliqué à interpréter en tant que tel (surtout lorsque l'information sur le nombre d'espèces n'est pas donnée). Pour étudier l'homogénéité de répartition entre espèce au sein d'un même site, l'indice d'uniformité de Pielou (J') lui est généralement préféré (Pielou, 1966). Il s'agit du quotient entre l'indice de Shannon calculé (H') et l'indice de Shannon maximal théorique (H_{max}). H_{max} est obtenu en calculant l'indice de Shannon avec une répartition

homogène de toutes les espèces. J' est compris entre 0 et 1. Plus J' est proche de 1, plus la répartition des espèces au sein du site est homogène (Equation 2 et 3).

$$H' = -\sum P_i \ln(P_i)$$

Equation 2 : Calcul de la diversité par l'indice de diversité de Shannon. Pi représente la proportion de chaque espèce dans le prélèvement.

$$J' = \frac{-\sum P_i \ln(P_i)}{\ln(S)} = \frac{H'}{H_{max}}$$

Equation 3 : Calcul de la diversité par l'indice d'homogénéité de Pielou. Pi représente la proportion de chaque espèce dans le prélèvement et S le nombre total d'espèces dans le prélèvement.

L'indice de diversité de Simpson est parfois utilisé à la place de celui de Shannon pour des questions de facilité d'interprétation. Il représente la probabilité que deux échantillons tirés au hasard dans le prélèvement appartiennent à la même espèce (Simpson, 1949). Il est négativement corrélé avec la diversité présente dans une communauté. Afin de faciliter l'interprétation de l'indice, on parle souvent de l'indice de diversité inverse Simpson qui correspond à l'inverse du précédent. Le calcul de l'indice de diversité de Simpson se fait de la façon suivante (Equation 4 et 5) :

$$\lambda = \sum p_i^2$$

Equation 4 : Calcul de la diversité par l'indice de diversité de Simpson. Pi représente la proportion de chaque espèce dans le prélèvement.

$$\frac{1}{\lambda} = \frac{1}{\sum p_i^2}$$

Equation 5 : Calcul de la diversité par l'indice de diversité de l'inverse Simpson. Pi représente la proportion de chaque espèce dans le prélèvement.

Un récapitulatif de l'ensemble des caractéristiques des indices de diversité alpha est présenté Tableau 3.

Tableau 3*: Résumé des caractéristiques des principaux indices de diversité alpha.*

Nom	Richesse	Berger-Parker	Pielou	Inv. Simpson
Equation	R = $\sum S$	$BP = \frac{N_{max}}{N_{tot}}$	$J' = \frac{-\sum P_i \ln(P_i)}{\ln(S)}$	$\frac{1}{\lambda} = \frac{1}{\sum p_i^2}$
Mode calcul	Compte	Proportion	Prévalences	Prévalences
Prévalences espèces	Rares	Plus commune	Moyennes	Communes
Avantages	Très simple, Visibilité effets principaux	Très simple	Robuste aux différences d'effectifs	Simple, résolutif
Inconvénients	Peu résolutif	Peu résolutif	Complexe	Sensible aux différences de prévalences

Prévalences désigne les prévalences des espèces ayant le plus de poids dans le calcul de l'indice en question. S désigne toujours le nombre d'espèces, N les effectifs et p la proportion d'une espèce dans le prélèvement.

Les indices de diversité alpha sont très utiles pour comparer la diversité des espèces intra site. Cependant, même si la diversité alpha entre deux sites est la même, il est possible que ces environnements contiennent des espèces très différentes. La comparaison entre ces deux environnements requiert un autre type d'indice : la diversité béta.

2.3.3.2. Diversité béta

La diversité béta correspond au remplacement d'espèces ou à leur changement biologique le long d'un gradient environnemental (Whittaker, 1972). Elle ne peut être calculée que sur des prélèvements effectués sur au moins deux sites. La plupart des indices permettant de la calculer reposent sur un ratio entre le nombre d'espèces communes à tous les sites étudiés sur le nombre d'espèces total (Legendre & Cáceres, 2013). La diversité béta représente deux processus d'évolutions différents : l'imbrication et le renouvellement spatial (Baselga, 2010).

L'imbrication représente l'écart de richesse en espèces entre les différents sites. La différence de biodiversité est donc causée par les espèces surnuméraires du site avec la plus haute diversité. La perte d'espèces est une réaction à l'instabilité de la communauté étudiée. Un exemple d'effet peut

être l'isolement de l'habitat prospecté qui, à terme, peut engendrer la disparition des espèces les moins compétitives.

Le remplacement d'espèces représente des asymétries dans la présence des espèces entre sites sans qu'il y ait de différence de richesse. Ce remplacement se produit en réponse à des conditions géographiques ou temporelles qui ont différé dans l'historique des sites étudiés. Pour tous les indicateurs présentés dans cette section, plus l'indice est proche de 1, plus les sites sont identiques.

L'un des indices les plus connus pour analyser la diversité béta est l'indice de Whittaker (Whittaker, 1960). Cette analyse permet de détecter des sites avec des compositions en espèces divergentes par rapport aux autres lors d'analyses multi-sites (Equation 6).

$$\beta_W = \frac{\gamma}{K} - 1$$

Equation 6 : Indice de diversité béta de Whittaker. γ représente le nombre d'espèces total dans le paysage et K le nombre d'espèces moyen par zone.

Les deux indices qualitatifs les plus utilisés sont les indices de dissimilarité Jaccard (Jaccard, 1908) et Sorensen (Sørensen, 1948). Les deux indices sont très proches et fortement corrélés (Baselga, 2010). Par opposition à l'indice de Jaccard, l'indice de Sorensen accorde plus d'importance aux espèces présentes dans tous les sites qu'aux dissimilarités (Equation 7 et 8).

$$Eq\ 7 :\ S_j = \frac{b + c}{a + b + c}$$

$$Eq\ 8 :\ S_s = \frac{b + c}{2a + b + c}$$

Equations 7 et 8 : Indice de dissimilarité de Jaccard (Eq 7) et Sorensen (Eq 8). a représente les espèces communes aux deux sites, b et c les espèces exclusives à chacun des sites étudiés.

L'indice de dissimilarité de Simpson permet de différencier l'imbrication et le remplacement. L'imbrication est obtenue par la soustraction de l'indice de Simpson à l'indice de dissimilarité de Sørensen (Baselga, 2010) qui représente le renouvellement spatial des espèces (Equation 9 et 10) :

$$Eq\ 9 :\ \beta_{SIM} = \frac{\min(b, c)}{a + \min(b, c)}$$

$$Eq\ 10 :\ \beta_{NES} = \frac{\max(b, c) - \min(b, c)}{2a + \min(b, c) + \max(b, c)} \times \frac{a}{a + \min(b, c)}$$

Equations 9 et 10 : Indices de renouvellement spatial des espèces (Eq 9) et d'imbrication des sites (Eq 10). a représente le nombre d'espèces communes aux deux sites, b et c les espèces spécifiques de chacun des sites. min désigne le nombre minimum entre b et c, max le maximum.

La diversité béta peut elle aussi être calculée à partir d'indices quantitatifs qui tiennent compte des effectifs observés dans chaque site. Un des indices quantitatifs les plus utilisés à ce propos est la distance de Bray-Curtis. Cet indice est moins sensible aux espèces rares mais est plus affecté par les espèces très représentées (Equation 11).

$$\beta_{BC} = \frac{\sum_{k=1}^{p} |x_{ik} - x_{jk}|}{\sum_{k=1}^{p} (x_{ik} - x_{jk})}$$

Equation 11 : Distance de Bray-Curtis. p désigne le nombre d'espèces total, x désigne la prévalence d'une espèce dans un site, k est un indice lié à l'espèce, i et j sont relatifs aux deux sites à comparer

Un récapitulatif des caractéristiques des différents indices de diversité béta est présenté Tableau 4.

Tableau 4*: Résumé des caractéristiques des principaux indices de diversité béta.*

Nom	**Whittaker**	**Jaccard / Sørensen**	**Simpson**	**Bray-Curtis**
Equation	$\beta_W = \frac{\gamma}{K} - 1$	$S_j = \frac{b+c}{a+b+c}$ $S_s = \frac{b+c}{2a+b+c}$	$\beta_{SIM} = \frac{\min(b,c)}{a+\min(b,c)}$	$\beta_{BC} = \frac{\sum_{k=1}^{p} \lvert x_{ik} - x_{jk} \rvert}{\sum_{k=1}^{p} (x_{ik} - x_{jk})}$
Mode calcul	Compte	Compte	Compte	Prévalence
Prévalences espèces	Rares	Rares	Rares	Communes
Avantages	Adapté multi sites, simple	Simple, résolutif	Différencie phénomènes évolutifs	Tient compte des prévalences
Inconvénients	Nécessite beaucoup de sites	Complexe avec plusieurs sites	Peu résolutif avec beaucoup de sites	Sensibles aux espèces très représentés, complexe

2.3.3.3. Diversité gamma

La diversité gamma représente la diversité à l'échelle du paysage. A l'origine, il s'agissait du nombre d'espèces identifiées dans le paysage. La relation entre diversité α, β et γ était multiplicative (Equation 12) (Whittaker, 1972).

$$\beta = \frac{\gamma}{\alpha}$$

Equation 12 : Calcul de la diversité beta à partir de la diversité gamma et alpha par formule multiplicative. Gamma et alpha sont un nombre d'espèces.

Cette approche a été remise en cause par l'arrivée d'études plus récentes. Le principal inconvénient de l'approche multiplicative est la surestimation de β lorsque certaines communautés contiennent la même espèce. Une approche additive, basée sur une moyenne des indices alpha et beta (richesse ou autre indice) a alors été proposée pour pallier ces inconvénients (Equation 13) (Veech *et al.*, 2002).

$$\alpha + \beta = \gamma$$

Equation 13 : Calcul de la diversité gamma à partir de la diversité alpha et beta par formule additive. Alpha et beta sont une moyenne d'indices de diversité.

La compréhension des cycles des maladies des cultures repose donc à la fois sur des facteurs spécifiques à la situation étudiée (structure du paysage, indices de diversité

2.4. Présentation des modèles d'étude

L'identification des paramètres permettant la réalisation des cycles des maladies infectant les cultures constitue un enjeu majeur pour l'agriculture de demain (Anderson *et al.*, 2004; Oerke, 2006). Ces paramètres sont fortement influencés par l'espèce de virus étudiée (taille de la gamme d'hôtes, mode de transmission) ainsi que par le type de population cible (espèce, variété, cycle de vie). Dans ces conditions il semble bien périlleux de chercher à faire des généralités valables pour tous les modèles.

Parmi l'ensemble des cultures, les céréales constituent une part majeure dans la production mondiale de nourriture, avec un total de 2708 millions de tonnes produites en 2019, dont presque la moitié est assurée par la production de blé et d'orge (771 et 147 millions de tonnes, respectivement). La consommation mondiale en 2019 s'élevait elle à 2715 millions de tonnes, soit 7 millions de plus que la production annuelle en 2019 (FAO, 2019). Si ce déficit est pour l'instant absorbé par les stocks constitués, cette situation n'est pas durable. Il devient donc urgent d'identifier les facteurs

contribuant à la réalisation du cycle des principales maladies des céréales, qui provoquent des baisses importantes de rendement.

Cette étude se focalise sur deux des maladies virales les plus dommageables dans les cultures céréalières : la jaunisse nanisante de l'orge (JNO) et la maladie des pieds chétifs (PC) (Miller *et al.*, 1988; D'Arcy & Burnett, 1995; Lapierre & Signoret, 2004). Les *Barley/Cereal yellow dwarf viruses* (B/CYDV), agents de la JNO ont été initialement été identifiés aux Etats-Unis (Oswald & Houston, 1951), puis en Europe pour la première fois en 1954 avant d'être confirmée 3 ans plus tard (Watson & Mulligan, 1957), en Australasie (Smith, 1955), en Amérique du sud en 1967 (Burnett, 1990) et en Afrique en 1980 (Yamani, 1990). Le WDV a été initialement identifié en Europe en 1961 (Vacke, 1961) avant d'être identifié en Afrique (Najar *et al.*, 2000) et en Asie bien plus tard (Koklu, 2004). Ces virus représentent donc une menace pour les cultures céréalières sur une aire géographique étendue. En France ces virus ont été identifiés pour la première fois en 1968 pour les B/CYDV (Bogovac *et al.*, 1968) et en 1995 pour le WDV (Bendahmane *et al.*, 1995). Ces maladies causant d'importantes pertes de rendement dans les cultures céréalières (de l'ordre de 40% mais pouvant aller jusqu'à la perte de la culture lors d'épidémies plus sévères), elles ont fait l'objet de nombreux travaux visant à décrire les éléments permettant la réalisation de leur cycle dans les cultures céréalières.

3. Agents viraux impliqués dans la JNO et la PC

3.1. Classification des agents de la JNO et de la PC

Les Barley/Cereal yellow dwarf viruses (B/CYDV) sont le complexe d'au moins 10 espèces virales responsables de la jaunisse nanisante de l'orge. Ces espèces appartiennent à la famille des *Luteoviridae* et sont divisées entre les genres *Luteovirus* (BYDV-PAV, BYDV-MAV, BYDV PAS, BYDV kerII, BYDV kerIII) et *Polerovirus* (CYDV-RPV, CYDV RPS, et MYDV RMV). Deux espèces n'ont pas encore été associées à un genre (BYDV-SGV et BYDV GPV) (Figure 8) (King *et al.*, 2018). Il n'est pas possible d'identifier l'espèce de B/CYDV ayant infecté un hôte sur une base symptomatologique mais il semble que certaines soient plus virulentes (BYDV-PAV, BYDV-MAV) que d'autres (CYDV-RPV, MYDV RMV) dans les hôtes cultivés (Rochow, 1969; Miller *et al.*, 1997). En France, les espèces BYDV-PAV, BYDV-MAV et CYDV-RPV sont les plus prévalentes (Leclercq-Le Quillec *et al.*, 2000).

Le *Wheat dwarf virus* (WDV) est l'agent viral responsable de la maladie des pieds chétifs. Il appartient à la famille des *Geminiviridae*, genre *Mastrevirus.* Il est subdivisé en deux souches, le WDV-W et le WDV-Bar, respectivement décrites dans un premier temps sur le blé et l'orge (Vacke, 1961; Lindsten & Vacke, 1991). Une classification plus récente fait état de 7 clades, répartis entre la

souche WDV-W (clades A1, A2 et B), la souche WDV-Bar (clades D,E et F) et de potentiels recombinants des deux souches (clade C) (Muhire *et al.*, 2013; Parizipour *et al.*, 2017).

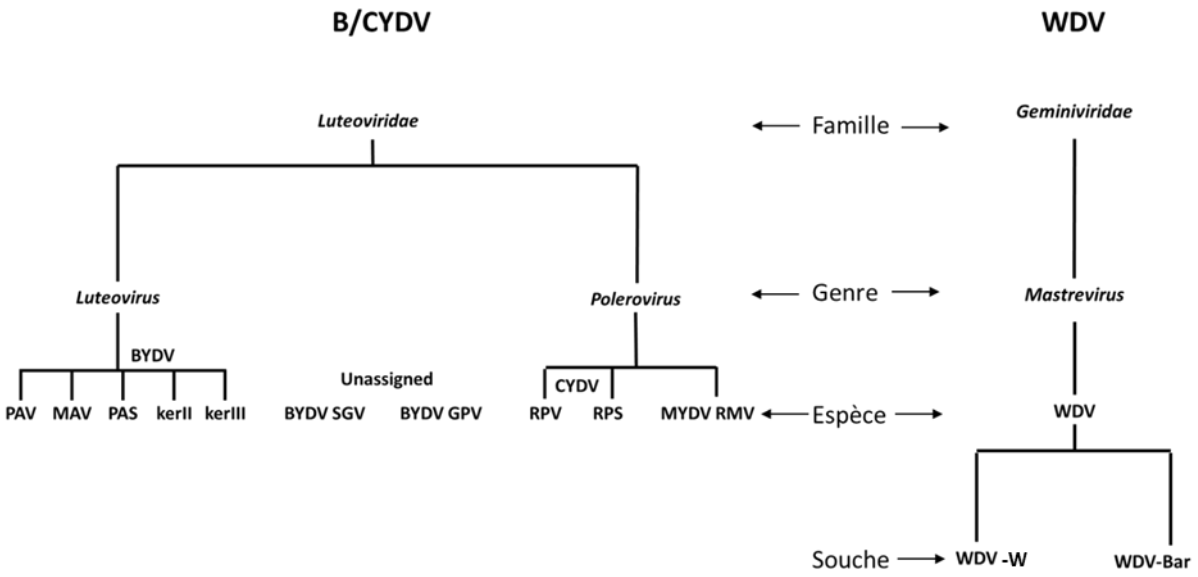


Figure 8*: Classification des Barley/Cereal yellow dwarf viruses et du Wheat dwarf virus*

Il n'est pas possible de distinguer les deux souches à l'aide de méthodes symptomatologiques ou d'outils sérologiques mais l'espèce infectée (blé ou orge) peut donner une indication dans le compartiment cultivé (Kvarnheden *et al.*, 2002). L'infection de l'hôte préférentiel d'une souche de WDV par l'autre souche (e.g. infection de l'orge par le WDV) a longuement été débattue dans la littérature scientifique (Lindsten & Vacke, 1991; Schubert *et al.*, 2007; Tobias *et al.*, 2011). La possibilité de la transmission, à un taux très bas, de la souche WDV à l'orge fait quasiment l'unanimité (Lindsten & Vacke, 1991; Commandeur & Huth, 1999; Köklü *et al.*, 2007; Schubert *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2008; Kundu *et al.*, 2009). Une seule étude ne fait pas état de cette possibilité (Tobias *et al.*, 2011). La transmission du WDV-Bar au blé est plus discutée. Certains auteurs n'ont pas observé de transmission de la souche WDV-Bar au blé (Lindsten & Vacke, 1991; Kundu *et al.*, 2009; Tóbiás *et al.*, 2009). Cependant, d'autres études sont parvenues à détecter le WDV-Bar dans des échantillons de blé prélevés au champ (Mehner *et al.*, 2003), allant jusqu'à la caractérisation d'un isolat de WDV-Bar capable d'infecter le blé (le WDV-Uk-Odessa) (Tobias *et al.*, 2011), suggérant que cette possibilité n'existe qu'au champ. A l'inverse d'autres études ne font état de cette possibilité que dans des infections en conditions contrôlées (Commandeur & Huth, 1999; Schubert *et al.*, 2007). La seule étude chiffrée quantifiant les infections croisées ayant eu lieu à ce jour a permis d'identifier un taux d'infection environ 25 fois plus faible pour la souche non spécialiste en agro-inoculation (Ramsell *et al.*, 2009).

3.2. Organisation des génomes

Les B/CYDV sont des virus à ARN simple brin de polarité positive d'environ 5,7kb. L'organisation des génomes des genres *Luteovirus* et *Polerovirus* est assez proche. Le genre *Luteovirus* présente 6 cadres ouverts de lecture (ORF pour Open Reading Frame). Ces ORFs codent pour une polymérase (sous la forme de deux sous unités protéiques), une protéine de capside (CP), une protéine de translecture ainsi qu'une protéine de mouvement. L'extrémité 5' du génome des *Luteovirus* est non coiffée alors que l'extrémité 3' contient un petit ORF dont le rôle est encore inconnu aujourd'hui (Gray *et al.*, 1991; Dinesh-Kumar *et al.*, 1992). Un petit ORF (3a) situé entre le deuxième ORF codant pour une sous-unité de la polymérase et l'ORF codant pour la CP a également été identifié. Cet ORF serait impliqué dans le mouvement du virus de cellule à cellule (Smirnova *et al.*, 2015).

Le genre *Polerovirus* présente une organisation similaire, avec cependant la présence d'un ORF supplémentaire qui code pour une protéine P0 suppresseur de 'gene silencing'. Enfin, une protéine virale traduite à est associé à l'extrémité 5' du génome (VPg). L'extrémité 3' du génome contient deux petits ORF dont le rôle est inconnu (P6 et P7) (Miller *et al.*, 1988) (Figure 9a et 9b).

Le WDV est un virus à ADN simple brin circulaire d'environ 2,7 kb. Le génome du WDV contient 4 ORFs. Ces ORFs codent pour une protéine de mouvement, une protéine de capside, une réplicase et une réplicase A (MacDowell *et al.*, 1985; Schalk *et al.*, 1989; Mullineaux *et al.*, 1990; Kvarnheden *et al.*, 2002). Une des différences entre des isolats appartenant aux deux souches est la délétion de 12 bases dans le génome du WDV-Bar (après alignement avec celui du WDV) débutant à la position 1409 de la séquence AM411651 (numéro d'accession GenBank). Le génome possède également deux régions intergéniques non codantes : la *long intergenic region* (LIR) et la *short intergenic region* (SIR). Ces deux régions ont un rôle important dans la régulation de l'expression des gènes et l'initiation de la réplication (Fenoll *et al.*, 1988; Kammann *et al.*, 1991; Hofer *et al.*, 1992) (Figure 9c).

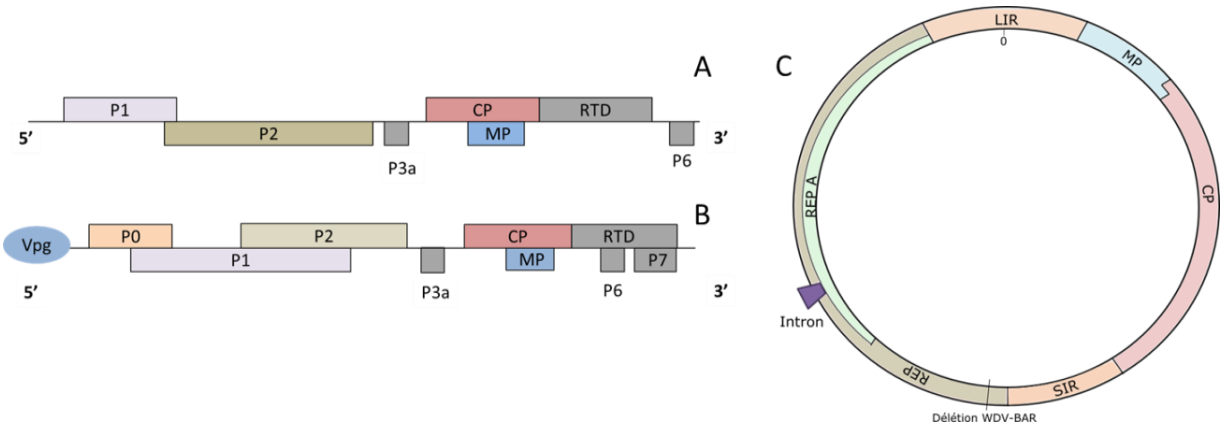


Figure 9 *: Génome des B/CYDV appartenant au genre Luteovirus (A) et des B/CYDV appartenant au genre Polerovirus (B) et génome du WDV (C).* Les ORFs sont représentés par des carrés et des flèches. CP : Protéine de capside, P0 : Suppresseur de gene silencing, P1 et P2 : polymérase, P3a : protéine impliquée dans l'infection systémique, MP : protéine de mouvement, RTD : domaine de translecture,P6(*Luteovirus)* : rôle inconnu P6 et P7 (*Polerovirus)*: rôles inconnus, VPg : protéine virale liée au génome, SIR : courte région intergénique, Rep/RepA : réplicase/réplicase A, LIR : longue région intergénique.

Dans la famille des *Luteoviridae*, deux espèces sont considérées comme étant différentes si au moins une des protéines de la première espèce présente une différence supérieure à 10% dans sa séquence d'acides aminés lors de la comparaison avec la protéine issue du gène homologue de la seconde espèce. Chez les *Mastrevirus,* le seuil de démarcation des espèces se situe à 22% de différences dans la séquence nucléotidique et celui des souches, plus officieux, est proposé à un niveau de 6% de différences (Muhire *et al.*, 2013). Les souches WDV et WDV-Bar sont assez proches génétiquement, avec seulement 16-17% de différences dans leurs séquences nucléotidiques (Kvarnheden *et al.*, 2002; Schubert *et al.*, 2007, 2013; Parizipour *et al.*, 2017). D'autres critères peuvent parfois permettre de différencier les espèces virales comme le nombre d'espèces hôtes, et les différences de réactions aux anticorps monoclonaux ou polyclonaux spécifiques (King *et al.*, 2011).

Les B/CYDV et le WDV sont exclusivement transmis par des vecteurs. L'étude de la biologie des vecteurs est un élément essentiel permettant la compréhension de leur cycle épidémique.

4. Vecteurs et propagation de la JNO et de la PC

Les B/CYDV et le WDV sont transmis exclusivement de manière circulante et non multipliante par des insectes vecteurs (Brault *et al.*, 2010). Les vecteurs ont donc un rôle clef dans l'épidémiologie de ces virus. Ils sont d'ailleurs un très bon indicateur des prévalences dans les champs, plusieurs études ayant montré une corrélation entre le nombre de vecteurs virulifères et les prévalences au champ (e.g Halbert & Pike, 1985; Thackray *et al.*, 2009).

4.1. Biologie des espèces vectrices des B/CYDV et du WDV

Les B/CYDV sont transmis par au moins 25 espèces de pucerons (D'Arcy & Burnett, 1995). Pour un hôte donné, l'efficacité de transmission dépend à la fois de l'espèce vectrice et de l'espèce virale considérée. En effet les 25 espèces de pucerons ne sont pas capables de transmettre toutes les espèces de B/CYDV. Les espèces les plus étudiées sont le BYDV-PAV, le BYDV-MAV, le CYDV-RPV et le BYDV-SGV (e.g. Oswald & Houston, 1951; Rochow, 1979; Panayotou, 1982; Power *et al.*, 1991; Chay *et al.*, 1996; Ingwell *et al.*, 2017). Les principales espèces vectrices de ces espèces de B/CYDV sont *Rhopalosiphum padi, Sitobion avenae, Schizaphis graminum* et *Metopolophium dirhodum* (e.g.

Watson & Mulligan, 1960b; Smith, 1963; Gray *et al.*, 1991; Halbert *et al.*, 1992; D'Arcy & Burnett, 1995) (Tableau 5).

Tableau 5*: Efficacité de transmission des B/CYDV à un hôte en fonction de l'espèce vectrice.*

Puceron / Virus	*Rhopalosiphum padi*	*Sitobion avenae*	*Metopolophium dirhodum*	*Schizaphis graminum*
BYDV-PAV	**++**	**++**	**++**	**+**
BYDV-MAV	**-**	**++**	**+**	**-**
CYDV-RPV	**++**	**-**	**-**	**+**
BYDV-SGV	**-**	**-**	**-**	**++**

– indique une absence de transmission, + une transmission possible mais peu efficace et ++ une transmission efficace. Adapté de (Watson & Mulligan, 1960b; Rochow, 1969; D'Arcy & Burnett, 1995; Gray & Gildow, 2003).

Le WDV est exclusivement transmis par la cicadelle *Psammotettix alienus* (Vacke, 1961; Manurung *et al.*, 2005). D'autres espèces ont été supposées vectrices dans une étude réalisée plus tard mais cette observation n'a jamais été confirmée (e.g. *Psammotettix provincialis)* (Ekzayez *et al.*, 2010). L'identification des cicadelles du genre *Psammotettix* basée uniquement sur des critères morphologiques est cependant très difficile, la forte variabilité dans l'édéage (organe utilisé pour réaliser l'identification) rendant l'identification peu fiable (Tishechkin, 1999). La classification des espèces de *Psammotettix* a d'ailleurs récemment évolué, regroupant les espèces *Psammotettix striatus* et *Psammotettix alienus* sous l'identité *Psammotettix alienus.* Devant la difficulté liée à l'identification des espèces de cicadelles, une étude plus récente a suggéré d'inclure davantage de paramètres lors du processus d'identification (e.g. séquençage de la COI, vibrations émises lors du processus d'accouplement) pour consolider l'assignation (Abt *et al.*, 2017). L'efficacité de transmission des deux souches de WDV à leur hôte préférentiel (blé ou orge) est la même.

Les pucerons possèdent un cycle de vie très rapide, pouvant effectuer entre 12 et 20 générations par an (Ighil *et al.*, 2011). Dans le cas des pucerons des céréales, il existe des différences dans les cycles de développement (mode de reproduction, hôtes colonisés). Les cicadelles n'effectuant que 4 générations complètes par an en France (Abt & Jacquot, 2015). Les cicadelles n'effectuent pas de reproduction asexuée.

Le développement des pucerons et des cicadelles est divisé en deux phases : larve et adulte. Les pucerons et les cicadelles sont paurométaboles : les larves sont très semblables aux adultes que ce soit sur le plan du mode de vie ou de l'alimentation mais ces derniers acquièrent des ailes au cours de leur développement. L'apparition des ailes chez les pucerons adultes est contingente, étant favorisée par la densité de population, la diminution de la durée du jour et les faibles températures (Dixon & Glen, 1971). La différenciation entre un adulte ailé et aptère débute à partir du troisième stade larvaire. L'état larvaire est divisé en 4 stades (de L1 à L4) chez les pucerons et en 5 stades (L1 à L5) chez les cicadelles (Guglielmino & Virla, 1997).

Les cycles de vie des principaux pucerons vecteurs des virus de la JNO peuvent être divisés en deux types : holocyclique monoécique et holocyclique dioécique. *Rhopalosiphum padi* et *Metopolophium dirhodum* sont des espèces de puceron holocycliques dioéciques (Bode, 1980; Tatchell *et al.*, 1988; Honek *et al.*, 2018). L'holocyclie se définit comme une alternance entre la reproduction asexuée (pendant les jours chauds) et la reproduction sexuée en hiver qui se traduit par la ponte d'œufs. L'alternance entre ces deux formes de reproduction est induite chez *Rhopalosiphum padi* et *Metopolophium dirhodum* par une diminution des températures et de la durée du jour (Dixon & Glen, 1971). Il existe également des clones de *Rhopalosiphum padi* anholocycliques mais ceux-ci sont généralement moins importants dans le maintien des populations de vecteurs, notamment dans les régions froides où ces clones ont plus de difficultés à passer l'hiver (Simon *et al.*, 1991). La dioécie se définit comme l'alternance du vecteur entre un hôte primaire (dans le cas de *Rhopalosiphum padi, Prunus padus* et dans celui de *Metopolophium dirhodum, Rosa canina* ou autre *Rosa sp.)*, et un hôte secondaire (dans les deux cas les poacées). Ainsi, les deux espèces de vecteurs se trouvent sur leurs hôtes primaires en novembre et migrent vers les poacées vers mai-juin. Ils quittent ces dernières vers novembre et septembre, respectivement, pour rejoindre leurs hôtes primaires (Tatchell *et al.*, 1988; Halbert *et al.*, 1992b; Leather, 1993; Chapin *et al.*, 2001; Honek *et al.*, 2018). Lors des périodes de reproduction asexuée, la descendance est entièrement composée de femelles alors que le sexe ratio est équilibré en période de reproduction sexuée (Figure 10).

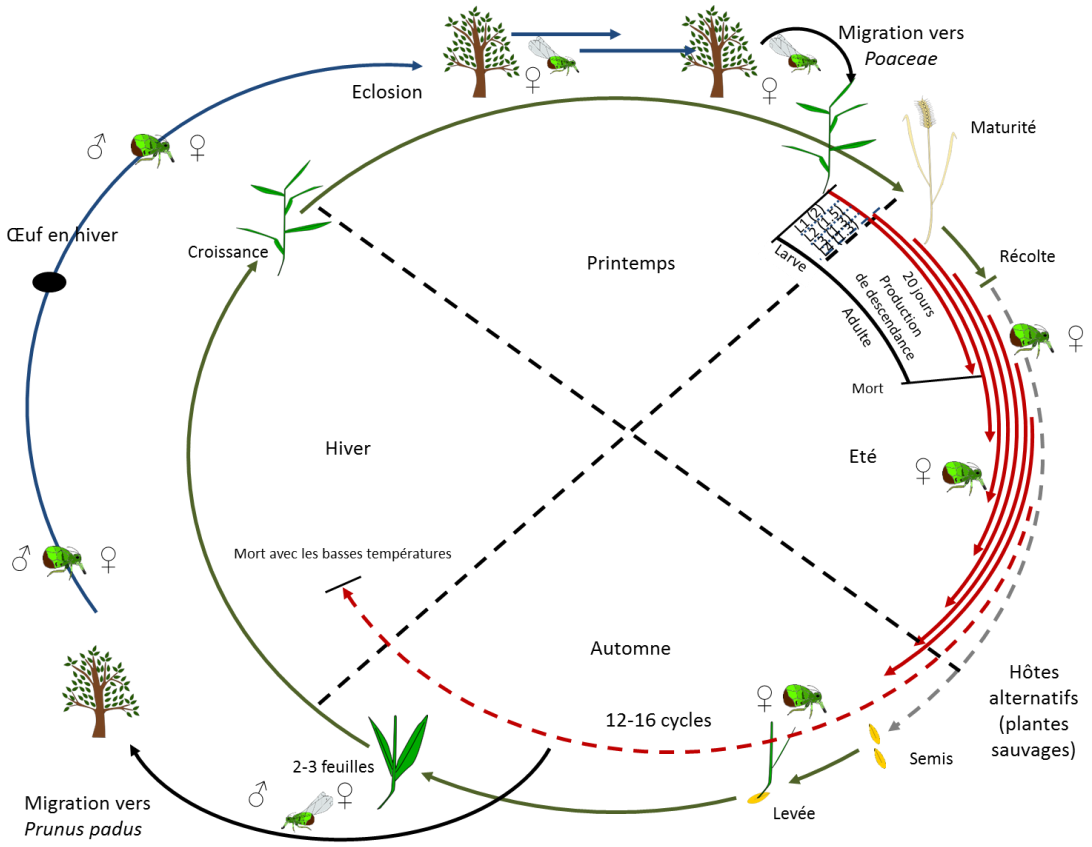


Figure 10*: Représentation du cycle de vie des céréales d'hiver et du puceron Rhopalosiphum padi.* Le cycle végétatif des cultures céréalières est représenté en vert (présence des cultures) ou gris pointillé (interculture). Les flèches rouges représentent une génération de Rhopalosiphum padi issue de reproduction parthénogénétique. Les flèches bleues représentent une génération issue de reproduction sexuée. Les flèches noires représentent les migrations des populations de Rhopalosiphum padi entre les hôtes primaires et secondaires. Les différentes saisons sont délimitées par des pointillés noirs. Adapté de **(Finlay & Luck, 2011)**.

Sitobion avenae et *Schizaphis graminum* sont des espèces de puceron holocycliques monoéciques. Contrairement à *Rhopalosiphum padi* et *Metopolophium dirhodum*, l'intégralité de leurs cycles de vie se passe sur les poacées (Dedryver *et al.*, 2002). La majorité des vols de *Sitobion avenae* ont lieu vers avril-mai, moment où il colonise de nouveaux hôtes (Chapin *et al.*, 2001), *Schizaphis graminum* vole plutôt vers juin-juillet. Ce puceron est relativement peu présent en France mais est très représenté aux USA (Halbert & Pike, 1985; Ighil *et al.*, 2011).

Psammotettix alienus passe l'intégralité de son cycle de vie sur les graminées (Lindblad & Areno, 2002). Les cicadelles passent l'hiver sous forme d'œuf, l'activité physiologique des adultes diminuant lorsque les températures baissent (Guglielmino & Virla, 1997). Les cicadelles sont présentes dans les cultures à l'état adulte au printemps, en début d'été et en automne. La majorité des vols de *Psammotettix alienus* ont lieu pendant les jours chauds, notamment en début d'été (autour de juin) et en début d'automne (septembre – octobre) (Raatikainen & Vasarainen, 1973; Lindblad & Areno, 2002)(Figure 11).

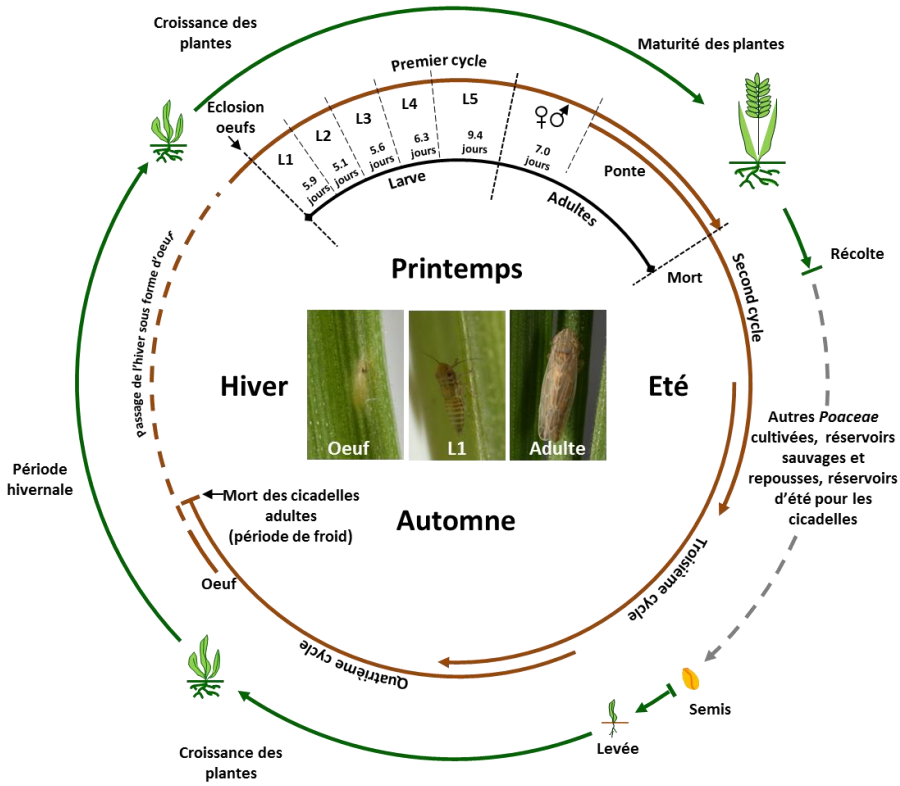


Figure 11*: Représentation du cycle de vie des céréales d'hiver et de la cicadelle Psammotettix alienus. D'après* (Abt & Jacquot, 2015).

La plupart des espèces de pucerons vectrices survivent moins d'un mois (environ 25 jours en conditions contrôlées pour *Rhopalosiphum padi* et *Schizaphis graminum*, 20 pour *Metopolophium dirhodum* et 18 pour *Sitobion avenae*) alors que les cicadelles vivent bien plus longtemps (en moyenne 43 jours en conditions contrôlées. Les pucerons se multiplient en revanche bien plus rapidement que les cicadelles : leur temps de doublement de population est compris entre 2 et 3,5 jours (Zhou & Carter, 1992; Özder, 2002; Tofangsazi *et al.*, 2010; Descamps & Chopa, 2011) contre quasiment une semaine pour *Psammotettix alienus* (Guglielmino & Virla, 1997). Ces deux types de vecteurs ont donc une stratégie de colonisation de l'espace bien différente (cf. 2.1.1.). L'ensemble des caractéristiques liés au développement des pucerons est résumé Tableau 6.

Tableau 6: *Résumé des principaux paramètres des cycles de vie des pucerons vecteurs des B/CYDV.*

Vecteur / Paramètre	*Rhopalosiphum padi*	*Sitobion avenae*	*Metopolophium dirhodum*	*Schizaphis graminum*	*Psammotettix alienus*
Reproduction	Holocyclique	Holocyclique	Holocyclique	Holocyclique	Sexuée
Cycle d'hôtes	Dioécique	Monoécique	Dioécique	Monoécique	X
Hôtes	*Prunus sp. / Poaceae*	*Poaceae*	*Rosa sp. / Poaceae*	*Poaceae*	*Poaceae*
Durée de vie (larve)	25 (6)	18 (9)	20 (7)	25 (6)	43 (16)
Présence sur *Poaceae*	Juin - novembre	Année	Mai - septembre	Année	Année
Période de vol	Juin / novembre	Avril - mai	Mai / septembre	Juin - juillet	Juin / septembre
Nombre larves	35	10	21	57	36
Temps de doublement	2,7 jours	3,5 jours	2,8 jours	2,1 jours	6,53 jours

Les hôtes sont donnés sous la forme hôte primaire / hôte secondaire dans le cas des espèces dioéciques.

L'alimentation du vecteur sur un hôte infecté par un virus peut modifier son cycle de développement. Généralement cette modification est favorable à la dispersion du virus. *Sitobion avenae* se développe plus rapidement sur des plantes infectées par un des B/CYDV et possède une durée de vie plus longue (Miller & Coon, 1964; Fereres *et al.*, 1989). Le développement des ailes est favorisé chez *Rhopalosiphum padi* et *Sitobion avenae* par l'alimentation sur un hôte infecté (Gildow, 1983). Aucune influence du WDV sur le développement de *Psammotettix alienus* n'a été démontrée.

4.2. Influence des vecteurs sur la transmission

4.2.1. Facteurs biologiques influençant la transmission

Il existe une variabilité intraspécifique chez les pucerons qui peut influencer la capacité à transmettre les B/CYDV. Les différents clones de *Rhopalosiphum padi* sont bons vecteurs du BYDV-PAV. Il y a assez peu de variabilité intra spécifique dans la capacité à transmettre le BYDV-PAV (Sadeghi *et al.*, 1997; Bencharki *et al.*, 2000; Smyrnioudis *et al.*, 2001). Cette observation n'est pas vraie pour *Sitobion avenae* pour qui l'efficacité de transmission du BYDV-PAV change beaucoup en fonction du clone utilisé (Dedryver *et al.*, 2005; Yu *et al.*, 2013). La variabilité intraspécifique n'est pas étudiée chez les cicadelles *Psammotettix alienus*. Le stade de développement du vecteur n'influence généralement pas la transmission du virus à l'hôte (Toko & Bruehl, 1959; Lindsten & Lindsten, 1999;

Abt & Jacquot, 2015). *Schizaphis graminum* fait cependant exception à cette règle, étant meilleur vecteur au stade larvaire qu'adulte (Gray *et al.*, 2002). A l'inverse, il semble que les stades L4 et L5 de *Psammotettix alienus* soient moins efficaces pour transmettre le WDV (Mehner *et al.*, 2003). A l'échelle du paysage, si la création des foyers d'infections (infection primaire) est due aux adultes ailés, l'élargissement de ces foyers semble être quasi-exclusivement dû aux larves (cicadelles et pucerons) et aux aptères (pucerons uniquement). Les infections primaires sont assez peu répandues (environ 5% des plantes) alors que les infections secondaires peuvent être très importantes (Irwin & Thresh, 1990; Lindblad & Sigvald, 2004). Si l'efficacité de transmission individuelle est souvent la même, les larves et les aptères causent beaucoup plus d'infections que les individus ailés à l'échelle de la parcelle.

L'augmentation de la prévalence globale des B/CYDV dans une espèce donnée est également favorisée par les choix d'hôtes des vecteurs dans leur environnement (Seabloom *et al.*, 2013). Les vecteurs sains (*Rhopalosiphum padi)* sont attirés par les plantes infectées alors que les vecteurs virulifères préfèrent les plantes saines (Ingwell *et al.*, 2012). Cette préférence ne semble pas entièrement dictée par les changements de couleur occasionnés par les symptômes (Kieckhefer *et al.*, 1976; Ajayi & Dewar, 1983) mais pourrait également être occasionnée par une augmentation de la disponibilité des nutriments dans les plantes infectées (Fiebig *et al.*, 2004). L'influence du statut sanitaire de la plante (infectée par le WDV ou non) sur le choix de l'hôte par la cicadelle *Psammotettix alienus* n'a pas encore été étudiée.

4.2.2. Facteurs liés au processus de transmission

Rhopalosiphum padi et *Sitobion avenae* sont capables d'acquérir les B/CYDV qu'ils transmettent en quelques minutes. Cependant, pour atteindre un taux de transmission de 50%, la période d'acquisition (AAP) doit durer au moins quelques heures (dans le cas de *Rhopalosiphum padi*) voire une demi-journée (pour *Sitobion avenae)*. Les taux de transmission les plus élevés ne sont respectivement atteints qu'après une ou plusieurs journées d'AAP (Gray *et al.*, 1991). *Psammotettix alienus* est bien plus rapide pour l'acquisition de son virus, une AAP de 5 minutes permettant l'infection de plus de la moitié des plantes tests (Wang *et al.*, 2014). L'amélioration du taux de transmission avec l'augmentation de la durée de l'AAP n'a pas été étudiée de façon précise pour le WDV mais la majorité des études portant sur des taux d'infection (gammes d'hôtes ou étude de sensibilité) en conditions contrôlées utilisent des AAP d'au moins 24h (Ramsell *et al.*, 2009; Nygren *et al.*, 2015; Parizipour *et al.*, 2016).

Certaines études estiment que *Rhopalosiphum padi* et *Sitobion avenae* peuvent infecter environ 50% des plantes tests avec les B/CYDV qu'ils transmettent après une période de latence

compris entre 40 et 50h en moyenne (Broek & Gill, 1980). *Psammotettix alienus* peut infecter plus de la moitié des hôtes tests après une période de latence de 4h (Wang *et al.*, 2014).

L'infection de 50% des hôtes tests est réalisée avec des périodes d'inoculation (IAP) comparables à celles de l'AAP pour les vecteurs des B/CYDV, à l'exception du couple *Sitobion avenae* – BYDV-PAV (Power *et al.*, 1991). La durée d'inoculation du WDV par *Psammotettix alienus* pour infecter un hôte n'a pas été étudiée précisément mais a été caractérisée comme au minimum 15 minutes ((Lapierre & Signoret, 2004), données proposées par J. Vacke, A. Kvarnedhen, M. Lindblad et K. Lindsten).

La diminution de la charge virale observée dans un hôte (notamment lors de l'infection d'hôtes cultivés résistants) ou dans un vecteur est associée avec une diminution des taux de transmission dans le cas des BYDV-PAV, BYDV-MAV et BYDV-SGV. Cette observation n'est pas vraie pour le CYDV-RPV (Gray *et al.*, 1991; Gray, 1993; Froissart *et al.*, 2010). Aucun lien n'a encore été établi entre la charge virale, que ce soit dans le vecteur ou l'hôte, et la réussite de l'infection dans le cas du couple *Psammotettix alienus* -WDV. Cependant certaines études réalisées sur le *Maize streak virus* (MSV), membre type du genre *Mastrevirus,* auquel appartient le WDV, a montré que la transmission du virus n'était pas affectée par la charge virale dans le vecteur. Ce résultat est cependant à nuancer en raison de i) la limite de détection imposée par la méthode utilisée ii) le niveau constant du MSV dans les glandes salivaires de son vecteur, plusieurs semaines après son acquisition (Reynaud & Peterschmitt, 1992; Lett *et al.*, 2002). Un récapitulatif des différentes phases liées à la transmission des BYDV-PAV, BYDV-MAV et CYDV-RPV et du WDV est disponible Tableau 7.

Tableau 7: ***Résumé des principaux facteurs influençant la transmission des B/CYDV et du WDV par leurs vecteurs respectifs.***

Vecteur	***Rhopalosiphum padi***		***Sitobion aveneae***		***Psammotettix alienus***
Espèce virale	**BYDV-PAV**	**CYDV-RPV**	**BYDV-PAV**	**BYDV-MAV**	**WDV**
AAP (50%)	1-2 h	2-3 h	12 h	12 h	< 5 min
Durée de latence (50%)	35.2 h	35h	?	44.5 h	< 4 h
IAP (50%)	2 h	2 h	72 h	5 h	15 min
Influence charge virale	Oui	Non	Oui	Oui	?

L'alimentation de ces vecteurs sur les différents hôtes permet successivement l'acquisition et la transmission du virus. Une infection d'un hôte par le B/CYDV ou le WDV requiert donc i) la présence de cet hôte dans le paysage à une période compatible avec la biologie des vecteurs, ii) la capacité du vecteur à s'alimenter sur l'espèce en question. L'identification précise des hôtes est nécessaire pour i) calculer les pertes causées par la JNO et la PC, ii) la compréhension des processus de dispersion.

5. Hôtes des virus de la JNO et à la PC

5.1. Espèces cultivées infectées par les virus de la JNO et la PC

Les B/CYDV et le WDV infectent les principales espèces de céréales à paille, notamment le blé, l'orge et l'avoine ainsi que le riz et le maïs dans le cas des B/CYDV. En France le blé, l'orge et l'avoine sont généralement semés vers mi-octobre et récoltés fin juillet dans le cas des céréales d'hiver. Les céréales de printemps sont semées fin février – début mars pour une récolte fin juillet.

Les B/CYDV et le WDV occasionnent un nanisme de leurs hôtes (plus marqué dans le cas du WDV). Ce nanisme de l'hôte, provoqué par une non-élongation des entrenœuds (Rochow, 1961) est dû à une réduction du nombre de divisions cellulaires. Les B/CYDV et le WDV causent également un jaunissement (voire un rougissement pour les B/CYDV) des feuilles de l'hôte. Cette décoloration débute à l'extrémité apicale des feuilles pour continuer vers le centre. Elle débute en moyenne 7 à 20 jours après l'infection. En plus de ces deux symptômes majoritaires, les B/CYDV peuvent occasionner une nécrose des tissus phloémiens, une réduction du tallage et éventuellement une stérilité des graines (Esau, 1957; Rochow, 1961) alors que le WDV peut causer une augmentation du tallage et possiblement la mort de son hôte pendant l'hiver dans les cas les plus sévères (Vacke, 1972). A l'échelle de la parcelle, les infections par ces virus génèrent un effet moutonneux avec des plantes de taille très inégales.

L'intensité des symptômes causés par les B/CYDV et le WDV change notamment en fonction de l'espèce de l'hôte considéré, son âge et des conditions climatiques. Une infection par les B/CYDV ou par le WDV à un stade précoce de la plante occasionne des changements physiologiques plus importants qu'une infection à un stade plus avancé (Esau, 1957). L'augmentation de l'âge de l'hôte (passé le stade 2 feuilles) influence négativement le taux de transmission pour les B/CYDV et le WDV et également avec la charge virale pour les B/CYDV (Gray *et al.*, 1991). Une résistance de maturité apparaît avec le temps mais le stade d'apparition n'est pas le même suivant l'hôte. Chez l'orge cette résistance apparaît au stade 53 de Zadoks (Zadoks *et al.*, 1974; Makkouk & Comeau, 1994) pour les B/CYDV et dès le stade 31 de Zadoks pour le WDV (Zadoks *et al.*, 1974; Lindblad & Sigvald, 2004). Le

froid et les fortes intensités lumineuses sont autant de facteurs qui favorisent l'expression des symptômes causés par les B/CYDV et du WDV (D'Arcy & Burnett, 1995; Ghodoum *et al.*, 2018).

Les B/CYDV et le WDV occasionnent environ 40% de pertes de rendement à l'échelle de la parcelle bien que des épidémies locales plus sévères conduisant à la perte totale de la culture ait déjà été observées (Irwin & Thresh, 1990; Banks *et al.*, 1995; Lindsten & Lindsten, 1999; Perry *et al.*, 2000; Lindblad & Sigvald, 2004). A l'échelle nationale, les données concernant l'importance des pertes occasionnées par les B/CYDV et le WDV restent très partielles. Un rapport de synthèse d'essai Arvalis datant 2016 met en évidence des pertes liées à ces virus de l'ordre de 16 et 25 quintaux par hectare sur les parcelles de blé et d'orge (soit respectivement 21 et 30% du rendement). Ces données n'étant calculées que sur un nombre d'essai très faibles (12 et 22 respectivement), elles restent à considérer avec précaution malgré une bonne répartition des essais géographiquement et dans le temps. Ces données permettent tout de même d'illustrer l'importance des pertes de rendement potentielles à l'échelle de la parcelle incite les agriculteurs à lutter contre ces virus. D'autres données Arvalis estiment les pertes causées par les B/CYDV en France à 400-500 millions d'euros les années de forte infestation (Arvalis, données non publiées). Pour rappel, la valeur de la production brute d'orge et de blé a représenté environ 10 500 millions d'euros en 2017 (FAO, 2017), ces pertes peuvent donc représenter environ 5% de la valeur totale de la production française.

5.2. Limitation de l'impact économique de la JNO et de la PC

5.2.1. Type d'actions entreprises pour limiter la propagation des virus de la JNO et de la PC

Plusieurs moyens de lutte ont été développés avec des actions souvent orientées sur la population relai, parfois aussi sur la population cible. Concernant les actions menées sur la population cible, l'adaptation des pratiques culturales (semis tardif (Lowe, 1967), augmentation de la densité de peuplement (Irwin & Thresh, 1990) ou encore l'élimination des repousses (Plumb, 1986)) constituent les pratiques les plus courantes. L'utilisation de variétés résistantes constitue une autre approche moins répandue de lutte contre les virus de nanisme des céréales, contrainte par le peu de ressources génétiques disponibles (Barloy *et al.*, 2003; Chain *et al.*, 2006; Benkovics *et al.*, 2010).

Néanmoins, les approches de lutte les plus classiques restent les actions menées sur les populations relai de ces virus. Si des approches de lutte biologique (Dawson *et al.*, 1988; Zúniga, 1990) ont été développées avec plus ou moins de succès, l'utilisation de produits phytosanitaires reste l'approche préférentielle pour contrôler les populations de vecteurs (D'Arcy & Burnett, 1995). Cette approche est en effet simple à mettre en place, n'occasionne que peu d'échecs (Eastop, 1983) et reste économiquement intéressante (Royer *et al.*, 2005). Les produits sanitaires utilisés peuvent

être divisés en deux catégories : les traitements de semences (néonicotinoïdes) et les traitements de végétation (pyréthrinoïdes, organophosphorés et sulfoximines) (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, 2019).

En France, les traitements de semences néonicotinoïdes étaient particulièrement populaires pour lutter contre les vecteurs des maladies de nanisme des céréales en raison i) de l'atypicité du mode d'action de la famille de molécules qui limite l'apparition de résistances, ii) de la persistance de la molécule qui limitait le nombre de traitements à effectuer, iii) de l'efficacité de la protection accordée (cf. Article 1). Néanmoins, l'utilisation des traitements de semences basés sur les néonicotinoïdes a été interdite en Europe suite à la promulgation de la loi pour la reconquête de la biodiversité, de la nature et des paysages, promulguée le 09/08/2016 pour une entrée en vigueur le 01/09/2018. La lutte chimique en France repose désormais sur 31 produits phytosanitaires, basés sur 10 substances actives différentes (8 pyréthrinoïdes, 1 organophosphoré et 1 sulfoximine) dans le cas de la JNO et sur 17 produits phytosanitaires, basés sur 6 substances actives différentes (toutes pyréthrinoïdes) dans le cas de la PC. Une des premières conséquences de l'interdiction des néonicotinoïdes est une augmentation importante du nombre de traitements pyréthrinoïdes, famille très majoritairement utilisée dans la lutte contre les vecteurs des virus de nanisme des céréales. Cette famille est quasiment la seule qui soit encore disponible en France pour lutter contre ces maladies virales. La multiplication du nombre de traitements réalisés avec les pyréthrinoïdes risque de provoquer une augmentation de la pression de contournement de ces derniers.

5.2.2. Lutte contre la JNO et la PC

La lutte contre la JNO en Europe a été fortement impactée par l'interdiction des néonicotinoïdes. L'importance de cette famille de molécules dans le contrôle de la JNO au cours des dernières années ainsi que les conséquences de son interdiction (limites des approches existantes, risques émergents ou développement de nouvelles approches) sont dsiscutées dans un article de revue : Mc Namara, L., Gauthier K., Walsh L., Thébaud G., Gaffney M. and Jacquot E, **Control of aphid-borne cereal viruses in a post-neonicotinoid agriculture,** proposé dans la revue Pest Management Science.

Control of aphid-borne cereal viruses in a post-neonicotinoid agriculture era

Mc Namara, L.[1], Gauthier K.[2,3], Walsh L.[4,5], Thébaud G.[2], Gaffney M.[4] and Jacquot E[2]

[1] Teagasc, Crop Science Department, Crops, Environment and Land Use Programme, Oak Park, Carlow, Ireland

[2] BGPI, INRA, Cirad, Montpellier SupAgro, Univ Montpellier, France

[3] Bayer CropScience, Lyon, France

[4] Teagasc, Horticultural Development Department, Crops, Environment and land Use Programme, Ashtown, Dublin 15, Ireland

[5] School of Agriculture and Food Science, University College Dublin, Belfield, Dublin 4, Ireland

Abstract

Barley/Cereal yellow dwarf viruses (B/CYDV) cause yellow dwarf disease (YDD), which is a continuous serious threat to cereals worldwide. The viruses produce leaf yellowing and stunting, leading to yield reductions of up to 2.5 t/ha. B/CYDV have been a consistent but low-level problem in European cereal cultivation for the last three decades due to the availability of several effective insecticides against its aphid vectors. However, this has recently changed as neonicotinoid-insecticide compounds are no longer permitted for outdoor use due to a change in EU legislation. This change, coupled with the growing challenge of insecticide-resistant aphids, the scarcity of genetic resources against B/CYDV, and knowledge deficit around the parameters responsible for the emergence and spread of YDD, means the economic sustainability of cereal cultivation across the EU is now again threatened by this aphid-borne viral disease. In this review, we summarise the current knowledge on the B/CYDV pathosystem, describe management options against YDD, analyse the impacts of the neonicotinoid ban, and consider future strategies to control B/CYDV.

Keywords: aphid-borne, viral disease, BYDV, CYDV, insecticide, IPM

1. INTRODUCTION

Damage by aphids in cereal crops is almost exclusively due to the spread of Barley/Cereal yellow dwarf viruses (B/CYDV), which can cause yield losses ranging from 5% to 80% with an average of 30%[1-3]. These viruses, transmitted exclusively by aphids, have routinely been controlled using cultural techniques and insecticides for several decades. However, reports of negative environmental impacts of neonicotinoid insecticides on important non-target pollinating insects — and insect population health in general— contributed to the partial restriction, and ultimately to a total revocation, of neonicotinoid insecticides in 2018. Reduced pesticide availability, emergence of insecticide resistance in some vectors, climate change, and the absence of available resistant/tolerant germplasm render the control of B/CYDV in cereal fields increasingly difficult. In a post-neonicotinoid world, where scrutiny on insecticide use is increasing and public acceptance is decreasing, it is crucial for research to improve knowledge of virus-vector-host interactions and viral epidemics on cereals in order to develop innovative pesticide-free control methods against B/CYDV.

2. BARLEY/CEREAL YELLOW DWARF PATHOSYSTEM

2.1. **Barley/Cereal yellow dwarf viruses**

Yellow dwarf disease (YDD) is one of the most important diseases for cereal production worldwide. Described for the first time in California in 1951[4], YDD can be caused by several viral species from the "Barley/Cereal yellow dwarf viruses" complex (B/CYDV, *Luteoviridae* family). B/CYDV have a single-stranded positive-sense RNA genome of about 5700 bases[5]. Based on the characteristics of the viral genome, eight viral species belonging to the *Polerovirus* genus (CYDV-RPV, CYDV-RPS and MYDV-RMV) and to the *Luteovirus* genus (BYDV-PAV, BYDV-PAS, BYDV-MAV, BYDV-kerII and BYDV-kerIII), and 2 species still unassigned to a viral genus (BYDV-GPV and BYDV-SGV) have been described[6-11]. BYDV-PAV, BYDV-MAV and CYDV-RPV were reported to be the most common species

in Western Europe[12-14]. However, due to limitations in diagnostic techniques of the past, these epidemiological data should now be updated with more recent surveys. Public databases contain numerous sequences of partial and complete B/CYDV genomes that provide information on the genetic polymorphism of these different viral species. However, in these databases the number of sequences and the geographical coverage differs among the viral species[15-17].

2.2. Viral transmission

B/CYDV are transmitted by at least 25 aphid species[18-20] in a persistent non-propagative manner. This transmission mode is characterised by a viral acquisition access period of a few hours. During this period, the virus-free aphid vector feeds on an infected plant ingesting viral particles present in the sap. When the viral particles pass into the lumen of the digestive tract, some particles cross the epithelial barrier to access the haemolymph where they move to the accessory salivary glands located in the head of the aphid. The pathway of particles inside the aphid body induces a latent period of a few hours before the viruliferous (i.e. virus-carrying) insect becomes infectious. This infectious status of viruliferous aphid is maintained for the entire life of the vector. B/CYDV do not multiply in the vector and are not transmitted vertically to the offspring of viruliferous aphid. Each B/CYDV serotype is transmitted by one or several specific aphid species; the BYDV-PAV species is mainly transmitted by *Rhopalosiphum padi* and *Sitobion avenae*, the BYDV-MAV species is transmitted by *S. avenae*, and the CYDV-RPV species is transmitted by *R. padi*[21-23].

2.3. Host range and symptoms

B/CYDV infects at least 150 species belonging to 11 tribes of the *Poaceae* family[15, 24-30]. The main symptoms associated with YDD are dwarfism and yellowing[31-35]. The intensity of these symptoms depends on several biotic and abiotic parameters[31,36-40]. In the absence of efficient crop protection

strategies, YDD results in cereal yield losses of up to 80%[14,41], and also affects grain quality. YDD is present every year in all cereal production areas. However, the average proportion of infected fields varies greatly depending on the year and region.

2.4. Diagnosis of B/CYDV

Diagnostic techniques can vary from the visual observation of symptoms to the analysis of genetic sequences. The viral particles consist of a nucleoprotein complex that can serve as a target for the development of detection tools. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)[42] exploits the antigenic properties of the viral particle using antibodies to reveal the presence of viruses in a sample. The robustness, simplicity of use, specificity and sensitivity of this technique quickly made ELISA a routine tool in virus diagnosis. Other approaches using the characteristics of viral proteins have since been developed (e.g. membrane hybridization, western blot) in recent decades. However, these techniques have very rarely been transferred from research laboratories to analytical laboratories mainly due to their complexity and the difficulty of simultaneously analysing numerous samples. A wide range of commercial antibodies raised against B/CYDV can be used to identify infected samples. According to the manufacturers' information, the specificity of these serological tools are at the genus or at the species levels. Since the development of molecular tools for virus detection in the early 90's, numerous qualitative and quantitative methods for molecular detection of B/CYDV have been published[43-51]. However, the specificity and sensitivity of these tools has rarely been challenged against the genetic diversity of viruses present in infected samples from large-scale field studies.

3. MAIN CONTROL METHODS AGAINST B/CYDV

Since 2014, all farmers within the EU must cultivate crops in a manner compatible with the principles of integrated pest management (IPM). In essence, IPM is the utilisation of several control approaches, with corrective actions (i.e. the application of a pesticide) taken when predefined thresholds are reached. There are several control approaches utilised in most countries and regions (Table S1).

3.1. Vector surveillance

As B/CYDV are obligate parasites, their biological cycle includes the colonisation of plants, which are both cultivated and alternative hosts (other cultivated species, volunteers and/or host plant species located in the non-cultivated compartments). The infectious aphids colonizing newly seeded areas introduce the disease into the field (primary inoculations) and, once the first hosts are infectious, subsequent aphids feeding on infected hosts spread the virus (secondary inoculations) within the field. Actions are often taken in anticipation of primary infection, particularly at growth stages when the crop is most vulnerable (the early stages of development, such as Pre Growth stage 32 in Autumn sown crops) as well as during peak aphid flight when aphids are most likely to enter the crop. Using knowledge of the aphid species involved in B/CYDV dispersal, different systems have been established to monitor dynamics of aphid flight and their colonization patterns on host plants. The challenge of these monitoring systems is to identify the situations where viral pressure is greatest (i.e. presence of viruliferous vectors) in order to decide to protect (i.e. to spray) the field.

In this context, the use of traps to monitor insect flight has the advantage, compared to a simple visual observation, of being able to quantitatively monitor the populations of each vector species in order to anticipate the outbreaks. Many insect traps are available, which rely mainly on the attraction or passive interception of winged individuals[52]. The choice of the sampling method must

take into account several criteria including: efficiency of capture, selectivity with respect to groups of aphids and possibility of using the method for comparisons[53]. Yellow traps are composed of a simple coloured tray containing soapy water. These traps are inexpensive, very simple to set up, efficient and suitable for large-scale sampling. Interception traps, such as tents, are placed in the flight path of insects. Yattara and Francis[52] compared interception traps (tent) and yellow traps to determine their efficiency at monitoring aphid populations in potato fields in Belgium. They demonstrated that yellow traps were significantly more efficient for the capture of aphids, both in terms of abundance (yellow traps captured 2.8 times more individuals than the tent) and species richness (42 species harvested by yellow traps but only 28 for the tent)[52]. Older studies[54,55] compared yellow and suction traps to monitor insect flights. Suction traps allow capture of live winged insects at different heights (the standardized height of these traps is 12.2 m). According to Labonne[55], these traps provide an unbiased representation of all species present while the yellow traps are more selective with respect to certain species. The major disadvantage of suction traps lies in their construction and operational costs. Suction traps are still used in the UK as part of the Rothamsted Insect Survey, which produces a weekly aphid bulletin[56].

3.2. Cultural control

Adjusting sowing date to reduce aphid/virus pressure is a popular cultural method for B/CYDV control, although the practicality of this approach is restricted with climate, soil conditions and cultivation methods. Later sowing of autumn cereals may reduce the number of, or eliminate the need for, insecticide applications to control aphids/virus[57]. However, late sowing may reduce crop yield. This approach is less reliable if the subsequent winter is mild, extending the period of aphid migration and thus increasing the risk of secondary virus spread. Other cultural techniques may reduce aphid populations in cereal crops. Minimum tillage cultivation (preparation of the seedbed without inversion of the top soil layer by plough) resulted in fewer aphids in autumn compared to

conventional ploughing in two out of six seasons, as tested in Ireland[58]. However, minimal tillage and no tillage-cultivation may increase risk of 'green bridge' transmission, thus control of weeds and volunteers is essential to prevent viral transmission from these potential reservoirs to the crop[1].

3.3. Genetic resources to B/CYDV

Numerous plant pathology studies were conducted to identify, among available genetic resources, host genotypes with a reduced level of susceptibility to viral infection. When genotypes presenting tolerance/resistance phenotypes were identified, breeders made significant efforts to transfer this trait to cultivated varieties. The use of genetic resources to control viral disease is environmentally friendly and resistant cultivars can be easily deployed at a field scale. However, for numerous viral diseases, this strategy suffers from (i) the scarcity and the low variability (which often limits the possibilities of gene pyramiding) of resistance/tolerance genes in the available genetic resources and (ii) the lack of durability of the resistance.

Despite several thousand varieties of wheat, barley and related species tested over the last three decades[59-61], only rare sources of resistance against B/CYDV were identified from *Thinopyrum sp*. and *Lophopyrum sp*.[62-64]. The transfer of their resistance genes into genotypes of common wheat was initiated in the late 1990s. Different plant lines were described[65-73], including P29 substitution line[74] with *Bdv3*, Zhong ZH addition line[69,73,75] with *Bdv4*, TC14 translocation line[71,76] with *Bdv2*, and OK721154 partial amphiploid[70,77]. TC14 and Zhong resistant lines were studied for their agronomic potential and their durability under laboratory and field conditions[34,71,75,78-80]. These studies showed that resistance present in TC14 line (*Bdv2*) lead to the selection of viral variants that overcome the resistance phenotype[81-83]. Moreover, these variants induce severe symptoms in susceptible hosts[51]. These data indicate a low durability of the *Bdv2* gene, which consequently should limit its future use in breeding programs. The first description of tolerance in barley was in 1955 with the gene *Ryd*1 in

variety 'Rojo'[84]. However, the level of tolerance of this resource was not sufficient to keep this gene in breeding programs. The *Ryd*2 gene[85] was described for the first time in 1959 in Ethiopian accessions[86]. The breeding efforts made on *Ryd*2 led to the creation of, among others, the 'Atlas 68' varieties (6-row spring barley registered in 1969 in the United States[87]), 'Coracle' (2-row spring barley) registered in 1977 in the United Kingdom and 'Naturel' in 1998 (first winter barley available to French growers). More recently, other varietal innovations with *Ryd*2, for example, 'Atenon' (6-row winter barley), 'Amistar' (winter barley) and 'Domino' (winter barley), were deployed in France in 2005, 2013 and 2014, respectively. In the competitive market for barley production, the performances of the available *Ryd*2 varieties are not yet sufficient to establish them in the list of successful varieties. In France, only a few thousand hectares are currently cultivated with these tolerant varieties. In 2004, a third gene of interest (*Ryd*3) was described[88]. However, no variety with this gene has been registered so far. Finally, a source of resistance to YDD (*Ryd*4) was recently identified in barley[89]. This gene seems to act indirectly on the plant/aphid interactions and limits the possibilities of viral inoculations. Varietal innovation associated with resistance/tolerance to B/CYDV in barley and wheat still currently faces major ecological, agronomic and economic challenges, and in light of this further protection from YDD may be achieved through plant breeding for resistance to the aphid vectors[90,91](Edwards *et al.* 2008, Klatt *et al.* 2016). However, the screening time to identify resistant genotypes is substantial, and often, as is the case with wheat, does not naturally exist, and although wild varieties offer more opportunity for identifying resistance over domesticated varieties, resistance against YDD vectors are not widely available in cereals[92] (Koch *et al.* 2016).

3.4. Infochemicals

The use of infochemicals (chemical cues) to implement a push-pull strategy has also shown promise as a sustainable pest management strategy. It is known that insects use infochemicals to respond to their environment[93]. Moreover, natural plant infochemicals like plant volatiles and essential oils have

been shown to deter or provide defence against aphids. For example, (i) cis-jasmone (a plant defence inducer) has shown favourable results against winged *S. avenae*[94], (ii) (Z)-3-hexen-1-ol, an attractant to grain aphids, has been used effectively to pull aphids towards areas of high predator or parasitoid pressure[95], and (iii) exposure to (E)-β-farnesene (EβF) and garlic extract has led to a significant decrease in grain aphid density in wheat fields[95], likely through feeding interference[96] and wing development in preparation for migration away from the crop[97]. EβF has also been shown to attract hoverflies (aphid predators) and increase their accuracy in detecting aphid herbivores[95].

3.5. Threshold-based chemical control

Thresholds for treatments are used in plant protection programs to help producers make pest/disease management decisions that prevent excessive pesticide applications[98-100]. Several thresholds have been established for cereal aphids based on field studies (Table S2). Thresholds tend to be seasonal[101] with separate economic thresholds for winter[102] and summer wheat[100]. Such thresholds are often based on assessments of within-field pest populations by crop inspection[103]. Assessments are usually based on aphid observation through the crop[103] or at spatial intervals[104] or in experimental plots[105]. The use of economic and damage thresholds in barley and wheat is now widely accepted in making crop protection decisions regarding cereal aphid control[106]. However, barriers to uptake still exist as thresholds are numerous, often outdated and varied[107], only apply to certain crop stages or to a particular damage type. Moreover, correlations are poor between grain aphid abundance and yield loss[102,108]. For example, monitoring efforts have shown that only 7% of winged and 3% of wingless *S. avenae* tested in winter wheat fields in South Carolina were found to carry B/CYDV[22], and that the proportion of viruliferous winged *R. padi* during a 6-week period in autumn 1999–2002 in the main French cereal areas was on average only 5%, indicating that most of these aphids were in fact virus-free[109]. Thus, only a proportion of aphids entering the crop may be viruliferous and it is the secondary spread of virus from infectious plants (from primary infections)

that mainly transmits B/CYDV within field. However, the fundamental principle of using thresholds in IPM, is that if a threshold is crossed, the grower should take swift, effective action to bring the pest population back below this threshold, and it is only in this instance where insecticides are required.

4. NEONICOTINOIDS AGAINST B/CYDV

4.1. Neonicotinoid usage

Seed treatments containing imidacloprid, thiamethoxam or clothianidin control aphids as soon as the seedlings emerge from the soil and for approximately 6 weeks after sowing[110]. Reductions in B/CYDV infection at this stage due to insecticide use have been demonstrated, with significant yield increases in both barley and wheat[111-113].

In France, the use of neonicotinoids on cereals started in 1994 on barley, with a specific seed treatment combining fungicides and imidacloprid. Following this, it was accepted for use on wheat in 1996 with a combined seed treatment of fungicide, insecticide and bird repellent. Following the withdrawal of various compounds associated with imidacloprid, imidacloprid-only formulations were developed. By the early 2000s in France, 60% of certified barley seeds and 20% of certified wheat seeds were treated with a neonicotinoid product. After several warm autumns that increased YDD risk, the use of treated seeds reached nearly 75% on barley and 35% on wheat in 2016. The differences in the proportion of treated seed between wheat and barley relate to differences in yield losses associated to B/CYDV for these two crops. A survey carried out in autumn 2013 on 700 farms confirmed that control practices were adapted according to the cultivated species as well as the sowing date. On bread wheat, the average rate of sowing protected with imidacloprid reached 49% on early sown seedlings compared to 22% on late sown seed. On barley, a crop that is highly susceptible to YDD and sown earlier than wheat, these rates reach 79% for early planting and 64% for late planting. Variations in the use of neonicotinoid seed treatment are also observed across

years and geographical areas (e.g. 35-40% in the West and the Centre of France, but 20% in the East of France).

In the United Kingdom clothianidin was first recorded in 2007-sown crops when 15% of winter wheat and 3% of winter barley was treated. In 2014, the proportion of growing area treated with clothianidin alone or in combination with prothioconazole was 37% for winter wheat, 22% for winter barley, 1% for spring barley, 8% for oats and 26% for rye[114]. However, the increased use of insecticide seed treatments has not diminished the usage of subsequent pyrethroid sprays[114-118]. Almost 76% of winter barley crops, 66% of wheat crops, and 14% of spring barley were treated with foliar spray with 94-98% targeting aphids in the autumn-sown crops[114,118]. The B/CYDV epidemic in spring 2016 is likely to have encouraged even higher usage in 2016 autumn-sown crops.

4.2. Neonicotinoid ban in the EU

In May 2013, the European Commission published Regulation (EU) No 485/2013, establishing restrictions on the use of clothianidin, thiamethoxam and imidacloprid, following an assessment of their risk to bees by the European Food Safety Authority (EFSA). The measure prohibited the use of these three neonicotinoids in bee-attractive crops with exceptions for use in greenhouses, the treatment of some crops after flowering and for winter cereals. For maize, oilseed rape and sunflower, the most relevant seed, soil and foliar treatments were banned across the European Union (EU) from December 2013 (only foliar treatments after flowering were still allowed). The outdoor use of imidacloprid, clothianidin and thiamethoxam was revoked on 29 May 2018. The EFSA review stated that bees are exposed to dangerous levels of pesticide in pollen and nectar in fields treated with these neonicotinoids, as well as on nearby land. The review also indicated that drifts of dust occurring during sowing of neonicotinoid-treated seeds could be dangerous to bees.

5. CHALLENGES FOR B/CYDV CONTROL

5.1. Insecticide resistance

Aphids may evolve resistance to insecticides over time, enabling them to withstand their toxic impacts. Pest resistance which is a repeated failure of a compound to attain projected levels of control according to label recommendations[119] arises as a heritable change in a pest population's sensitivity to a compound which has a genetic basis[120,121]. When selection pressure is placed on a pest through the overuse or misuse of insecticides[122], there is selection of natural variants in the population that carry genetic (i.e. change in the genome sequence) differences which enable them to survive exposure[123]. Resistance to pyrethroid compounds has already been reported in over 30 insect species of economic importance[124]. Many of these insect species are aphid pests including *Myzus persicae* and *Aphis gossypii*, as well as B/CYDV vectors (e.g. *R. padi* and *S. avenae*). Insecticide resistance may severely impair crop protection, particularly for cosmopolitan species with wide host ranges[125].

One of the most common mechanisms of resistance is target site resistance which results from amino-acid changes due to point mutations altering the pest sensitivity to insecticide[126]. Different mutations (e.g. over 50 unique mutations or combinations of mutations in voltage-gated sodium channel (VGSC)[127]) may be implicated in resistance to a single compound, which is the case for target site resistance to pyrethroids[124]. Metabolic resistance is another common resistance mechanism, in which enzymatic systems protect the insect by detoxifying or sequestering insecticide molecules[128]. Detoxification enzymes have been implicated in insecticide resistance to several insecticides in three aphid vectors of B/CYDV; *R. padi* [129], *S. avenae*[130-132] and *Schizaphis graminum* in China and the USA, conferring moderate resistance to neonicotinoids, carbamates and organophosphates.

The management of resistance therefore becomes critical to retain the efficacy of compounds and this is achieved mainly by adopting an integrated resistance management strategy which involves

alternating compounds with different modes of action[133]. However, when an aphid species develop resistance to more than one compound (cross-resistance), managing the problem becomes more unsuccessful with a chemical approach alone[131]. Therefore, slowing the development of resistance and maintaining the sustainability of insecticides becomes critically important to ensure they remain effective against pests. The decreasing number of available insecticides may exacerbate resistance issues, increasing selection pressure exerted by a limited number of products.

The consequences of insecticide resistance is the increase of aphids surviving treatment which is generally observed by growers to increase the transmission of vector-borne diseases[134]. Resistance may also be associated with behavioural and physiological changes[135] impacting vector fitness. For example, aphids with target-site resistance showed a reduced ability to detect the alarm pheromone making them more likely to be parasitized by natural enemies[136,137]. In other instances exposure of resistant insects to insecticide can improve their reproduction[138].

5.2. Climate change

Aphids react strongly to small changes of their environment due to their mobility, low temperature threshold for development, short generation time and high reproductive capacity. In temperate zones, it is predicted that for a warming of 2°C an additional five generations of aphids/year can be expected[139,140]. Additionally, milder temperatures increase aphids' ability to overwinter, particularly in their parthenogenetic forms. Increased winter temperatures induce earlier starts to aphid annual life cycles, increase the proportion of winged aphids, and stimulate their flight activity[141]. Bell et al.[142] used the Rothamsted Insect Survey suction trap data to examine the effects of climate on the flight phenology of 55 aphid species over the last 50 years and found that taken as a whole, all species analysed were flying earlier at the start of the year and almost half of the species were making their last flights later.

Implications that climate change and elevated CO_2 will have on the epidemiology of B/CYDV is not fully understood. Knowledge gaps concerning the biology of aphid vectors and B/CYDV impede modelling the changes in YDD incidence and spread and their impact for cereal production under future climate scenarios[143]. Trebicki et al.[144] found that under elevated CO_2, BYDV titre increased by 37% in wheat leaves and plant growth was stimulated, but increased growth did not explain the increased virus titre and infected plants rarely developed symptoms. Nancarrow et al.[145] studied the effects of elevated (10–21°C, night/day) or ambient (5–16°C, night/day) temperature on wheat plants infected with BYDV. Infected plants grown under elevated temperature were larger, developed virus symptoms earlier, and had higher virus titres than plants grown at ambient temperature.

6. FUTURE CONTROL OPPORTUNITIES

6.1. Biological control

Grain aphids are prey or hosts to many natural enemies known collectively as aphidophaga that can subdue populations in barley and wheat at both the boundary and interior of the crop [146,147]. These natural enemies include predators such as ladybirds (Coleoptera: Coccinellidae), hoverflies (Diptera: Syrphidae) and lacewings (Neuroptera: Chrysopidae and Hemerobiidae), parasitoids such as parasitic wasps (Hymenoptera: Aphidiidae) and entomophthoralean fungi (Entomophthorales) [147]. A comprehensive study undertaken in organic wheat fields in Lower Saxony (Germany) investigated the effect of several natural enemies on cereal aphid populations including grain aphids[148]. Aphid-eating gall midges (Cecidomyiidae, *Aphidoletes aphidimyza*) were the most abundant predator with up to 31 individuals per 100 shoots, with spiders (5.3), lacewing larvae (0.14) and ladybirds (0.04) also detected. However, when the effect of predators on aphid populations was removed they found

that removal of ground dwellers led to a 44% increase in aphid populations, while the removal of flying predators and parasitoids led to a 103% increase in aphid populations[148]. Additional research has indicated that Linyphiidae (Arachnida) and Diptera were most effective at consistently reducing grain aphid numbers[149,150]. Within cereal crops, the most abundant parasitoid encountered are the hymenoptera. This group is dominated by the subfamily Aphidiinae (Hymenoptera: Braconidae), which comprise the largest number of species of aphid parasitoids (50 described genera and over 600 species)[147]. The four most common primary parasitoid species encountered attacking cereal aphids in Ireland were *Aphidius rhopalosiphi*, *Aphidius ervi*, *Aphidius picipes* and *Praon volucre*, and their activity was temporally separated between species and sexes[151]. A similar study over two years on spring and winter wheat in Denmark identified *A. ervi* and *A. rhopalosiphi* as the dominant parasitoids[104], and research in Germany found that *A. ervi* and *Aphidius uzbekistanicus* were most abundant in winter wheat[152]. In the Danish study, parasitism ranged from 20–60% by the end of the cropping season in spring barley, and 30–80% in winter wheat and durum wheat in the first year. In the second year, parasitism levels were lower and ranged from 3–11% in barley and 2-40% in winter wheat with the inception and peak of parasitism delayed in comparison to aphid infestation [104].

Inundative control, through the use of banker plants, selection of specific floral resources and the introduction of biological control agents, which work well in glasshouses, have had limited success at the field scale at which cereals are produced[101,153]. This is likely due to an inability to control the environment, a lack of optimisation, a poor understanding of tritrophic connections and of how these various resources contribute to sustaining beneficial insect populations[154,155]. Efforts to enhance conservation biological control have been aided by agri-environmental schemes across Europe[150] such as the Countryside Stewardship (CS) scheme in the UK and the GLAS scheme in Ireland, which encourages the retention or construction of refuge sites or habitats for biological control agents. Conservation biological control approaches, such as farmscaping[156,157] and intercropping[158], have been shown to enhance and encourage biological pest management and the overall diversity of beneficial organisms. These conservation biocontrol approaches are promising

for grain aphid control because they often attract natural enemies beyond the fringes of fields and up to 250 feet into adjacent field crops[159]. Field size and landscape complexity influences on grain aphid density, with smaller fields possessing more field borders and grassy field boundaries, as well as landscapes with higher crop diversity tending to have less cereal aphids[160]. Approaches like these have shown some success, especially as part of complex landscapes which produce better long-term conservation of natural enemies[101,161].

6.2. Breeding for B/CYDV resistance using biotechnologies

In addition to conventional breeding methods applied to natural resistance sources present in wild or cultivated plant species, biotechnologies can be used to create resistant genotypes [162]. These techniques introduce new genes into plants that are essential for growth, metabolism, stress tolerance and pathogen control[163]. To control plant viruses in the absence of a resistance gene available from germplasm, transgenic technologies can be used to introduce viral gene(s) or nucleotide sequence(s) in the genome of a susceptible host genotype (e.g. for virus-derived resistance or RNAi). This genetic modification is expected to alter compatible interactions between plant and virus, leading to the expression of a completely or partially resistant phenotype.

6.2.1. Virus-derived resistance

In the early 1980s, molecular-based technology allowed, for the first time, the introduction of an exogenous DNA (transgene) in the plant genome using biological properties of *Agrobacterium tumefaciens* and of its tumour-inducing (Ti) plasmid, which was used as a DNA vector to drive the integration of the transgene in the plant genome[164]. This method, initially developed for dicots, was adapted to monocots several years later[165]. Another technique based on biolistic inoculation of DNA fragments using gene gun device and tungsten or gold particles coated with nucleic acids allows

transformation of wheat, barley and oat[166]. However, biolistic inoculation leads to multiple integrations in the plant genome, which complicates the screening of transgenic materials and their use in breeding programs. To create B/CYDV tolerant/resistant transgenics, different parts of the viral genome including coding and non-coding sequences were used as transgenes. The 5' half of the viral genome[167], the polymerase gene(s)[168,169], the coat protein[168,170,171], the movement protein[168,172] and the BYDV subgenomic promoter[168] were introduced into B/CYDV susceptible barley, wheat and/or oat genotypes. Some of these virus-derived transgenic plants presented a resistant phenotype when inoculated with B/CYDV. Such small-grain cereal transgenic lines resistant to B/CYDV have been created in several labs worldwide; however, very few data are available on the specificity and on the mechanism of their resistance. Genetically Modified Organisms (GMO), not well accepted by consumers, are still not acceptable for plant breeding program. Thus, very rare virus-resistant transgenic plants, and no B/CYDV-resistant transgenic cereals, have been used in fields so far.

6.2.2. RNAi

RNA interference is a cellular mechanism that uses small cellular non-coding RNAs (approximately 18-30 nucleotides-long) of a gene's own DNA sequence to switch off important cellular functions in the genome such as chromosome segregation, transcription, RNA processing, RNA stability and translation. It has been used by researchers to study gene functions, and its application is now being turned to find new methods of controlling pests on crops[173]. As a post-transcriptional process, RNAi is triggered by double-stranded RNA (dsRNA) leading to gene silencing in a two-step process. In the first step, the dsRNA silencing trigger is recognized by an RNase termed Dicer which cleaves the dsRNA into 21–23 nucleotides (nt) termed short interfering RNA (siRNAs)[174]. These siRNAs are then incorporated into an RNA-induced silencing complex (RISC) in the second step[175] which identifies substrates through their homology to siRNA and targets the equivalent mRNAs for destruction[176].

Initially RNAi could only be triggered by injecting dsRNA into the target organism, but research advances have led to effective ingestion of dsRNA synthesized *in vitro*, offering the possibility for dsRNA use in transgenic crops for protection against herbivorous pests. As the development cost of transgenic RNAi crops is high and the use of transgenic plants and GMOs is widely decried, new GMO-free RNAi approaches are being developed which facilitate RNAi activation through the direct exogenous delivery of RNA molecules (dsRNAs and/or sRNAs) in plants. This RNAi technology shows potential to downregulate the expression of specific genes in insects[177]. While feeding on plants, aphids take up either dsRNA or siRNA which has been applied to the crop, initiating the diffusion of the silencing signal beyond the digestive tract (systemic RNAi and cell autonomous RNAi) to the whole insect body[178]. Several studies have screened optimal RNAi targets in the grain aphid, identifying five genes and four RNAi targets which cause developmental stunting [178], and lead to higher mortality[177,180]. As a tool to overcome pesticide resistance, success has already been achieved in developing transgenic lines of wheat targeting the carboxylesterase gene (CbE E4, linked to insecticide resistance) in the grain aphid[181].

6.3. Biopesticides

The use of natural materials (e.g. animals, plants, bacteria) and minerals as biological control dates back to ancient Egypt, China, Greece and India when plant derivatives were first used to control crop pests[182]. Mixtures such as neem, essential oils and extracts such as Capsicum oleoresin and garlic oil are still used in vegetable production in places like California and the Mediterranean today, particularly for organic production purposes and in post-harvest phases. However, they were largely overlooked for aphid control on cereals until the recent search for alternative pest control options in response to the withdrawal of many conventional pesticides. Biological pest control consists of three categories: plant-incorporated protectants, microbial organisms, and biochemical approaches[183]. Several experiments targeting cereal aphids have assessed the biocontrol potential of phenolic acids

and secondary metabolites from walnut leaves and green husks, caffeic, ferulic and p-coumaric acids, neem seed extract and moringa seed extract[184,185]. The modes of action vary depending on the organism or compound. For example, bacteria (e.g. *Bacillus* spp.) work through protein binding to insect gut receptors, and viruses (e.g. *Baculovirus*) work through ingestion and infection of the insect midgut or the fat body, creating complex effects in the target organism which delay the development of insecticide resistance[186]. Several plant compounds have shown to be effective at controlling cereal aphids, particularly in delaying the pre-reproductive period of *S. avenae*, leading to 35-45% reduction of population size[187,188]. Secondary plant metabolites (e.g. phenolics such as glucosinolates, alkaloids, cyanogenic glycosides, and furanocoumarins), produced as a natural part of plant metabolism in certain plants like cereals, are known to offer protection from aphids. For example, some triticale varieties have high phenolic content, which confers resistance against *S. avenae* and interferes with its feeding behaviour. Furthermore transgenes in triticale plants were shown to be even more resistant to the cereal aphids than regular ones, prolonging aphid development time and reducing fecundity[189,190]. Essential oils of cumin, hyssop, costmary, lavender, and thyme are also known to deter *R. padi* on wheat and barley[191] and neem oil reduced *S. avenae* infestations at similar levels of control to imidacloprid in 50% of experiments[185]. Despite promising potential, the commercialisation of products for use on cereals is still in its infancy, and the future of biocontrol use in cereals will be contingent on achieving stability in field situations, advancing bioformulations for commercialization, as well as assurance that impacts to non-target organisms will be limited.

7. STRATEGY FOR CONTROL OF CEREAL APHIDS IN A POST-NEONICOTINOID AGRICULTURE

Researchers have attempted to evaluate potential impacts of a neonicotinoid restriction in the EU, concluding that restricting seed treatments would result in an increased number of insecticide

applications and/or other changes in IPM practices such as modifying sowing dates[192]. The control of B/CYDV in a post-neonicotinoid world will require the identification of risk periods and risk areas but also a careful integration of aphid monitoring, cultural practices, biological controls, chemical control methods and improved varieties. Indeed, even if varieties with resistance/tolerance to B/CYDV can be used in the future, they remain rather limited to date and the protection of cereals against YDD still obviously relies, at least for the next few years, mainly on the use of insecticides. In the absence of seed treatment of cereals with neonicotinoids, foliar insecticide products (mainly pyrethroids) will be applied. There are few active ingredients in development to supplement or replace existing products (e.g. sulfoxaflor). However, any new product will need to be used carefully as part of an IPM approach to prolong their efficacy, reduce pesticide residuals and slow resistance development. However, it is highly likely that any new insecticides, either for foliar or seed treatment, will be exposed to a very high level of scrutiny, from regulatory, scientific and non-governmental sources. Given the experience with the neonicinoitids, it is possible that companies may be reluctant to place products on the market for this use, if they feel they may not have the longevity required to cover the economic cost of product development and registration. Therefore it is critical that the development of non-pesticide control methods for YDD is prioritised. The control of YDD requires very close aphid monitoring at field level to identify the species and population sizes involved. These parameters are highly variable from one field to another and difficult to predict. However, such data are needed to ensure treatments are applied at the most appropriate time. When conditions remain favourable to insects (warm autumn/winter), successive foliar treatments are necessary because leaves developed after one treatment are not protected, and the efficiency of the insecticide used for the treatment is lost after a few days or weeks. In cases of high viral pressure (numerous aphids in the field), at least two foliar treatments are required to equate with the seed protection, and risk adverse growers may be even more overly cautious in their application approach. Thus, to limit the consequences of the ban of neonicotinoid, it appears crucial to improve infield aphid monitoring and

decision assistant tools to optimize the timing of foliar insecticide applications and to help growers to move away from a risk-adverse approach to sustainable crop protection.

Acknowledgements

LW, LMcN and MG contributed to this paper through funding from the Irish Department of Agriculture, Food and the Marine (Stimulus Project No. 14/s/879). Authors thanks N. Robin and J.B. Thibord (Arvalis , France) for their help to collect data on NNI use in France.

Supplementary Table 1. Example of an Integrated Pest Management Strategy

IPM Strategy	Example
Pre-planning IPM	Cultural control
	Drilling date
	Cultivation type
	Minimize 'green bridge'
In season IPM	Variety selection
	Improved monitoring/forecasting
	Targeted application of insecticides
	Establishing thresholds
	Anti-resistance strategies: Monitoring for control failure, Alternative insecticides
	Biocontrol: Encouraging natural enemies

Supplementary Table 2. A description of treatment thresholds according to location, crop and aphid species reported in the literature for cereal aphids**.**

Location	Crop	Description	Threshold	Aphid species[a]	Reference
Sweden	winter wheat	Economic	7 aphids/tiller	*S.a*	(Larsson 2005)[1]
Ireland	winter wheat	Economic	5 aphids/shoot	*S.a, R.p, M.d*	(Giller *et al.* 1995)[2]
UK		Control	7 aphids/tiller	*M.d*	(George 1974)[3]
UK	autumn cereals	Disease	1 aphid (aphid presence justifies spray)	*S.a, R.p*	(Ellis *et al.* 2009)[4] (Ramsden et al. 2017b)[5]
		Disease	None, spray if aphids are present		
		Feeding	>66% ears infested GS[b] 61-73		
UK	summer wheat	Economic	2 aphids/plant (prior to flowering)	various	(Oakley and Green 2006)[6]
			5 aphids/plant of 66% tillers (after flowering)		
England	winter	Economic	66% of tillers infested	various	(Oakley and

	wheat		or 5 aphids/tiller		Walters 1994)[7]
England	winter wheat	Economic	>5/ear if density is increasing	various	(Carter *et al.* 1989)[8]
Germany	winter wheat	Economic	65% of ear or flag leaf infested or 4 aphids/ear	various	(Basedow *et al.* 1994)[9]
China	Wheat	Economic	4-5 aphids/ear around flowering	*M.d*	(Shaoyou *et al.* 1986)[10]
Denmark	spring barley	Control	10 aphids/tiller	*R.p*	(Hansen 2000)[11]
Quebec	wheat & barley	Control	8-16 aphids/tiller	*R.p, M.d*	(Ba-Angood and Stewart 1980)[12]
California	Barley	Control	25-30 aphids/tiller	*M.d*	(Stern 1967)[13]
France	autumn cereals	Control	10% of tillers infested or aphids observed for 10 days	various	(Vacher, 1990)[14]

[a]***S.a – Sitobion avenae, R.p – Rhopalosiphum padi, M.d – Metopolophium dirhodum*.** [b]**GS-crop growth stage**

Supplementary Table 3. Current literature on potential/actual impacts of a restriction of neonicotinoids on pest management in the EU.

Country	Year	Review/Research	Crop	Reference
UK	2013	Research Review	OSR	Nicholls[15]
UK	2016	Research Review	OSR	Nicholls[16]
UK	2016	Research	OSR	Hughes et al[17]
UK	2017	Review/Perspective	OSR	Dewar[18]
UK	2017	Research	OSR	Scott & Bilsborrow[19]
UK	2019	Research	OSR	Scott & Bilsborrow[20]
Poland	2015	Review	Maize, OSR	Matyjaszczyk et al[21]
EU	2017	Research	Maize, OSR and sunflower	Kathage et al[22]

References

1. Dewar AM, Ferguson A, Pell JK, Nicholls C and Watts J, Research Review No. 86. A review of pest management in cereals and oilseed rape in the UK. AHDB Cereals & Oilseeds (2016).

2. Miles EJ, Bluett DJ and Mann DH, The influence of seed rate on the efficacy of imidacloprid seed treatment against BYDV in winter cereals. In: Seed Treatment: Challenges and Opportunities. Proceedings of the 2001 British Crop Council Protection Symposium No. 76 British Crop Protection Council, Farnham, pp. 47–52 (2001).

3. Dedryver C-A, Le Ralec A and Fabre F, Conflicting relationships between aphids and men:A review of aphid damage and control strategies. *CR Biol* **333**: 539-553 (2010).

4. Oswald JW and Houston BR, A new virus disease of cereals, transmissible by aphids. *Plant Dis Rep*. **35**:471–475 (1951).

5. Miller WA, Waterhouse PM, and Gerlach WL, Sequence and organization of barley yellow dwarf virus genomic RNA. *Nucleic Acids Res* **16**: 6097-6111 (1998).

6. Van Regenmortel MHV, How to write the name of virus species. *Arch Virol* **144:** 1041–1042 (1999).

7. Mayo MA, ICTV at the Paris ICV: results of the plenary session and the binomial ballot. *Arch Virol* **147**: 2254–2260 (2002).

8. Zhang W, Cheng Z, Xu L, Wu M., Waterhouse P and Zhou G, The complete nucleotide sequence of the barley yellow dwarf GPV isolate from China shows that it is a new member of the genus polerovirus. *Arch Virol* **154**: 1125–1128 (2009).

9. Miller WA, Krueger EN and Gray SM, ICTV taxonomic proposal 2013.016a,bP: In the family Luteoviridae, create species Maize yellow dwarf virus-RMV in the genus Polerovirus and remove the unassigned species Barley yellow dwarf virus-RMV (2013). Available online at: http://talk.ictvonline.org/files/proposals/taxonomyproposalsplant1/m/plant01/4600.aspx

10. Krueger EN, Beckett RJ, Gray SM and Miller WA, The complete nucleotide sequence of the genome of Barley yellow dwarf virus-RMV reveals it to be a new Polerovirus distantly related to other yellow dwarf viruses. *Front Microbiol* **4:** 205 (2013).

11. King AMQ, Lefkowitz EJ, Mushegian AR, Adams MJ, Dutilh BE, Gorbalenya AE, Harrach B, Harrison RL, Junglen S, Knowles NJ, Kropinski AM, Krupovic M, Kuhn JH, Nibert ML, Rubino L, Sabanadzovic S, Sanfaçon H, Siddell SG, Simmonds P, Varsani A, Zerbini FM and Davison AJ, Changes to taxonomy and the International Code of Virus Classification and Nomenclature ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Arch Virol* **163** :2601-2631 (2018).

12. Signoret PA and Maroquin C, The barley yellow dwarf virus situation in western Europe, In: World Perspectives on Barley Yellow Dwarf, ed. by Burnett PA, CIMMYT, Udine, Italy, pp. 42–44 (1990).

13. Henry M, George S, Arnold GM, Dedryver CA, Kendall DA, Robert Y and Smith BD, Occurrence of barley yellow dwarf virus (BYDV) isolates in different farmland habitats in western France and south-west England. *Ann Appl Biol* 123: 315–329 (1993).

14. Lister RM and Ranieri RR, Distribution and economic importance of Barley Yellow Dwarf, in Barley Yellow Dwarf, 40 years of Progress, ed. by D'Arcy CJ and Burnett PA, St Paul, APS Press, pp. 29–53 (1995).

15. Svanella-Dumas L, Candresse T, Hullé M and Marais A (2013). Distribution of Barley yellow dwarf virus-PAV in the sub-Antarctic Kerguelen Islands and characterization of two new Luteovirus species. *Plos one* **8:** p.e67231.

16. Wu B, Blanchard-Letort A, Liu Y, Zhou G, Wang X and Elena SF, Dynamics of molecular evolution and phylogeography of Barley yellow dwarf virus-PAV. *PloS one* **6**: p.e16896 (2011).

17. Liu F, Wang X, Liu Y, Xie J, Gray SM, Zhou G and Gao B, A Chinese isolate of barley yellow dwarf virus-PAV represents a third distinct species within the PAV serotype. *Arch Virol* **152:** 1365-1373 (2007).

18. Gildow FE and Rochow WF, Role of accessory salivary glands in aphid transmission of barley yellow dwarf virus. *Virology* **104:** 97–108 (1980).

19. Power AG and Gray SM, Aphid transmission of barley yellow dwarf viruses: Interaction between viruses, vectors and host plants, in Barley Yellow Dwarf: 40 Years of Progress, ed. by D'Arcy CJ and Burnett PA, APS Press, St. Paul, pp. 259-292 (1995).

20. Brault V, Uzest M, Monsion B., Jacquot E and Blanc S, Aphids as transport devices for plant viruses, *C. R. Biologies* (2010), doi:10.1016/j.crvi.2010.04.001

21. Halbert S and Voegtlin D, Biology and taxonomy of vectors of barley yellow dwarf virus, in Barley Yellow Dwarf: 40 Years of Progress, ed. by D'Arcy JC and Burnett AP, APS Press, St Paul, Minnesota, pp. 217-258. (1995).

22. Chapin J W, Thomas J S, Gray S M, Smith D M and Halbert S E, Seasonal abundance of aphids (Homoptera: Aphididae) in wheat and their role as barley yellow dwarf virus vectors in the South Carolina coastal plain. *J Econ Entomol* **94**: 410-421 (2001).

23. Choudhury S, Hu H, Meinke H, Shabala S, Westmore G, Larkin P and Zhou M, Barley yellow dwarf viruses: infection mechanisms and breeding strategies. *Euphytica*, **213**: 168 (2017).

24. D'Arcy CJ, Symptomatology and host range of barley yellow dwarf, in Barley yellow dwarf: Forty years of progress, ed. by D'Arcy CJ and Burnett PA, APS Press, St. Paul, pp. 9-28 (1995).

25. Remold S, Unapparent virus infection and host fitness in three weedy grass species. *J. Ecol*. **90**: 967-977 (2002).

26. Lamptey JNL, Plumb RT and Shaw MW, Interactions between the Grasses Phalaris arundinacea, Miscanthus sinensis and Echinochloa crus-galli, and Barley and Cereal Yellow Dwarf Viruses. *J. Phytopathol*. **151**: 463-468 (2003).

27. Soreng RJ, Peterson PM, Romaschenko K, Davidse G, Zuloaga FO, Judziewicz JE, Filgueiras TS, Davis JI and Morrone O, A worldwide phylogenetic classification of the Poaceae (Gramineae). *Journal of Systematics and Evolution* **53:** 117–137 (2015).

28. Soreng RJ, Peterson PM, Romaschenko K, Davidse G, Teisher JK, Clark LG, Barberá P, Gillespie LJ and Zuloaga FO, A worldwide phylogenetic classification of the Poaceae (Gramineae) II: An update and a comparison of two 2015 classifications. *Journal of Systematics and Evolution* **55:** 259–290 (2017).

29. Ingwell LL, Lacroix C, Rhoades PR, Karasev AV and Bosque-Pérez NA, Agroecological and environmental factors influence Barley yellow dwarf viruses in grasslands in the US Pacific Northwest. *Virus Res.* **241**: 185–195 (2017).

30. Ali M, Anwar S, Shuja MN, Tripathi RK, Singh J, 2018. The genus Luteovirus from infection to disease. *Eur. J. Plant Pathol.* **151:** 841–860.

31. Bruehl GW, Barley Yellow Dwarf: Monograph n_1. *APS*, **52:** (1961).

32. Bayon F, Ayrault J P and Pichon P, La jaunisse nanisante de l'orge. *Phytoma* **342**: 17–21 (1982).

33. Beuve M, Naibo B, Foulgocq L and Lapierre H, Irrigated hybrid maize crop yield losses due to Barley yellow dwarf virus-PAV luteovirus. *Crop Sci*, **39**: 1830–1834 (1999).

34. Ayala L, van Ginkel M, Khairallah M, Keller B and Henry M, Expression of Thinopyrum intermedium-derived Barley yellow dwarf virus resistance in elite bread wheat backgrounds. *Phytopathology* **91**: 55–62 (2001).

35. Ayala L, Henry M, van Ginkel M, Singh R, Keller B and Khairallah M, Identification of QTLs for BYDV tolerance in bread wheat. *Euphytica* **128**: 249–259 (2002).

36. Gruntzig M and Fuchs E, Occurrence of luteoviruses of cereals in Zea mays L. *Zeitschrift Fur Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz* **107**: 528–538 (2000).

37. Collin J, St-Pierre CA, Comeau A and Couture L, Effects of barley yellow dwarf viruses and snow molds on yield stability of winter cereals. *Can. J. Plant. Pathol.* **19**: 406–413 (1997).

38. Grafton KF, Poehlman JM, Sechler DT and Sehgal OP, Effect of barley yellow dwarf virus infection on winter survival and other agronomic traits in barley. *Crop Sci.* **22**: 596–600 (1982).

39. Monneveux P, St-Pierre CA and Comeau A, Barley yellow dwarf virus tolerance in drought situations, in Barley Yellow Dwarf in West Asia and North Africa, ed. by Comeau A and Makkouk KM, Aleppo. pp. 209–220 (1991).

40. Smith PR and Sward RJ, Crop loss assessment studies on the effects of barley yellow dwarf virus in wheat in Victoria. *Aust. J. Agric. Res.* **33**: 179-185 (1982).

41. Perry KL, Kolb FL, Sammons B, Lawson C, Cisar G and Ohm H, Yield effects of Barley yellow dwarf virus in soft red winter wheat. *Phytopathology* **90**: 1043–1048 (2000).

42. Clark MF and Adams AN, Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses *J. Gen. Virol*. **34**:475-83 (1977).

43. French R and Robertson NL, Simplified sample preparation for detection of wheat streak mosaic virus and barley yellow dwarf virus by PCR. *J Virol Methods* **49:** 93-99 (1994).

44. Henson J and French R, The polymerase chain reaction and plant disease diagnosis. *Annu. Rev. Phytopathol.* **143**: 369-373 (1993).

45. Figueira AR, Domier LL and D'Arcy CJ, Comparison of techniques for detection of barley yellow dwarf virus-PAV-IL. *Plant Dis*, **81**: 1236-1240 (1997).

46. Mastari J, Lapierre H and Dessens JT, Asymmetrical distribution of barley yellow dwarf virus PAV variants between host plant species. *Phytopathology* **88**: 818–821 (1998).

47. Martin RR, James D and Levesque CA, Impacts of molecular diagnostic technologies on plant disease management. *Annu. Rev. Phytopathol* **38**: 207-239 (2000).

48. Fabre F, Kervarrec C, Mieuzet L, Riault G, Vialatte A and Jacquot E, Improvement of Barley yellow dwarf virus-PAV detection in single aphids using a fluorescent real time RT-PCR. *J Virol Methods* **110**:51-60 (2003).

49. Malmstrom CM and Shu R, Multiplexed RT-PCR for streamlined detection and separation of barley and cereal yellow dwarf viruses. *J Virol Methods* **120:** 69-78 (2004).

50. Deb M and Anderson JM, Development of a multiplexed PCR detection method for Barley and Cereal yellow dwarf viruses, Wheat spindle streak virus, Wheat streak mosaic virus and Soil-borne wheat mosaic virus. *J Virol Methods*, **148**: 17-24 (2008).

51. Delaunay A, Lacroix C, Morlière S, Riault G, Chain F, Trottet M and Jacquot E, A SSCP-derived quantitative variable to monitor the virulence of a Barley yellow dwarf virus-PAV (BYDV-PAV) isolate during adaptation to the TC14 wheat resistant line. *Mol Plant Pathol*, **11**, 651–661 (2010).

52. Yattara AAA and Francis F, Impact des méthodes de piégeage sur l'efficacité de surveillance des pucerons : illustration dans les champs de pommes de terre en Belgique. *Entomol. Faun*. **66:** 89–95 (2013).

53. Nageleisen LM and Bouget C, L'étude des insectes en forêt: méthodes et techniques, éléments essentiels pour une standardisation. Synthèse des réflexions menées par le groupe de travail « Inventaires Entomologiques en Forêt » (Inv.Ent.For.), Les dossiers forestiers, **19**: 144 (2009).

54. Labonne G, Fauvel C, Leclant F and Quiot J, Description d'un piège à succion : son emploi dans la recherche des aphides vecteurs de virus transmis sur le mode non persistant. *Agron. EDP Sci.* **2**: 773–776 (1982).

55. Labonne G, Lauriaut F and Quiot J, Comparaison de trois types de pièges pour l'échantillonnage des populations de pucerons ailés. *Agron. EDP Sci*. **9:** 547–557 (1989).

56. Macaulay E D M, Tatchell G M, and Taylor L R, The Rothamsted Insect Survey '12-metre' suction trap. *Bull. Entomol. Res.* **78**: 121-128 (2009).

57. Kennedy T and Connery J, Barley yellow dwarf virus in winter barley in Ireland: yield loss and timing of autumn aphicides in controlling the MAV-strain. *Irish J Agr Food Res,* 55-70 (2001).

58. Kennedy TF and Connery J, Control of barley yellow dwarf virus in minimum-till and conventional-till autumn-sown cereals by insecticide seed and foliar spray treatments. *J Agr Sci* **150:** 249–262. (2012).

59. Qian Y T, Zhou G H and Zhou X M, Screening for the sources of resistance to BYDV. [in Chinese]. *Acta Phytophyl Sin* **20**: 71–75 (1993).

60. Li LH, Zheng DS, Yang XM, Li XQ, Liu SC and Song CH, Diversity evaluation of wheat germplasm resources in China. *Genet Resour Crop Ev* **45**: 167–172 (1998).

61. Francki MG, Ohm HW and Anderson JM, Novel germplasm providing resistance to barley yellow dwarf virus in wheat. *Aust J Agric Res* **52**: 1375–1382 (2001).

62. Comeau A and Plourde A, Cell, tissue culture and intergeneric hybridization for barley yellow dwarf virus resistance in wheat. *Can J Plant Pathol* **9**: 188–192 (1987).

63. Larkin P J, Bretell R I S, Banks P M, Appels R, Waterhouse P M, Cheng Z M, Zhou G H, Xin Z Y and Chen X. Identification, characterization and utilisation of sources of resistance to barley yellow dwarf virus. In World Perspectives on Barley Yellow Dwarf, ed. by Burnett P, International Maize and Wheat Improvement (CIMMYT), Mexico.pp. 415–420 (1990).

64. Xu S J, Banks P M, Dong Y S, Zhou R H and Larkin P J, Evaluation of Chinese Triticeae for resistance to barley yellow dwarf virus (BYDV). *Genet Resour Crop Ev* **41**: 35–41 (1994).

65. The TT and Baker EP, Homoeologous relationships between two Agropyron intermedium chromosomes and wheat. *Wheat Information Service* **31**: 29–31 (1970).

66. Forster BP, Reader SM, Forsyth SA, Koebner RMD, Miller TE, Gale MD and Cauderon Y, An assessment of the homoeology of six *Agropyron intermedium* chromosomes added to wheat. *Genet Res* **50**: 91–97 (1987).

67. Brettell RIS, Banks PM, Cauderon Y, Chen X, Cheng ZM, Larkin PJ and Waterhouse PM, A single wheatgrass chromosome reduces the concentration of barley yellow dwarf virus in wheat. *Annal Appl Biol* **113**: 599–603 (1988).

68. Banks PM, Larkin PJ, Bariana HS, Lagudah ES, Appels R, Waterhouse PM, Bretell RIS, Chen X, Xu HJ, Xin ZY, Qian YT, Zhou XM, Cheng ZM and Zhou GH, The use of cell culture for subchromosomal introgressions of barley yellow dwarf virus resistance from *Thynopyrum intermedium* to wheat. *Genome* **38**: 395–405 (1995).

69. Larkin PJ, Banks PM, Lagudah ES, Appels R, Xiao C, Zhiyong X, Ohm HW and McIntosh RA, Disomic *Thinopyrum intermedium* addition lines in wheat with barley yellow dwarf virus resistance and with rust resistances. *Genome* **38**: 385–394 (1995).

70. Chen Q, Ahmad F, Collin J, Comeau A, Fedak G and St-Pierre CA, Genomic constitution of a partial amphiploid OK7211542 used as a source of immunity to barley yellow dwarf virus for bread wheat. *Plant Breed* **117**: 1–6 (1998).

71. Anderson JM, Bucholtz DL, Greene AE, Francki MG, Gray SM, Sharma H, Ohm HW and Perry KL, Characterization of wheatgrass-derived barley yellow dwarf virus resistance in a wheat alien chromosome substitution line. *Phytopathology* **88**: 851–855 (1998).

72. Crasta OR, Francki MG, Bucholtz DB, Sharma HC, Zhang J, Wang RC, Ohm HW and Anderson JM, Identification and characterization of wheat-wheatgrass translocation lines and localization of barley yellow dwarf virus resistance. *Genome* **43**: 698–706 (2000).

73. Tang S, Li Z, Jia X and Larkin PJ, Genomic in situ hybridization (GISH) analyses of *Thinopyrum intermedium*, its partial amphiploid Zhong 5, and disease-resistant derivatives in wheat. *Theor Appl Genet* **100**: 344–352 (2000).

74. Sharma H, Ohm H, Goulart L, Lister R, Appels R and Benlhabib O, Introgression and characterization of Barley yellow dwarf virus-resistance from *Thinopyrum intermedium* into wheat. *Genome* **38**: 406–413 (1995).

75. Barloy D, Etienne C, Lemoine J, Saint Ouen Y, Jahier J, Banks PM and Trottet M, Comparison of TAF46 and Zhong 5 resistances to barley yellow dwarf virus from *Thinopyrum intermedium* in wheat. *Euphytica* **129**: 361–369 (2003).

76. Banks PM, Davidson JL, Bariana H and Larkin PJ, Effects of Barley yellow dwarf virus on the yield of winter wheat. *Aust J Agric Res* **46**: 935–946 (1995).

77. Comeau A, Makkouk KM, Ahmad F and Saintpierre CA, Bread Wheat x Agrotricum crosses as a source of immunity and resistance to the PAV strain of barley yellow dwarf luteovirus. *Agronomie* **14**: 153–160 (1994).

78. Chen Q, Collin J, Comeau A, St-Pierre CA and Fedak G, Comparison of various sources of resistance to barley yellow dwarf virus in wheat-Thinopyrum amphiploid lines. *Can J Plant Pathol* **19**: 414–417 (1997).

79. Chain F, Riault G, Trottet M and Jacquot E, Analysis of time accumulation patterns of Barley yellow dwarf virus-PAV (BYDV-PAV) in two resistant wheat lines. *Eur J Plant Pathol* **113**:343-355 (2005).

80. Jahier J, Chain F, Barloy D, Tanguy AM, Lemoine J, Riault G, Margalé E, Trottet M and Jacquot E, Effect of combining two genes for partial resistance to Barley yellow dwarf virus-PAV (BYDV-PAV) derived from *Thinopyrum intermedium* in wheat. *Plant Pathol*, **58**:807-814 (2009).

81. Chain F, Riault G, Jacquot E and Trottet M, Field trial of serially passaged isolates of BYDV-PAV overcoming resistance derived from *Thinopyrum intermedium* in wheat. *Plant Breed* **125**:212-216 (2006).

82. Chain F, Riault G, Trottet M and Jacquot E, Characterization of two sources of tolerance/resistance to Barley yellow dwarf virus-PAV (BYDV-PAV) in wheat and estimation of their durability using serial passage experiment procedures. *Parasitica* **61**, 41-46 (2007).

83. Chain F, Riault, G, Trottet M and Jacquot E, Valuation of the durability of the Barley yellow dwarf virus-resistant Zhong ZH and TC14 wheat lines. European *J Plant Pathol* **117**: 35-43(2007).

84. Suneson CA, Breeding for resistance to yellow dwarf virus in barley. *Agron J* **47**:283 (1955).

85. Burnett PA, Comeau A and Qualset CO, Tolerance or resistance for control of barley yellow dwarf. In Barley Yellow Dwarf 40 Years of Progress, ed. by D'Arcy CJ, Burnett PA, APS Press, Minnesota pp. 321–343 (1995).

86. Schaller CW, Rasmussen DC and Qualset CO, Sources of resistance to the yellow dwarf virus in barley. *Crop Sci* **4**: 544–548 (1963).

87. Schaller CW and Chim CI, Registration of Atlas 68 barley. *Crop Sci.* **9**:521 (1969).

88. Niks RE, Habekuß A, Bekele B and Ordon F, A novel major gene on chromosome 6H for resistance of barley against the barley yellow dwarf virus. *Theor Appl Genet*, **109**: 1536–1543 (2004).

89. Scholz M, Ruge-Wehling B, Habekuß A, Schrader O, Pendinen G, Fischer K and Wehling P Ryd4 Hb: a novel resistance gene introgressed from *Hordeum bulbosum* into barley and conferring complete and dominant resistance to the barley yellow dwarf virus. *Theor Appl Genet* **119**: 837-849 (2009).

90. Edwards OR, Franzmann B, Thackray D and Micic S, Insecticide resistance and implications for future aphid management in Australian grains and pastures: a review. *Aust. J. Exp. Agric* **48**: 1523-1530 (2008).

91. Klatt BK, Rundlöf M and Smith HG, Maintaining the Restriction on Neonicotinoids in the European Union–Benefits and Risks to Bees and Pollination Services. *Front Ecol Evol* **4**: 4 (2016).

92. Koch KG, Chapman K, Louis J, Heng-Moss T and Sarath G, Plant tolerance: a unique approach to control hemipteran pests. *Front Plant Sci* **7**: 1363 (2016).

93. Klaschka U, The infochemical effect—a new chapter in ecotoxicology. *Environ Sci Pollut R* **15**: 452-462 (2008).

94. Bruce TJ, Martin JL, Pickett JA, Pye BJ, Smart LE and Wadhams LJ, cis-Jasmone treatment induces resistance in wheat plants against the grain aphid, Sitobion avenae (Fabricius)(Homoptera: Aphididae). *Pest Manage. Sci.***59**: 1031-1036 (2003).

95. Zhou H, Chen L, Liu Y, Chen J and Francis F, Use of slow-release plant infochemicals to control aphids: a first investigation in a Belgian wheat field. *Sci Rep* **6**: 31552 (2016).

96. Pickett J, Wadhams L, Woodcock C and Hardie J, The chemical ecology of aphids. *Annu Rev Entomol* **37**: 67-90 (1992).

97. Jiang S, Deng Q, Fan J, Sun J and Chen J, Behavioral responses of *Sitobion avenae* (Hemiptera: Aphididae) to E-β-farnesene. *Acta Entomologica Sinica*, **58**: 776-782 (2015).

98. Nutter Jr FW, Teng PS and Royer MH, Terms and concepts for yield, crop loss, and disease thresholds. *Plant Dis* **77**: 211 (1993).

99. Pimentel D, Encyclopedia of pest management. CRC Press, Boca Raton, FL (2002).

100. Oakley J and Green D, Using thresholds and risk assessment for pest management. Presented at HGCA conference, 25-26 Jan (2006).

101. Poehling HM, Thieme T and Heimbach U, IPM Case Studies: Grain in: Aphids as crop pests, 2nd edition, ed. by Van Emden HF and Harrington R, CAB International, Oxfordshire, UK (2017).

102. Oakley J and Walters K, A field evaluation of different criteria for determining the need to treat winter wheat against the grain aphid *Sitobion avenae* and the rose-grain aphid *Metopolophium dirhodum*. *Ann Appl Biol* **124**: 195-211 (1994).

103. Winder L, Perry J and Holland J, The spatial and temporal distribution of the grain aphid *Sitobion avenae* in winter wheat. *Entomol Exp Appl* **93**: 275-288 (1999).

104. Sigsgaard L, A survey of aphids and aphid parasitoids in cereal fields in Denmark, and the parasitoids' role in biological control. *J Appl Entomol* **126**: 101-107 (2002).

105. Dewar AM, Dean GJ and Cannon R, Assessment of methods for estimating the numbers of aphids (Hemiptera: Aphididae) in cereals. *Bull Entomol Res* **72:** 675-685 (1982).

106. Elliott N, Kieckhefer R and Walgenbachi D, Binomial sequential sampling methods for cereal aphids in small grains. *J Econ Entomol* **83:** 1381-1387 (1990).

107. Ramsden MW, Kendall SL, Ellis SA and Berry PM, A review of economic thresholds for invertebrate pests in UK arable crops. *Crop Prot* **96:** 30-43 (2017).

108. Rabbinge R and Mantel W, Monitoring for cereal aphids in winter wheat. *Eur J Plant Pathol* **87**: 25-29 (1981).

109. Fabre F, Plantegenest M, Mieuzet L, Dedryver CA, Leterrier JL and Jacquot E, Effect of climate and land use on the proportions of viruliferous aphids and epidemiology of barley yellow dwarf disease. *Agric. Ecosyst. Environ.* **106**: 49-55 (2005).

110. Dewar AM, Chemical control. In:Aphids as Crop Pests, ed. by van Emden H and Harrington R, CABI Publishing, UK, pp. 391-422 (2007).

111. McKirdy SJ and Jones RAC, Use of imidacloprid and newer generation synthetic pyrethroids to control the spread of barley yellow dwarf luteovirus in cereals. *Plant Dis* **80**: 895-901, (1996).

112. Adam NM and Hopkinson D, Clothianidin: a new insecticide seed treatment for cereals. Proceedings of Crop Protection in Northern Britain Conference 2006, 131-136 (2006).

113. Kennedy TF and Connery J, Control of barley yellow dwarf virus in minimum-till and conventional-till autumn-sown cereals by insecticide seed and foliar spray treatments. J Agr Sci **150:** 249–262 (2012).

114. Garthwaite DG, Barker I, Laybourn R, Huntly A, Parrish GP, Hudson S and Thygesen H, Pesticide usage survey report 263 – arable crops in the United Kingdom 2014. Defra National Statistics, (2015).

115. Garthwaite DG, Thomas MR, Parrish G, Smith L and Barker I, Pesticide usage survey report 224. Arable crops in Great Britain 2008. Defra National Statistics (2009).

116. Garthwaite DG, Barker I, Parrish G, Smith L, Chippindale C and Pietravalle S, Pesticide usage survey report 235 – arable crops in the United Kingdom 2010. Defra National Statistics (2011).

117. Garthwaite DG, Hudson S, Barker I, Parrish G, Smith L and Pietravalle S, Pesticide usage survey report 250 – arable crops in the United Kingdom 2012. Defra National Statistics (2013).

118. Dewar AM and Foster SP, Overuse of pyrethroids may be implicated in recent BYDV epidemics in cereals. *Outlooks on Pest Management* **28**: 7–12 (2017).

119. IRAC. The IRAC Mode of Action Classification, (Ed.) I.R.A. Committee, Vol. 2018, Insecticide Resistance Action Committee. Online (2018).

120. Rahman MM, Baker G, Powis KJ, Roush RT and Schmidt O, Induction and Transmission of Tolerance to the Synthetic Pesticide Emamectin Benzoate in Field and Laboratory Populations of Diamondback Moth. *J Econ Entomol* **103:** 1347-1354. (2010).

121. Tabashnik BE and Johnson MW, Evolution of Pesticide Resistance in Natural Enemies in: Handbook of Biological Control, ed. by Bellows TS and Fisher TW Academic Press. San Diego, pp. 673-689 (1999).

122. Miller ALE, Tindall K and Leonard BR, Bioassays for Monitoring Insecticide Resistance. *J Vis Exp* **46:** 2129 (2010).

123. Barres B, Micoud A, Corio-Costet MF, Debieu D, Fillinger-David S, Walker AS, Délye C, Grosman J and Siegwart M, Trends and challenges in pesticide resistance detection. *Trends Plant Scie* **21:** 834–853 (2016).

124. Rinkevich FD, Du YZ and Dong K, Diversity and convergence of sodium channel mutations involved in resistance to pyrethroids. *Pestic Biochem Phys* **106:** 93-100 (2013).

125. Bass C, Puinean AM, Zimmer CT, Denholm I, Field LM, Foster SP, Gutbrod O, Nauen R, Slater R and Williamson MS, The evolution of insecticide resistance in the peach potato aphid, *Myzus persicae*. *Insect Biochem Mol Biol* **51:** 41-51 (2014).

126. Ranson H, N'guessan R, Lines J, Moiroux N, Nkuni Z and Corbel V, Pyrethroid resistance in African anopheline mosquitoes: what are the implications for malaria control? *Trends Parasitol* **27:** 91-98 (2011).

127. Zuo Y, Peng X, Wang K, Lin F, Li Y and Chen MJSr, Expression patterns, mutation detection and RNA interference of *Rhopalosiphum padi* voltage-gated sodium channel genes. *Sci Rep* **6:** 30166 (2016).

128. Li X, Schuler MA and Berenbaum MR, Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. *Annu Rev Entomol* **52:** 231-253 (2007).

129. Wang K, Zhang M, Huang Y, Yang Z, Su S and Chen MJPms, Characterisation of imidacloprid resistance in the bird cherry-oat aphid, *Rhopalosiphum padi*, a serious pest on wheat crops. *Pest Manag Sci* **74:** 1457-1465 (2018).

130. Chen Mh, Han Z-j, Qiao Xf, Qu M-j, Mutations in acetylcholinesterase genes of *Rhopalosiphum padi* resistant to organophosphate and carbamate insecticides. *Genome* **50**: 172-179 (2007).

131. Chen M, Han Z, Qiao X, Qu M, Resistance mechanisms and associated mutations in acetylcholinesterase genes in *Sitobion avenae* (Fabricius). *Pestic Biochem Phys* **87:** 189-195 (2007).

132. Liuping Z, Hong L, Kun G, Shumin Y and Feng C, Insecticide resistance status and detoxification enzymes of wheat aphids *Sitobion avenae* and *Rhopalosiphum padi*. *Sci China Life Sci* **60**: 927-930 (2017).

133. Sparks TC and Nauen R, IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management. *Pestic Biochem Phys* **121:** 122-128 (2015).

134. Rivero A, Vezilier J, Weill M, Read AF and Gandon S, Insecticide control of vector-borne diseases: when is insecticide resistance a problem? *PLoS Pathog*, **6**: e1001000 (2010).

135. Kliot A and Ghanim M, Fitness costs associated with insecticide resistance. *Pest Manag Sci*, **68**: 1431-1437 (2012).

136. Foster S, Young S, Williamson M, Duce I, Denholm I, Devine G, Analogous pleiotropic effects of insecticide resistance genotypes in peach–potato aphids and houseflies. *Heredity*, **91**: 98-106 (2003).

137. Foster SP, Denholm I and Thompson R, Variation in response to neonicotinoid insecticides in peach-potato aphids, *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). *Pest Manag Sci*, **59**: 166-173 (2003).

138. Guedes RNC and Cutler GC, Insecticide-induced hormesis and arthropod pest management. *Pest Manag Sci*, **70**: 690-697 (2014).

139. Harrington R, Aphid layer, *Antenna*, **18**: 50–51 (1994).

140. Hullé M, d'Acier AC, Bankhead-Dronnet S and Harrington R, Aphids in the face of global changes. *Comptes Rendus Biologies*. **333**:497-503 (2010).

141. Jones RA, Future Scenarios for Plant Virus Pathogens as Climate Change Progresses. *Adv Virus Res*. **95**: 87-147 (2016).

142. Bell JR, Alderson L, Izera D, Kruger T, Parker S, Pickup J, Shortall CR, Taylor MS, Verrier P and Harrington R, Long-term phenological trends, species accumulation rates, aphid traits and climate: five decades of change in migrating aphids. *J Anim Ecol.* **84:** 21-34 (2015).

143. Finlay KJ and Luck JE, Response of the bird cherry-oat aphid (*Rhopalosiphum padi*) to climate change in relation to pest status, vectoring potential and function in a crop-vector-virus pathosystem. *Agr Ecosyst Enviro* **144:** 405–421 (2011).

144. Trębicki P, Nancarrow N, Cole E, Bosque-Pérez NA, Constable FE, Freeman AJ, Rodoni B, Yen AL, Luck JE and Fitzgerald GJ, Virus disease in wheat predicted to increase with a changing climate. *Global Change Biol*, **21**:3511-3519 (2015).

145. Nancarrow N, Constable FE, Finlay KJ *et al*. The effect of elevated temperature on Barley yellow dwarf virus-PAV in wheat. *Virus Res*, **186:** 97–103 (2014).

146. Ramsden M, Menendez R, Leather S and Wäckers F, Do natural enemies really make a difference? Field scale impacts of parasitoid wasps and hoverfly larvae on cereal aphid populations. *Agr Forest Entomol* **19:** 139-145 (2017).

147. Völkl W, Mackauer M, Pell JK and Brodeur J, Predators, Parasitoids and Pathogens, in: Aphids as crop pests, ed. by van Emden HF and Harrington R, CAB International, Wallingford, pp. 187-233 (2007).

148. Schmidt MH, Lauer A, Purtauf T, Thies C, Schaefer M and Tscharntke T, Relative importance of predators and parasitoids for cereal aphid control. *Proc Royal Soc B*, **270**: 1905-1909 (2003).

149. Holland J, Oaten H, Southway S and Moreby S, The effectiveness of field margin enhancement for cereal aphid control by different natural enemy guilds. *Biol Control*, **47**: 71-76 (2008).

150. Holland J, Oaten H, Moreby S, Birkett T, Simper J, Southway S and Smith B, Agri-environment scheme enhancing ecosystem services: a demonstration of improved biological control in cereal crops. *Agr Ecosyst Environ*, **155**: 147-152 (2012).

151. Giller P, Ryan B, Kennedy T and Connery J, Aphid-parasitoid interactions in a winter cereal crop: field trials involving insecticide application. *J Appl Entomol*, **119**: 233-239 (1995).

152. Vollhardt IM, Tscharntke T, Wäckers FL, Bianchi FJ and Thies C. Diversity of cereal aphid parasitoids in simple and complex landscapes. *Agric., Ecosyst. Environ.*, **126**:289-92 (2008).

153. Payton Miller TL and Rebek EJ, Banker Plants for Aphid Biological Control in Greenhouses. *J Integr Pest Manag*, **9**: 9 (2018).

154. Parolin P, Bresch C, Desneux N, Brun R, Bout A, Boll R and Poncet C, Secondary plants used in biological control: a review. *Int J Pest Manage*, **58**: 91-100 (2012).

155. Ramsden MW, Menéndez R, Leather SR and Wäckers F, Optimizing field margins for biocontrol services: the relative role of aphid abundance, annual floral resources, and overwinter habitat in enhancing aphid natural enemies. *Agr Ecosyst Environ*, **199**: 94-104 (2015).

156. Philips CR, Rogers MA and Kuhar TP, Understanding Farmscapes and Their Potential for Improving IPM Programs. *J Integr Pest Manag*, **5**: C1-C9 (2014).

157. Meena A, Meena M, Kumar R and Meena BM, Farmscaping: an ecological approach to insect pest management in agroecosystem. *J Entomol Zool Stud*, **5**: 598-603 (2017).

158. Lopes T, Hatt S, Xu Q, Chen J, Liu Y and Francis F, Wheat (*Triticum aestivum* L.)-based intercropping systems for biological pest control. *Pest Manag Sci*, **72**: 2193-2202 (2016).

159. Chandler J, Corbett A, Lamb C, Long R, Reberg-Horton C and Stimmann M, Beneficial insects move from flowering plants to nearby crops. *Calif Agric*, **52**: 23-26 (1998).

160. Bosem Baillod A, Tscharntke T, Clough Y and Batáry P, Landscape-scale interactions of spatial and temporal cropland heterogeneity drive biological control of cereal aphids. *J Appl Ecol*, **54**: 1804-1813 (2017).

161. Martin EA, Reineking B, Seo B and Steffan-Dewenter I, Pest control of aphids depends on landscape complexity and natural enemy interactions. *PeerJ*, **3**: e1095 (2015).

162. Chauhan P, Singla K, Rajbhar M, Singh A, Das N and Kumar K, A systematic review of conventional and advanced approaches for the control of plant viruses, *J Appl Biol Biotech* **7:** 89-98 (2019).

163. Tsaftaris A, Polidoros A, Karavangeli M, Nianiou-Obeidat I, Madesis P, Goudoula C. Transgenic crops: recent developments and prospects. In: Biological resource management connecting science and policy. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 187–203 (2000).

164. Fraley RT, Rogers SG, Horsch RB, Sanders PR, Flick JS, Adams SP, Bittner ML, Brand LA, Fink CL, Fry JS and Galluppi GR, Expression of bacterial genes in plant cells. *Proc Natl Acad Sci USA* **80**: 4803-4807 (1983).

165. Dunwell JM, Transgenic cereals: Current status and future prospects. *J Cereal Sci*. **59**:419-34 (2014).

166. Klein TM, Wolf ED, Wu R, Sanford JC High-velocity microprojectiles for delivering nucleic acids into living cells. *Nature* **327**: 70-73 (1987).

167. Koev G, Mohan BR, Dinesh-Kumar SP, Torbert KA, Somers DA and Miller WA, 1998. Extreme reduction of disease in oats transformed with the 5' half of the barley yellow dwarf virus-PAV genome. *Phytopathology*, **88:** 1013-1019 (1998).

168. Dupré P, Henry M, Posadas G, Pellegrineschi A, Trottet M and Jacquot E, Genetically engineered wheat for Barley yellow dwarf virus resistance, in Barley Yellow Dwarf Disease: Recent Advances and Future Strategies, ed. by Henry M and McNab, Mexico, D.F., CIMMYT A, pp.27-28 (2002).

169. Wang MB, Abbott DC and Waterhouse PM, A single copy of a virus-derived transgene encoding hairpin RNA gives immunity to barley yellow dwarf virus. *Mol Plant Pathol* **1**:347-356 (2000).

170. McGrath PF, Vincent JR, Lei CH, Pawlowski WP, Torbert KA, Gu W, Kaeppler HF, Wan Y, Lemaux PG, Rines HR and Somers DA, Coat protein-mediated resistance to isolates of barley yellow dwarf in oats and barley. *Eur J Plant Pathol* **103:** 695-710 (1997).

171. Jiménez-Martínez ES and Bosque-Pérez NA. Variation in barley yellow dwarf virus transmission efficiency by Rhopalosiphum padi (Homoptera: Aphididae) after acquisition from transgenic and nontransformed wheat genotypes. *J. Econ. Entomol*. **97**:1790-6 (2004).

172. Xie J, Wang X, Liu Y, Peng Y and Zhou G. Expression of the barley yellow dwarf virus-GAV movement protein and its detection in the infected and transgenic plants. *Acta virologica*. **51**:157-62 (2007).

173. San Miguel K and Scott JG, The next generation of insecticides: dsRNA is stable as a foliar-applied insecticide. *Pest manag sci*, **72:** 801-809 (2016).

174. Bernstein E, Denli AM and Hannon GJ, The rest is silence. *RNA*, **7**: 1509-1521 (2001).

175. Hammond SM, Bernstein E, Beach D and Hannon GJ, An RNA-directed nuclease mediates post-transcriptional gene silencing in Drosophila cells. *Nature*, **404**: 293 (2000).

176. Gil-Humanes J, Pistón F, Hernando A, Alvarez JB, Shewry PR and Barro F, Silencing of γ-gliadins by RNA interference (RNAi) in bread wheat. *J Cereal Sci* **48**: 565-568 (2008).

177. Afroz A, Hashmi M, Rashid U and Zeeshan, N, Identifying potential RNAi targets in aphid species ('*Macrosiphum rosae*, *Rhopalosiphum maidis*, *Sitobion avenae*, *Toxoptera aurantii*') in sub-tropical region with extreme summer. *Aust J Crop Sci*, **11:** 9 (2017).

178. Yu XD, Liu ZC, Huang SL, Chen ZQ, Sun YW, Duan PF, Ma YZ and Xia LQ, RNAi-mediated plant protection against aphids. *Pest Manag Sci*, **72**: 1090-1098 (2016).

179. Zhang M, Zhou Y, Wang H, Jones HD, Gao Q, Wang D, Ma Y and Xia L, Identifying potential RNAi targets in grain aphid (*Sitobion avenae* F.) based on transcriptome profiling of its alimentary canal after feeding on wheat plants. *BMC Genomics*, **14**: 560 (2013).

180. Wang D, Liu Q, Li X, Sun Y, Wang H and Xia, L, Double-stranded RNA in the biological control of grain aphid (*Sitobion avenae* F.). *Funct Integr Genomic*, **15**: 211-223 (2015).

181. Xu L, Duan X, Lv Y, Zhang X, Nie Z, Xie C, Ni Z and Liang R, Silencing of an aphid carboxylesterase gene by use of plant-mediated RNAi impairs *Sitobion avenae* tolerance of Phoxim insecticides. *Transgenic Res*, **23**: 389-396 (2014).

182. Isman MB, Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annu Rev Entomol*, **51**: 45-66 (2006).

183. Senthil-Nathan S, A review of biopesticides and their mode of action against insect pests, in: Environmental sustainability ed. by Thangavel P and Sridevi G, Springer, New Delhi, pp. 49-63 (2015).

184. Chrzanowski G, Leszczyński B, Czerniewicz P, Sytykiewicz H, Matok H, Krzyżanowski R and Sempruch C, Effect of phenolic acids from black currant, sour cherry and walnut on grain aphid (*Sitobion avenae* F.) development. *Crop Protect*, **35**: 71-77 (2012).

185. Shah FM, Razaq M, Ali A, Han P and Chen J, Comparative role of neem seed extract, moringa leaf extract and imidacloprid in the management of wheat aphids in relation to yield losses in Pakistan. *PloS One*, **12:** e0184639 (2017).

186. Rattan RS, Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. *Crop Prot* **29**: 913-920 (2010).

187. Chrzanowski, G. Impact of selected phenylpropanoid acids on the growth and development of grain aphid *Sitobion avenae* (F.). *Aphids and Other Hemipterous Insects*, **13**: 175-181(2007).

188. Chrzanowski G, Leszczyński B, Czerniewicz P, Sytykiewicz H, Matok H, Krzyżanowski R and Sempruch C, Effect of phenolic acids from black currant, sour cherry and walnut on grain aphid (*Sitobion avenae* F.) development. *Crop Prot.* **35**: 71-77 (2012).

189. Wójcicka A, Cereal phenolic compounds as biopesticides of cereal aphids. *Pol J Environ Stud* **19**: 1337-1343 (2010).

190. Wójcicka A, Changes in pigment content of triticale genotypes infested with grain aphid *Sitobion avenae* (Fabricius)(Homoptera: Aphididae). *Acta Biol Cracov Bot* **56**: 121-127 (2014).

191. Grul'ová D, Mudrončeková S, Zheljazkov VD, Šalamon I, Rondon SI, Effect of plant essential oils against *Rophalosiphum padi* on wheat and barley. *Nat Prod Comm* **12**: 1517-1520 (2017).

192. Kathage J, Castañera P, Alonso-Prados JL, Gómez-Barbero M and Rodríguez-Cerezo, E, The impact of restrictions on neonicotinoid and fipronil insecticides on pest management in maize, oilseed rape and sunflower in eight European Union regions. *Pest Manag Sci* **74:** 88-99 (2018).

Supplementary References

1. Larsson H, A crop loss model and economic thresholds for the grain aphid, *Sitobion avenae* (F.), in winter wheat in southern Sweden. *Crop Protect* **24** : 397–405 (2005).

2. Giller P S, Ryan B, Kennedy T and Connery J, Aphid–parasitoid interactions in a winter cereal crop: field trials involving insecticide application. *J. Appl. Entomol* **119**: 233–239 (1995).

3. George KS, Damage assessment aspects of cereal aphid attack in autumn- and spring-sown cereals. *Ann Appl Biol* **77 :** 67–74 (1974).

4. Ellis S, Berry P and Walters K (2009) A review of invertebrate pest thresholds. Research Review No. 73. AHDB Cereals & Oilseeds, 68pp.

5. Ramsden MW, Kendall SL, Ellis SA and Berry PM, A review of economic thresholds for invertebrate pests in UK arable crops. *Crop Prot* **96:** 30-43 (2017).

6. Oakley JN and Green DB, Using thresholds and risk assessment for pest management, Proceedings of HGCA conference UK 2006 Jan 25-26 (2006)

7. Oakley JN and Walters KFA, A field evaluation of different criteria for determining the need to treat winter wheat against the grain aphid S. avenae and the rosegrain aphid M. dirhodum. *Ann Appl Biol* **124**: 195–211 (1994).

8. Carter N, Powell W, Wright AF and Ashby JE, Effectiveness of different insecticides applied at various growth stages to control aphids on winter wheat. *Crop Prot* **8**: 271–276 (1989).

9. Basedow T, Poehling HM and Lauenstein G, Studies on the adaption of the control for non.viruliferous cereal aphids attacking winter wheat in summer to the new economic conditions of agriculture. *Z.Pflanzen kr. Pflanzenshutz* **101** : 337–349 (1994)..

10. Shaoyou L, Stoltz RL and Xinzhi, N, Damage to wheat by *Macrosiphum avenae* in Northwest China. *J. Econ.Entomol.***79** : 1688–1691 (1989).

11. Hansen LM, Kornbladlus (*Sitobion avenae*) i vinterhvede-et beslutningssto¨ ttesystem. *Markbrug* **280 :** 2–6 (2003) (in Danish).

12. Ba-Angood SA and Stewart RK, Economic thresholds and economic injury levels of cereal aphids on barley in Southwestern Quebec. *Can. Entomol* **112**: 759-764 (1980).

13. Stern VM, Control of aphids attacking barley and analysis of yield increases in the Imperial Valley California. *J. Econ. Entomol*. **60**: 485-490 (1967).

14. Vacher C, La jaunisse nanisante de l'orge : Barley yellow dwarf virus. *Perspectives Agricoles*, **147** : 73-77 (1990).

15. Nicholls CJ, Implications of the restriction on the neonicotinoids: imidacloprid, clothianidin and thiamethoxam on crop protection in oilseeds and cereals in the UK. HGCA; (2013).

16. Nicholls C, A review of AHDB impact assessments following the neonicotinoid seed treatment restrictions in winter oilseed rape. AHDB Research Review 84 (2016).

17. Hughes JM, Reay G, Monie C, Wardlaw J and Evans A. Survey of the impact of the neonicotinoid restrictions on Scottish oilseed rape crops and recommendations for alternative crop protection strategies. In The Dundee Conference: Crop Protection in Northern Britain ; 2016 Feb 23-24, Dundee, UK. The Association for Crop Protection in Northern Britain (2016).

18. Dewar AM, The adverse impact of the neonicotinoid seed treatment ban on crop protection in oilseed rape in the United Kingdom. *Pest Manage Sci*. **73**:1305-9 (2017).

19. Scott C, Bilsborrow P. A further investigation into the impact of the ban on neonicotinoid seed dressings on oilseed rape production in England, 2015-16. Newcastle University (2017). [Online]. Available: http://www.ncl.ac.uk/iafri/news/item/furtherinvestigationintotheimpactofthebanonneonicotinoidseeddressings.html

20. Scott C and Bilsborrow PE, The impact of the EU neonicotinoid seed-dressing ban on oilseed rape production in England. *Pest Manage Sci*. **75**:125-33 (2019).

21. Matyjaszczyk E, Sobczak J and Szulc M, Is the possibility of replacing seed dressings containing neonicotinoids with other means of protection viable in major Polish agricultural crops?. *J. Plant Prot. Res.* **55**:329-35 (2015).

22. Kathage J, Castañera P, Alonso-Prados JL, Gómez-Barbero M and Rodríguez-Cerezo E, The impact of restrictions on neonicotinoid and fipronil insecticides on pest management in maize, oilseed rape and sunflower in eight European Union regions. *Pest Manage Sci*. **74**:88-99 (2018).

Concernant le WDV, l'adaptation des pratiques agricoles (semis tardif et/ou le choix d'une variété avec un développement rapide, élimination des repousses) contribue à limiter l'incidence du WDV dans les cultures céréalière (Vacke, 1972; Lindblad & Waern, 2002). L'utilisation de variétés résistantes au WDV n'a été étudiée que très récemment et la plupart des variétés initialement utilisées possédaient des résistances quantitatives mineures (Habekuss *et al.*, 2009). Cependant, cet axe semble mettre en évidence des avancées prometteuses, une étude plus récente ayant mis en évidence deux variétés de blé (MvDalma et MvVekni) moins sensibles à l'infection et n'exprimant pas de symptôme de la PC (Benkovics *et al.*, 2010). Très récemment, des approches basées sur la technologie CRISPR/Cas9 et l'insertion de fragments de la réplicase et de la MP ont permis d'obtenir des variétés de blé et d'orge très résistantes au WDV (Kis *et al.*, 2019). L'emploi de ce type de matériel, bien que prometteur, est loin d'être garanti en Europe. Cette technologie est en effet considérée comme organisme génétiquement modifié (OGM) et son déploiement en culture plein champ est interdite à l'heure actuelle. Au-delà de l'adaptation des pratiques agricoles, une part importante de la lutte contre la PC repose sur l'élimination des vecteurs. En France, le seuil d'intervention est fixé à la capture de 30 *Psammotettix alienus* par semaine sur une plaque jaune.

La récolte des céréales fin juillet cause une rupture dans le cycle viral des B/CYDV et du WDV, retirant la population cible du paysage avant leur semis mi-octobre. La durée de vie des vecteurs est inférieure à la durée l'interculture, il s'agit donc uniquement d'une population relai. Une seule étude évoque un éventuel rôle de maintien chez le vecteur (Paliwal, 1982). Il n'y a pas de transmission verticale du virus que ce soit chez l'hôte ou chez le vecteur d'où la présence d'une population de maintenance dans le cycle épidémiologique. Les plantes cultivées persistant dans le paysage pendant la période d'interculture des céréales à paille (e.g. blé, orge, avoine) constituent des populations de maintenance à la fois pour le virus et les vecteurs.

5.3. Réservoirs cultivés

Les repousses et le maïs (uniquement dans le cas des B/CYDV) sont les deux réservoirs cultivés ayant un rôle majoritaire dans le cadre des cycles épidémiques des B/CYDV et du WDV centré sur les céréales à paille. Le rôle des repousses en tant que compartiment de maintenance a été mis en évidence par plusieurs études (Raatikainen & Vasarainen, 1973; Plumb, 1986; Ivanovic *et al.*, 1992; Lindblad & Waern, 2002). Les repousses servent également de réservoirs aux vecteurs en l'absence des céréales à paille. Leur élimination est une des manières de limiter la réalisation du cycle de la jaunisse nanisante de l'orge et des pieds chétifs (Plumb, 1986).

Le maïs n'est pas un bon hôte pour les B/CYDV : il est difficilement infecté (seuls quelques cultivars sont infectés en laboratoire et la prévalence au champ est faible, proche de 1-2%) (Stoner,

1977; Henry & Dedryver, 1989)). Il dispose d'une résistance de maturité précoce (stade 10-12 feuilles) (Haack *et al.*, 1999). Le taux de survie des pucerons généralistes sur le maïs est faible et leur temps de développement plus long (Henry & Dedryver, 1989). Les clones de puceron qui visitent le maïs ne sont pas les mêmes que ceux qui visitent l'orge (Blackman *et al.*, 1990). En revanche, ces clones sont aussi présents sur blé. De plus, l'espèce de B/CYDV la plus présente au champ dans le maïs (MYDV-RMV) n'était pas la plus présente dans les céréales (Paliwal, 1982). Le maïs n'est pas hôte du WDV. Malgré ces éléments, le maïs semble tout de même pouvoir jouer un rôle important dans les épidémies de jaunisse nanisante de l'orge. Une corrélation positive a été trouvée entre la quantité de maïs semée et la prévalence des B/CYDV dans les espèces sensibles les plus représentées dans le paysage (Fabre *et al.*, 2003; Ingwell *et al.*, 2017). Les populations de *Rhopalosiphum padi* ailés piégés en été – début automne sont corrélés avec le comptage des aptères sur le maïs, indiquant un possible rôle de réservoir de vecteurs du maïs. Une telle corrélation n'a pas pu être établie pour *Sitobion avenae* et *Metopolophium dirhodum* suggérant que ceux-ci proviennent d'un autre réservoir (Henry & Dedryver, 1989).

Il semble qu'un autre type de plantes puisse avoir un rôle important : les plantes du compartiment sauvage. Il pourrait s'agir d'un réservoir très important en raison i) de son importance en nombre de plantes dans le paysage, ii) de sa gestion limitée (en comparaison des parcelles) voire de son absence de gestion par l'homme, iii) de la présence de certaines espèces pendant plusieurs années (espèces pérennes) là où les cultures céréalières sont annuelles (Figure 12).

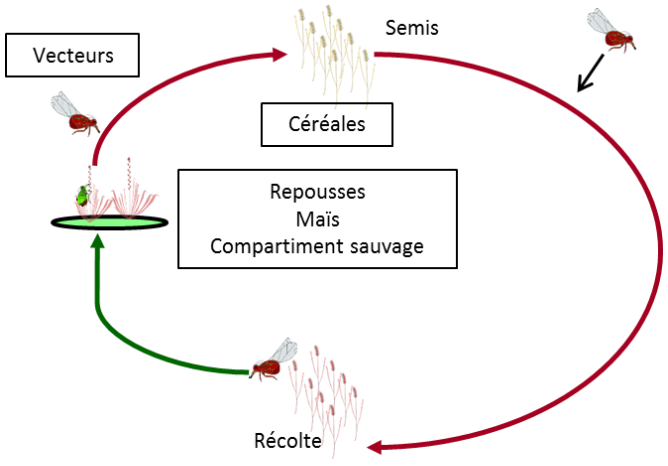


Figure 12*: Cycles épidémiques viraux dans le cas des céréales.*

5.4. Réservoirs sauvages

5.4.1. Méthodes d'étude des hôtes sauvages des virus de la JNO et de la PC

L'étude des gammes d'hôtes des B/CYDV et du WDV a débuté assez rapidement après leur identification (Oswald & Houston, 1953; Vacke, 1972). Certaines des espèces sauvages expriment des symptômes plus modérés que les plantes cultivées (voire n'expriment pas de symptômes) en réponse à l'infection par les B/CYDV ou le WDV (Panayotou, 1982; Griesbach *et al.*, 1990; Beuve & Lapierre, 1992). Il n'est pas possible de détecter une infection de ces hôtes en se basant uniquement sur des méthodes symptomatologiques, même en laboratoire. Pourtant, les premières études de la gamme d'hôtes des B/CYDV reposaient sur la caractérisation biologique des hôtes testés à l'aide de pucerons. La mise au point de la détection des virus par ELISA (Voller *et al.*, 1976) a profondément révolutionné les approches visant à identifier les gammes d'hôtes des B/CYDV et du WDV en palliant les inconvénients de la caractérisation biologique (notamment la lenteur et le manque de robustesse). En attendant l'avènement de la PCR, la quasi-totalité des études des gammes d'hôtes de ces virus sont réalisées à l'aide d'outils sérologiques. De rares études utilisent le TBIA (*tissue blot immunoassay*) qui est réalisable au champ mais qui est moins sensible (Makkouk & Comeau, 1994; Nancarrow *et al.*, 2018). L'ELISA ne permet pas toujours la différenciation de certaines espèces de B/CYDV ou des souches de WDV. La détection des virus par PCR constitue une approche récente de la question dans le cas des B/CYDV et du WDV (Mehner et al., 2003; Malmstrom & Shu, 2004; Malmstrom et al., 2005b; Ingwell et al., 2017). La PCR possède toujours un seuil de détection plus bas que celui de l'ELISA (Robertson, 2003) et permet théoriquement d'identifier les espèces de B/CYDV et les souches de WDV (Malmstrom & Shu, 2004; Gadiou et al., 2012). Le cout individuel de la réaction et le temps de manipulation sont plus élevés que ceux de l'ELISA, expliquant que l'ELISA reste très populaire encore aujourd'hui.

Les premières études réalisées pour identifier les gammes d'hôtes de ces virus ont été effectuées à l'aide d'inoculations en conditions contrôlées (e.g. Oswald & Houston, 1951; Bruehl & Toko, 1957; Rochow, 1959; Watson & Mulligan, 1960b). L'espèce à tester est semée puis inoculée par l'intermédiaire d'un vecteur. Cette méthode permet d'assurer la présence d'insectes virulifères et donne une indication sur le statut hôte de l'espèce testée. En revanche elle ne permet que difficilement le test d'un grand nombre d'isolats ou de vecteurs (il n'existe que quelques études où ces possibilités sont explorées pour les B/CYDV et le WDV (Gray *et al.*, 1991; Dedryver *et al.*, 2005). L'étude des gammes d'hôtes des B/CYDV et du WDV a également été réalisée par l'identification des espèces de *Poaceae* présentes dans le paysage avant la détermination de leur statut sanitaire. Ce type d'approche n'a été rendu possible que par l'amélioration des techniques de détection (ELISA / PCR) les premières publications basées sur des approche réalisées en plein champ datant des années

1980 (Fargette & Lister, 1982; Eweida & Rydén, 1984; Guy *et al.*, 1987). Cette approche permet d'avoir un aperçu des prévalences dans le paysage tout en tenant compte de multiples facteurs (structure du paysage, combinaison d'espèces hôtes présentes, diversité des isolats et des vecteurs présents). En revanche, certaines plantes n'auront pas été infestées par des vecteurs virulifères et seront saines non pas en raison de leur résistance à l'infection par le virus mais par absence de vecteurs.

5.4.2. Gammes d'hôtes sauvages des virus de la JNO et de la PC

Le nombre d'études sur les gammes d'hôtes sauvages de ces virus est très différent, avec plusieurs dizaines d'études sur les B/CYDV (Bruehl & Toko, 1957; Fargette & Lister, 1982; Sharma *et al.*, 1984; Eweida & Oxelfelt, 1985; Guy *et al.*, 1986, 1987; Guy, 1988; Griesbach *et al.*, 1990; Remold, 2002; Lamptey *et al.*, 2003; Svanella-Dumas *et al.*, 2013; Ingwell *et al.*, 2017; Ali *et al.*, 2018) pour le BYDV-PAV, (Oswald & Houston, 1953; Rochow, 1959, 1961; Watson & Mulligan, 1960a; Amici *et al.*, 1978; Panayotou, 1982; Guy *et al.*, 1987; Griesbach *et al.*, 1990) pour le CYDV-RPV) contre seulement 5 sur le WDV (Vacke, 1972; Vacke & Cibulka, 1999; Mehner *et al.*, 2003; Ripl & Kundu, 2015; Parizipour *et al.*, 2016). L'ensemble de ces études a permis d'identifier plus de 150 hôtes des B/CYDV. Ces hôtes appartiennent à 11 des 25 tribus des *Poaceae* (Soreng *et al.*, 2015, 2017). Seuls 21 hôtes sauvages du WDV ont été identifiés. Des contradictions concernant le statut des espèces sont survenues entre études en raison des différences i) de protocole (études dans le cadre d'inoculation en conditions contrôlées ou sur la base de diagnostics réalisés sur des échantillons de terrain), ii) biologique, sérologique ou moléculaires. Ces contradictions rendent l'interprétation du statut hôte complexe, seules 59 des espèces testées (sur plus de 200) n'ont été infectées dans aucune étude. Dans le cas du WDV, le faible nombre d'études réalisées sur la gamme du WDV n'a fait apparaître que peu de contradictions dans le statut hôte des espèces mais beaucoup d'espèces n'ont jamais été testées (seules 49 espèces ont été testées).

5.4.3. Facteurs influençant la sensibilité et le rôle des espèces sauvages aux virus de la JNO et de la PC

Le cycle de vie d'un hôte est un des paramètres qui peut influencer son rôle dans une épidémie. Les espèces de plante peuvent être classées en 3 catégories selon le type de cycles de vie qu'elles effectuent : annuelle, pérenne ou bisannuelle. Dans le cadre d'une approche épidémiologique, s'il n'y a pas de transmission des virus par la graine, les individus réalisant des cycles annuels ne peuvent servir de population de maintien qu'au maximum un an. Dans l'épidémiologie des virus liés aux plantes cultivées, ces espèces n'auront un rôle significatif que lorsqu'elles sont présentes à une période de temps compatible avec le cycle de culture des hôtes cultivés. Les plantes annuelles sont souvent des hôtes de qualité pour le virus et les vecteurs,

facilitant la dispersion du virus dans le paysage (Malmstrom *et al.*, 2005b). Les espèces pérennes peuvent survivre de nombreuses années en l'absence de dommages physiques (Treshow & Harper, 1974). En l'absence de surmortalité dans ces communautés, le nombre de plantes infectées augmente graduellement avec l'âge des plantes (Latch, 1977). La virulence des virus dans ces espèces peut être moindre, des phénomènes de co-évolution ayant eu lieu (Malmstrom *et al.*, 2005a; Hull, 2014). Dans un cadre épidémiologique, ces espèces sont très importantes car une fois infectées, elles peuvent servir de source pendant plusieurs années, lorsque la physiologie de l'hôte est peu altérée par le virus (Seabloom *et al.*, 2009b; Borer *et al.*, 2010; Roossinck, 2010). Les espèces bisannuelles ont un rôle intermédiaire aux plantes réalisant des cycles de vie annuels et pérennes : elles ont une durée de vie courte (ce qui les rapproche des annuelles) mais qui est réalisé en deux ans (permettant d'avoir un rôle de réservoir lors de deux cycles de culture successifs).

La stratégie photosynthétique de l'hôte est un autre facteur qui pourrait influencer la sensibilité des espèces aux infections. Il existe deux types de stratégies photosynthétiques majeures dans le règne végétal : la stratégie en C3 et la stratégie en C4. La stratégie en C3 est la stratégie la plus courante dans le règne végétal (plus de 85% des végétaux supérieurs utilisent cette stratégie (Yamori *et al.*, 2014). Cette stratégie est celle employée par tous les arbres pour réaliser la photosynthèse mais elle est sous représentée chez les *Poaceae* avec seulement 50% des espèces qui utilisent la stratégie C3 (Rapp, 2019). La stratégie en C4 est peu répandue dans le règne végétal avec seulement 2% des espèces qui utilisent cette stratégie. Celle-ci est assez représentée chez les *Poaceae* avec environ 5 000 espèces en C4 (notamment chez les genres *Digitaria, Echinochloa, Setaria* et *Zea*) et chez les genres d'origine tropicale (genres *Saccharum* et *Zea* par exemple) (Ehleringer *et al.*, 1997). L'influence de la stratégie photosynthétique sur la résistance aux virus ou aux vecteurs n'a pas été précisément étudiée mais il existe des indices indiquant que les plantes en C4 seraient plus résistantes aux infections (Wexler *et al.*, 2005; Hill, 2008).

5.5. Présentation du sujet

A l'échelle de la France, le blé et l'orge, tous deux hôtes sensibles à la JNO et à la PC représentent 70% de la valeur de la production céréalière. De nombreuses études ont eu lieu depuis les premières descriptions de ces maladies qui ont eu lieu dans les années 1950-1960. Ces études ont permis de mettre en évidence de nombreux éléments liés à la biologie de ces pathosystèmes (agents viraux responsables des maladies, vecteurs impliqués, mode de transmission, une partie des gammes d'hôtes). Ces éléments ont permis de comprendre le déroulement du cycle de la JNO et de la PC dans les cultures. La majorité des études réalisées se sont cependant concentrées sur le compartiment cultivé et peu d'éléments permettent d'expliquer les facteurs favorisant ou limitant la réalisation du cycle de la JNO et de la PC sont disponibles. Ces éléments seraient pourtant très utiles dans le

contexte actuel, dans lequel un des principaux moyens de lutte contre ces maladies (les traitements de semence néonicotinoïdes) vient d'être interdit. Une meilleure connaissance des éléments favorisant le déroulement des cycles de ces maladies pourrait permettre un meilleur déploiement des moyens de lutte restants, afin d'optimiser leur efficacité.

L'éventuelle infection des plantes du compartiment sauvage par les B/CYDV et le WDV pourrait expliquer le démarrage des épidémies de JNO et de PC sur plusieurs années. Si quelques études ont été réalisées pour déterminer la gamme d'hôtes des différents virus, plusieurs espèces n'ont toujours pas été testées pour leur statut hôte par rapport à ces virus. Ces études ont également mis en évidence plusieurs résultats contrastés concernant le statut et la sensibilité des espèces testées. Par ailleurs les facteurs qui favorisent la dispersion de ces virus dans le compartiment sauvage restent mal identifiés. Ma thèse, réalisée en partenariat INRA – Bayer Crop Science avait donc comme objectif de compléter les informations disponibles sur l'importance du compartiment sauvage dans le cycle de la JNO et de la PC.

- Le premier chapitre de cette thèse abordera l'identification des hôtes sauvages des B/CYDV et du WDV ainsi que des facteurs influençant leur infection, qu'ils soient liés à l'hôte (sensibilité aux virus, tribu botanique, cycle de vie, stratégie photosynthétique) ou au paysage (écologie, géographie).

Une fois le cycle de la JNO et de la PC initié dans le compartiment cultivé (avec l'infection d'une partie des hôtes semés), il peut se poursuivre tout au long de la culture avec l'infection des hôtes environnants (infections secondaires). De nombreuses études ont analysées la dynamique de propagation de B/CYDV et du WDV mais très peu d'éléments sont disponibles concernant les interactions entre ces virus qui peuvent pourtant atteindre des prévalences très importantes dans les parcelles. Le deuxième objectif de ma thèse a pour objectif d'analyser l'influence d'une interaction entre ces virus.

- Le deuxième chapitre de ma thèse consiste en l'étude des interactions entre le BYDV-PAV et le WDV-Bar dans l'orge qui est un de leurs hôtes communs. L'étude intègre plusieurs facteurs qui peuvent influencer le taux d'infection des virus, parmi lesquels, l'âge de l'hôte, l'interaction entre leurs vecteurs ou encore l'ordre d'inoculation.

Chapitre 1



Chapitre 1 : Caractérisation des réservoirs sauvages des B/CYDV et du WDV

1. Introduction

L'interdiction de l'emploi des néonicotinoïdes suite à la loi pour la reconquête de la biodiversité limite considérablement les solutions de lutte contre la JNO et la PC. La lutte contre ces virus étant basée en grande partie sur des méthodes de contrôle des populations relai, cette interdiction risque de profondément changer les méthodes de lutte contre ces maladies. Cette interdiction limite en effet considérablement le nombre de moyens de lutte et une meilleur connaissance du cycle épidémique de ces maladies est nécessaire pour i) positionner correctement (i.e. limiter les traitements inutiles) les moyens de lutte restants, ii) développer de nouveaux moyens de lutte.

Si la dynamique de propagation des B/CYDV et du WDV dans les cultures a plutôt bien été étudiée (Irwin & Thresh, 1990; Lindblad & Sigvald, 2004), le rôle du compartiment sauvage dans ces épidémies reste mal documenté. Plusieurs études sont parvenues à identifier des espèces de graminées hôtes de ces virus (D'Arcy & Burnett, 1995; Mehner *et al.*, 2003), indiquant un possible rôle de population de maintien. Des actions humaines directement dirigées sur le compartiment sauvage semblent peu envisageables (e.g. arrachage sélectif d'une espèce hôte, élimination des plantes infectées (souvent peu symptomatiques (Malmstrom & Alexander, 2016))) pour des raisons techniques (notamment liées à la difficulté d'identifier les plantes), économiques (couts liés à l'arrachage et à l'identification) et pratiques (temps nécessaire à l'arrachage sélectif). En revanche, l'identification du rôle du compartiment sauvage dans les épidémies de JNO et de PC ainsi que des facteurs permettant la propagation de leurs agents viraux pourraient permettre un meilleur déploiement des méthodes de lutte actuelle, en limitant leur utilisation aux situations à risques.

Avant de pouvoir réaliser de telles prédictions il est important de disposer de plusieurs éléments : la composition du compartiment sauvage (espèce, diversités des espèces, cycle de vie de ces dernières), la prévalence des virus ainsi que de leur gamme d'hôtes sauvages. A l'échelle de la France, la majorité de ces informations sont vieillissantes (une seule étude sur les B/CYDV dans le paysage au cours des 12 dernières années (Gilabert *et al.*, 2017)) voire inexistantes pour le WDV et ne permettent pas de développer d'approches prédictives. Une réactualisation des informations est donc nécessaire.

La recherche des espèces infectées dans le paysage et la mesure de leur sensibilité en réalisant des infections en conditions contrôlées est la première étape pour comprendre le rôle du

compartiment sauvage dans les épidémies de JNO et de PC. L'identification de facteurs géographiques (localisation des infections dans le paysage) ou biologiques (tribu d'appartenance de la plante, cycle de vie ou encore stratégie photosynthétique) permettant de prédire les taux d'infections des espèces testées sont autant d'éléments à prendre en compte pour comprendre les processus de dispersion des virus de la JNO et de la PC dans le paysage. La sensibilité des différentes espèces aux virus, testée en laboratoire, confirmera ou infirmera les observations réalisées sur le terrain. L'étude de l'infuence des facteurs biologiques (nombre d'espèces, sensibilité des espèces, tribu, cycle de vie), écologique (diversité des zones prélevées, habitat d'origine) et géorgaphiques (localisation des zones) sur la prévalence des B/CYDV et du WDV dans le paysage fera prochainement l'objet d'un article : Gauthier K ., Dallot S., Souquet M., de Keyzer A., Jacquot E. and Thébaud G, **Barley/Cereal yellow dwarf viruses and *Wheat dwarf virus* infections in wild *Poaceae* hosts,** actuellement en cours de rédaction.

Title: Barley/Cereal yellow dwarf viruses and *Wheat dwarf virus* infections in wild *Poaceae* hosts

Authors: Kevin Gauthier[1,2], Sylvie Dallot[1], Marlène Souquet[1], Annie de Keyzer[2], Emmanuel Jacquot[1] and Gaël Thébaud[1]

[1] BGPI, INRA, Montpellier SupAgro, Univ. Montpellier, Cirad, Campus International de Baillarguet, 34398, Montpellier Cedex 5, France

[2] Bayer S.A.S./Bayer CropScience, Lyon, France

Keywords: B/CYDV, WDV, host range, field-laboratory study, environmental factors

Abstract:
Barley/Cereal yellow dwarf viruses (B/CYDV) and *Wheat dwarf virus* (WDV) are major cereal viruses, causing on average 40% yield losses. Wild plant species were evaluated for their capacity to host B/CYDV and WDV during a field sampling and controlled condition inoculations. Around 4500 plants were sampled in Annoix (France) and around 1700 were lab inoculated per virus. Sanitary statuses were characterized by ELISA. BYDV-PAV/MAV and CYDV-RPV prevalence were 1.9 and 1.2%, respectively. WDV was absent from the landscape. Controlled inoculations spotted *Alopecurus myosuroides* and *Poa annua* as very susceptible to both BYDV-PAV and WDV and *Eragrostis minor* as very susceptible to BYDV-PAV in controlled condition inoculations. Annual plants were much more susceptible to viruses than perennial ones. Surprisingly, none of the result allowed a correlation between field prevalence and susceptibility in controlled conditions. No correlation has been found between survival rates of the vectors and success of inoculation, even the species allowing a very limited survival rates could be largely infected. Altogether, these results suggest than alternative reservoirs could exist in the landscape of Annoix.

Introduction:

Barley/Cereal yellow dwarf virus (B/CYDV, family *Luteoviridae*, genus *Luteovirus* and Polerovirus) (Krueger et al., 2013) and *Wheat dwarf virus* (WDV, family *Geminiviridae*, genus *Mastrevirus*) (Vacke, 1961)) are two of the major cereal threats causing on average 40% yield losses. Local severe epidemics could lead to up to 90% yield losses (Irwin & Thresh, 1990; Banks *et al.*, 1995; Lindsten & Lindsten, 1999; Perry *et al.*, 2000; Lindblad & Waern, 2002; Lindblad & Sigvald, 2004). B/CYDV and WDV infection cause host stunting, leaf discoloration (yellowing or reddening) and root growth reduction leading to yield reduction (Rochow, 1961; Vacke, 1972). Because of their high economic worldwide impact, B/CYDV and WDV were very intensively studied in order to understand the mechanism driving their propagation (e.g. (Rochow, 1959; Vacke, 1972; D'Arcy & Burnett, 1995; Kvarnheden *et al.*, 2002; Lindblad & Sigvald, 2004; Abt & Jacquot, 2015).

The three main viral B/CYDV species identified in France are BYDV-PAV, BYDV-MAV and CYDV-RPV (Leclercq-Le Quillec et al., 2000). WDV isolates are clustered into two strains : WDV and WDV-Bar (Lindsten & Vacke, 1991) which were originally isolated in wheat (Vacke, 1961) and barley (Lindsten & Vacke, 1991), respectively. B/CYDV and WDV are exclusively transmitted in a persistent non propagative manner (Miller & Rasochová, 1997; Lindblad & Areno, 2002; Brault *et al.*, 2010) by arthropods vectors. B/CYDV are transmitted by at least 25 species of aphids (D'Arcy & Burnett, 1995) including *Rhopalosiphum padi, Sitobion avenae* and *Schizaphis graminum* and WDV by the

leafhopper *Psammotettix alienus*, respectively (Manurung et al., 2005; Abt et al., 2017). At all times the main control methods of BYD and WD were mostly focused on the role of the vectors. Avoiding the period were vectors are most active (Lowe, 1967) or the intensive use of insecticides to kill them (Eastop, 1983; D'Arcy & Burnett, 1995) are two of the most efficient (Royer *et al.*, 2005) and popular control methods in France and in Europe. However the neo-nicotinoid ban greatly affected the control strategy (60% of the barley certified seeds used in France in the early 2000s were treated with a molecule belonging to the neonicotinoid family) [McNamara et al. 2019]. This decision will encourage predictive approaches to limit the use of the few molecules still available to the critical situations to limit the emergence of resistance within the vectors population.

Predictive approaches require a good understanding of pathogen's dispersal and maintenance processes within the landscape. One of the key parameter of both processes is the knowledge of the pathogen's host range (e.g. (Haydon et al., 2002; Holt et al., 2003). Hosts can be divided in three categories: target hosts (mostly the one of economic interest, which is observed), maintenance hosts (where the pathogen can subsist in the absence of others hosts) and bridge hosts (making the link between the two categories and being unable to maintain the pathogen alone) (Caron et al., 2015). Most works were focused on the target host, underestimating the importance of the maintenance hosts (Alexander *et al.*, 2013). Maintenance hosts are especially important in the case of cereal diseases. In most of the temperate areas, cereals are sawn in the middle of fall and harvested in summer, breaking the host availability with a time gap of 3 months which is longer than host life expectancy (Foster et al., 1988; Guglielmino & Virla, 1997) corresponding to the definition of bridge hosts (Caron et al., 2015). During this time gap, cereal viruses are present in some of the maintenance populations. The investigation to identify these hosts had several candidates arisen: volunteers, bridging crops (like corn) and wild plants. Volunteers can be efficient maintenance hosts (D'Arcy & Burnett, 1995; Jarošová et al., 2013) but their destruction is relatively easy and has been preconized (D'Arcy & Burnett, 1995). Estimating the role of bridging crops is trickier and it seems that corn could play an essential role in viral maintenance especially when it is highly prevalent in the landscape (Henry & Dedryver, 1989; Fabre et al., 2005). However, the infection is only possible between the 2 and 10-leaves stage (in the case of B/CYDV) (Haack et al., 1999) and corn is not that suitable to cereal aphids infestation (Henry & Dedryver, 1989). In addition the aphids visiting corn seem to be different from the ones visiting barley, making unlikely the role of maintenance host of corn for B/CYDV (Blackman et al., 1990). In these conditions, wild hosts stepped as natural candidates.

In practical cases, host species co-exists in mixed agricultural landscapes with non-host species. The resolution of B/CYDV and WDV wild host ranges started soon after their identification (Oswald & Houston, 1953; Vacke, 1972). B/CYDV and WDV infect only *Poaceae* species. The first studies performed relied on biological characterization which was very difficult and inaccurate as many species could be asymptomatic (or even have positive changes) in response to B/CYDV and WDV infections (Oswald & Houston, 1953; Bruehl & Toko, 1957; Toko & Bruehl, 1959; Watson & Mulligan, 1960; Vacke, 1972; Malmstrom & Alexander, 2016). The development of the ELISA and PCR diagnostic led to the multiplication of the studies aiming the resolution of B/CYDV host ranges (e.g. ((Fargette & Lister, 1982; Panayotou, 1982; Sharma *et al.*, 1984; Eweida & Oxelfelt, 1985; Guy *et al.*, 1986, 1987; Guy, 1988; Griesbach *et al.*, 1990; Remold, 2002; Lamptey *et al.*, 2003; Svanella-Dumas *et al.*, 2013; Ingwell *et al.*, 2017; Ali *et al.*, 2018) but studies dealing with WDV remained very uncommon (Vacke & Cibulka, 1999; Mehner *et al.*, 2003; Ripl & Kundu, 2015; Parizipour *et al.*, 2016). This increasing number of studies led unfailingly to contradictions that arise from several factors like i) differences in the protocol (field or greenhouse studies), ii) the presence of specific isolates, iii) the insufficient number of plants tested. In addition data are still missing concerning some plant species.

Furthermore, few studies consider the importance of environmental factors that could influence infection rates. The number of species present (Keesing et al., 2006), the presence of a highly

susceptible species (Power & Mitchell, 2004) or the structure of the landscape (Plantegenest et al., 2007) are all factors to be considered. As an illustration, several studies showed that field edges, which are in interaction with the wild compartment, were more infected by viruses than the middle of the field (e.g. (Jones, 2005; Plantegenest *et al.*, 2007).

Using a dual field laboratory approach we studied both B/CYDV and WDV host ranges and the importance of environmental factor on the repartition of the infections. Our study started with a field prospection to identify wild *Poaceae* present in the site of our study and to determine viral prevalence. We investigated the influence of several parameters, both linked to the host (botanical tribe (Soreng *et al.*, 2015), life cycle, photosynthetic strategy) and the landscape (zone of origin, nature of the zone) on viral prevalence. We supplemented this data with controlled conditions inoculations of these viruses.

Material and methods:

Poaceae in non-cultivated areas:

Twelve non-cultivated (wild) areas, corresponding to 4 grasslands (Fig. S1, G1 to G4), 4 woodlands (Fig. S1, W1 to W4) and 4 inhabited (Fig. S1, I1 to I4) areas, located in a 5-km² site in Annoix (Cher, France) were surveyed in April 2017. *Poaceae* species present in these areas were identified and up to 80 plants/species/area were sampled and stored at -20°C until use (Tab. S1).

Plants, insects and viruses:

Seeds of wild *Poaceae* species, barley cv. Etincel and wheat cv. Sunstar (Tab. S2) were individually sown in plastic tubes (10 * 2 cm, height * diameter) filled with a 70% N2 compost (Klasmann-Deilmann GmbH, Geeste, Germany) and 30% vermiculite (Hortiplus, Boisseron, France) mixture and covered with a micro-perforated plastic bag. Plants were grown in greenhouse at 26°C/23°C day/night and a maximum of 80% RH. Between 6 am and 7 pm, light intensity was adjusted to 2,800 W/m² when natural light intensity was lower. The aphid *Rhopalosiphum padi* clone IA (collected in Yonne (France) in 2012) and the leafhopper *Psammotettix alienus* (collected in Loire-et-Cher (France) in 2011) were used as virus vectors in the experiments. Viral isolates (BYDV-PAV4 (sampled from oat cv. Peniarth in 1991)), WDV-IA (sampled from wheat in 2012) and WDV-BarIA (sampled from barley in 2012)) were separately maintained on plants (barley cv. Etincel for BYDV-PAV4 and WDV-BarIA, and wheat cv. Sunstar for WDV-IA) in the presence of vectors (*R. padi* IA for BYDV-PAV4 and *P. alienus* for WDV-IA and WDV-BarIA) in insect-proof rearing cages. Viruliferous and virus-free insects were reared in a growth chamber at 16h/8h day/night, 24°C/21°C and 40% RH.

Inoculation of plants:

Virus inoculations were carried out using 2-leaf stage plantlets from the different *Poaceae* species. Viruliferous vectors (2 vectors per plant) were used to inoculate sets of 10 (leafhopper-mediated inoculations) to 20 (aphid-mediated inoculations) plantlets/plant species for a three days inoculation access period (IAP). Aphids were placed and maintained (using a variation of clip-cage confinement system made with a microtube and a piece of cotton) at the tip of one leaf of the plant during the IAP whereas leafhoppers were introduced in the micro-perforated plastic bag used to maintain the confinement of plants. At the end of IAP, alive and dead insects were monitored for each inoculated plant, and plants were sprayed with insecticides (Pirimor G (Adama, Suresnes, France) and Decis Protech (Bayer Crop Science, Monheim am Rhein, Germany). Then, plants were transferred in an insect-proof greenhouse for 45 days before being sampled and stored at -20°C until the characterization of their sanitary status. Inoculation procedures were repeated four times. For each species (wild species, barley cv. Etincel and wheat cv. Suntar) non-inoculated plants were used as healthy controls.

Enzyme linked immunosorbent assays (ELISA):

Samples from wild areas were ground in the presence of 1:6 w/v (with a minimum/maximum volume of 1.2ml/10ml, Tab. S3) of grinding buffer (PBS (137 mM NaCl, 8 mM Na_2HPO_4, $12H_2O$, 2.7 mM KCl, 1.5 mM KH_2PO_4, pH=7.4), 0.05% (v/v) Tween 20, 2% (w/v) PVP-40T) using grindings bags (Agdia Biofords, Evry, France) and a column drill press (Kinzo, Roubaix, France). Plants from insect-mediated inoculation procedures were ground in the presence of i) 300 µl of grinding buffer in microtubes containing 1 mm glass balls and 5.6 mm inox balls using a mixer mill MM301 (Retsch, Düsseldorf, Germany) at 22 oscillations/s for 240s (procedure applied to leaf tips (n=3) of *Brachypodium pinnatum* and *Festuca rubra* samples) or ii) 250 µL of grinding buffer using a Pollähne press (MEKU, Wennigsen, Germany) for all the other *Poaceae* species. A polyclonal antiserum raised against BYDV-PAV/BYDV-MAV (IgG PAV52, H. Lapierre, INRA, France), a monoclonal antibody raised against CYDV-RPV (BIOREBA, Reinach, Switzerland) and a monoclonal antibody raised against WDV (DSMZ, Braunschweig, Germany) were used to test the presence of these viruses in the samples using an ELISA procedure (Clark & Adams, 1977). Each serological reagent was diluted in carbonate buffer (15 mM Na_2CO_3, 35 mM $NaHCO_3$, pH=9.6) according to the recommendations of the providers. Wells of microtitration plates (NUNC, Maxisorp) were coated 3h at 37°C (for BYDV-PAV/BYDV-MAV and WDV antisera) or 4h at 30°C (for CYDV-RPV antiserum) with 100µl of appropriate diluted antiserum. Plates were washed three times with PBS buffer supplemented with 0.05% (v/v) Tween 20 between each step of the ELISA protocol with an extra washing step performed with water after the overnight incubation. For each sample, 100 µl of crude sap were then incubated in the coated wells overnight at 4°C. According to the expected specificity of the detection assay, 100 µl of appropriate antiserum conjugated to alkaline phosphatase, diluted according to manufacturer's recommendations in grinding buffer supplemented with 0.2% (w/v) ovalbumin, were added in wells. After 4h incubation at 37°C (for BYDV-PAV/BYDV-MAV and WDV detection assays) or 5h at 30°C (for CYDV-RPV detection assay), plate wells were washed and filled with 100 µl of p-nitrophenyl-phosphate (1 mg/ml) diluted in substrate buffer (1N, diethanolamine, pH=9.8). After incubation at room temperature in the dark for 2 hours, the absorbance at 405 nm was recorded for each well using a microplate reader (Thermo Scientific, Illkrich, France). A positive detection was considered when OD_{405} value of tested sample is twofold greater than the OD_{405} value of the healthy control with a minimal threshold OD_{405} value of 0.15.

Statistical analyses

Statistical analyses were performed using R version 3.6.0 (R Development Core Team, 2019). The packages phyloseq and vegan were used to perform the study (McMurdie & Holmes, 2013; Oksanen *et al.*, 2019). Quasi-binomial glm with pairwise comparisons were performed to analyze the data.

Results

Poaceae species in surveyed zones:

Survey carried out in April 2017 in the 12 non-cultivated zones located in Annoix (Fig. S1) allows to identify 24 wild Poaceae species (Tab. S1). Analysis of the species diversity between and within zones showed that i) zones contain from 7 (W3) to 15 (I3) Poaceae species with an average diversity of 9.6 species/zone, ii) alpha diversity of surveyed zones, based on Simpson index, is higher in woodlands than in grasslands and inhabited, and iii) beta diversity of W4, based on Whittaker's index, is different from all the other zones (p=0.024). Due to the heterogeneous presence of Poaceae species in the different zones and according to the sampling procedure, from 1 (Gaudinia fragilis, sampled in I3) to 659 (Schedonorus arundinaceus, sampled in W1, W2, W3, I1, I3, I4, G1, G2, G3 and G4) plant/species were collected (Tab. S1). Dactylis glomerata is the only species observed in the 12 zones and samples from the species Anisantha sterilis, Bromus hordeaceus, Dactylis glomerata, Lolium perenne, Poa pratensis, Poa trivialis and Schedonorus arundinaceus constitute 70.5% of the sampled material. An AFC analysis was run using the number of plants sampled for each species/zone combination (Fig. 1). All the most commonly identified species were relatively well represented in all

the studied habitats, with the exception of Bromus hordeaceus much more represented in grasslands. Rare species were more exclusive to one type of habitat.

Virus detection in wild Poaceae *species*:
To characterize the presence of B/CYDV and WDV in the wild plants sampled in Annoix, species-specific antibodies raised against BYDV-PAV/MAV, CYDV-RPV and WDV were used. Raw data associated to 163 healthy control plants tested with these serological tools showed that the threshold detection used in the study (i.e. OD405nm value above 0.15) leads to the production of 1.2% (2/163) and 0.6% (1/163) BYDV-PAV/MAV and WDV false positive detections, respectively. This has been considered for the analyses of the diagnostic results associated to the 4562 plants collected in Annoix. With a rate of 0.2% (11/4562) WDV-positive samples below the rate of false positive detection associated to WDV-specific antiserum, it was considered that WDV was absent from sampled material. BYDV-PAV/MAV was detected in 3.3% (153/4562) tested samples from 10 wild Poaceae species. However, based on the high false positive detection produced with the used antiserum, Elymus caninus (9.2%, 15/163) and Poa pratensis (12.5%, 73/583) can be considered infected by BYDV-PAV/MAV (Fig. 2). Finally, 60 samples (1.3%) belonging to Anisantha sterilis (1.8%, 10/546), Bromus hordeaceus (1.3%, 3/239), Dactylis glomerata (1.2%, 6/485), Festuca rubra (0.9%, 1/103) and Lolium perenne (7.2%, 35/486) were infected by CYDV-RPV (Fig. 2). CYDV-RPV infection rates were not statistically different among hosts (Tab. S4).

Effect of the environmental factors on the repartition of the prevalence:
Half of the zones contained at least one sample infected by BYDV-PAV/MAV (W2, W4, I4, G1, G2, G4) when 4 zones (G2, G4, I1 and W2) remained CYDV-RPV free. The W2, G2 and G4 zones did not contain any B/CYDV infected samples. In the infected zones, BYDV-PAV/MAV and CYDV-RPV prevalence were comprised between 0.27% (1/369, I4) and 10.69% (34/314, G4) for BYDV-PAV/MAV, between 0.21% (1/482, G3) and 3.65% (19/521, W4) for CYDV-RPV. BYDV-PAV/MAV and CYDV-RPV were present in 4.49 % - 0.62% of the samples in grasslands (72 and 10/1601), 1.01 – 2.16% in woodlands (15/1480 - 32/1480) and 0.06 – 0.83% in inhabited areas (1/1481 - 13/1561). Both zones and habitat of sampling had a significant influence on BYDV-PAV/MAV prevalence in the sampled plants but no pairwise comparisons were statistically significant (p: Tab S4). CYDV-RPV distribution in the landscape was homogenous among zones and habitats (0.190 and 0.427, respectively) (Fig 3 and Tab S4). After the Holm correction, beyond all the alpha indices used (richness, Pielou's evenness (Pielou, 1966), inverse Simpson diversity and Berger Parker dominancy (Berger & Parker, 1970)) (Legendre & Cáceres, 2013), only the zone richness influenced significantly BYDV-PAV/MAV prevalence in the landscape. CYDV-RPV was influenced by both Pielou's evenness and inverse Simpson diversity (p: Tab. S4). BYDV-PAV/MAV and CYDV-RPV seemed to be more prevalent in sites with lower plant species diversity and higher species dominance. In addition, Whittaker (Whittaker, 1972) beta diversity index' indicates that sites with unique species composition were more susceptible to BYDV-PAV/MAV infections (p=0.007). There was no effect of the Whittaker index' on CYDV-RPV prevalence (p=0.554).

Controlled conditions susceptibility and vector survival rate:
Inoculations under controlled conditions:
Seeds from 16 wild Poaceae species present in surveyed zones were available to perform insect-mediated inoculations (Tab. S2). The library of available seeds allows to include in this experiment 8 Poaceae species that were reported from a previous survey carried out in Annoix (Gauthier et al., 2017). The aphid-mediated (BYDV-PAV4) and leafhopper-mediated (WDV-IA and WDV-BarIA) inoculation procedures applied to susceptible control hosts (i.e. barley cv. Etincel and wheat cv. Sunstar) lead to infection rates in the range 75.2%-88.3%. Raw data from the characterization of the sanitary status of inoculated plants showed that 11 wild Poaceae species were infected by BYDV-PAV4 (Fig. 4A), 8 by WDV-IA and 3 by WDV-BarIA. However, as 1 out of the 561 healthy control plants

introduced in the diagnostic procedure was described to be infected by WDV, a false positive rate of 0.18% has been used to analyze raw data from WDV detection assay. Thus, only 5 and 2 wild Poaceae species were considered infected by WDV-IA and WDV-BarIA, respectively (Fig. 4B).
Infection rates of the 11 BYDV-PAV4-infected wild Poaceae species were in the range 1.25%-75%. Under our experimental procedure, Alopecurus myosuroides (75%) and Eragrostis minor (75%) Poa annua (52.7%) were as susceptible as the referent barley cv. Etincel (p=1 for both A. myosuroides and E. minor). The other 9 species were infected by BYDV-PAV4 at a rate lower than the susceptible reference. For the 5 wild Poaceae species infected by WDV, infection rates were in the range 5% (B. hordeaceus/WDV-IA) - 62.5% (A. myosuroides/WDV-IA) and significantly lower than infection rate obtained for the susceptible referent barley and wheat cultivars. At the WDV strain level, inoculation of WDV-IA isolate leads to a higher mean infection rate (7.12% for WDV-IA vs 2.08% for WDV-BarIA, p=2.89E-6). The higher virulence of the WDV-IA isolate was also observed in A. myosuroides (p=0.044) and P. annua (p=0.027), hosts shared by WDV-IA and WDV-BarIA (Fig. 4B).

Vector survival rate
508 out of 551 aphids survived at the inoculation procedure on barley (92.1%), 369 and 352 leafhoppers out of 420 (87.9%) and 380 (92.6%) survived on barley and wheat, respectively. Aphid's and leafhopper's survival rates on wild hosts were comprised between 0.63% (Echinochloa crus-galli) and 96.6% (Bromus hordeaceus) for the aphids, between 51.6% (Setaria viridis) and 81.3% (Schedonorus arundinaceus) for the leafhoppers. The average survival rate was 67.08%±33.5 for the aphids and 70.7±11.4 for the leafhoppers. There was no difference in aphid's survival rates on barley and on Bromus hordeaceus, Poa annua, Schedonorus arundinaceus, Alopecurus myosuroides, Lolium perenne, Eragrostis minor, Dactylis glomerata, Festuca rubra and Alopecurus pratensis (Fig S3 and Table S6). Leafhoppers survived better on wheat than on any wild plants (p = 0.024 for Schedonorus arundinaceus) but their survival rate was the same on barley and on Schedonorus arundinaceus, Lolium perenne, Dactylis glomerata and Alopecurus pratensis (Tab S6). There was no correlation between aphid's and leafhopper's survival rate and no correlation between vector survival and success of infection (p=0.40 for BYDV-PAV and p=0.19 for WDV). All the effects were used to classify the species in a dendrogramm (Fig 5). 4 groups appear, the most left one is constituted from species very susceptible to both BYDV-PAV and WDV with high vectors survival rates. Eragrostis minor is only very susceptible to BYDV-PAV. The big group in the middle is constituted from species which can be infected by BYDV-PAV with high aphid mortality. The last group is composed from species which were not or very few infected by the viruses but with high vectors survival rates.

Biological factors explaining the difference in the number of infected plants
As species is a nested effect in tribes, photosynthetic strategy and life cycle, nested test were performed, concerning only the susceptible species. We did not investigate the influence of these effects on BYDV-PAV/MAV prevalence in FS and on WDV-Bar infection rates in CCI as only two species were infected by these viruses. No effect of the species, the tribe and the life cycle was found to explain the repartition of CYDV-RPV (p=Table S4) in the landscape. However, in controlled conditions, both tribe and life cycles had an influence on BYDV-PAV susceptibility (p=Table S7). If no pairwise comparison were statistically significant concerning the botanical tribe effect, the annual plants (131/437, 30.0%) were much more infected than perennial plants (6/313, 1.92%) (p=Table S7). Species is probably a division which is too small to see any repeatable biological effect concerning BYDV-PAV infections. The biological effects driving WDV infections are more complex as species has a nested effect in tribe, in life cycle and in photosynthetic strategies, all the main effects being statistically significant too (p=Table S7). No tribe pairwise comparisons were statistically significant (Fig 6a, b).

Biological factors explaining the difference in vector's survival rates

Aphid's and leafhopper's survival rates were not influenced by the tribe and the life cycle of their host plant. Aphid's survival rates were lower on C4 plants than on C3 plants (p=Table S8). No effect of the host plant's photosynthetic strategy was found on leafhopper's survival rates (p=Table S8).

Discussion

We have shown that BYDV-PAV/MAV was highly prevalent in two species of the landscape (*Elymus caninus* and *Poa* pratensis) where CYDV-RPV infections were more distributed among species. BYDV-PAV/MAV could have infected other species but its prevalence in these species is too low to be confirmed after the application of the detection threshold. Although BYDV-PAV/MAV has infected very few species in the landscape of Annoix, it remains more prevalent than CYDV-RPV and WDV in FS. As the application of the detection threshold on BYDV-PAV/MAV does not allow the detection of the poorly infected species, BYDV-PAV/MAV could be even more prevalent in the landscape. This observation confirms previous data concerning B/CYDV most prevalent species in France (Leclercq-Le Quillec *et al.*, 2000).

Our study enlightens 3 new BYDV-PAV hosts (*Alopecurus myosuroides, Eragrostis minor, Setaria verticillata)* and 3 new WDV hosts (*Alopecurus myosuroides, Poa trivialis* and *Setaria viridis)* which represent an increase of 2% and 15% of wild host ranges of these viruses (D'Arcy & Burnett, 1995; Mehner *et al.*, 2003).

Several species were infected by BYDV-PAV in CCI and were not infected during FS. In addition, *Poa pratensis* was not infected by BYDV-PAV in CCI although largely infected in FS. Several factors could explain this decorrelation. First the most susceptible species were very rare or absent from the sampling in April. Then, in CCI we have used BYDV-PAV but the species we detected during FS in *Poa pratensis* could be BYDV-MAV as the detection antibodies were polyclonal. The presence of a very specific isolate in FS, infecting wild grasses is another possibility to explain this result. In addition, our clone of *Rhopalosiphum padi* has only a limited survival rate on *Poa pratensis* (22.5%). In the field, *Poa pratensis* infections could occur with *Sitobion avenae* as vector or with a different clone of *Rhopalosiphum padi*. CCI

This is the first study performed to investigate WDV prevalence outside cereal fields. The other WDV wild hosts studies in natural conditions sampled weeds from the cultivated compartment (Mehner *et al.*, 2003; Parizipour *et al.*, 2016). We did not find any WDV infection in the landscape after the analysis of the 4562 samples collected in Annoix. This result was first surprising but we did not catch any *Psammotettix alienus* vector this year with yellow traps in the fields located nearby the sampling area (Bayer Crop Science, unpublished data). If the absence of the leafhopper vectors in the fields does provide direct information on vector population in wild compartment it still indicates a year with low *Psammotettix alienus* populations compared to the others. Contrary to B/CYDV (Latch, 1977), no information is available concerning the role of perennial plants in WDV epidemiologic cycle. This role seems in our case, most likely limited as we manage to infect only 1 species (*Poa trivialis)* with WDV in CCI (only with the WDV strain) and it was not infected in FS although relatively prevalent (280 samples). The poor performance of WDV in CCI (few species infected, some with low sensibility) and its absence of the landscape in FS in the absence of its vector suggest that wild grasses could play a very limited role in WDV epidemiology, especially for the WDV-Bar strain.

Factors driving plant susceptibility to viruses were not the same in FS and in CCI. For example, the susceptibility of annual plants is very high in CCI but none of the annual species was infected by BYDV-PAV/MAV during field sampling. This type of species was relatively few represented in FS (only 4 species were annual, and 2 of them where found less than 50 times) which probably contributes to the absence of infection in annual species. In addition, we performed our FS in April, shortly after annual species' germination. This time could have been too short to allow viruliferous vector's infestation of such species and another sampling performed in autumn could give higher prevalence (Ingwell *et al.*, 2017). The very low B/CYDV prevalence in the landscape is surprising, as it contains

many perennial species (especially *Dactylis glomerata, Festuca rubra* and *Poa trivialis* which were infected by BYDV-PAV during CCI), which were largely infected in other studies (Latch, 1977). As the virus is regularly present in the cultures this suggest that other maintenance populations are available (Caron *et al.*, 2015).CCI spotted *Alopecurus myosuroides, Eragrostis minor* (only for BYDV-PAV) and *Poa annua* as very susceptible hosts to BYDV-PAV and WDV infections. Only *36 Alopecurus and Poa annua* were found in the landscape of Annoix, which probably explains why no infection of both species was identified in the landscape. Even though these species were not infected by BYDV-PAV/MAV and WDV in our FS, a specific weeding could help lowering the viruses local prevalence ((Jones, 2013; Ingwell *et al.*, 2017). *Alopecurus myosuroides* seems to be of outstanding interest, being largely known for its multi-resistance to herbicides, which could increase its role as highly susceptible reservoir (Heap, 1997).

In the landscape, monospecific habitats seems to be more easily infected than the others which rather confirms specific isolates or vector than generalist hypothesis (Power, 2000; Power & Flecker, 2003). As our sampling protocol is giving more importance to rare species (by sampling a maximum of 80 plants/species/zone), this observation is probably even more true in the landscape, where the most prevalent species are much more numerous than 80 plants. The factors driving BYDV-PAV/MAV and CYDV-RPV distribution in the landscape are not the same. BYDV-PAV/MAV distribution is probably very impacted by the localization of their two host species, even though *Poa pratensis* is very represented in inhabited zones without being largely infected. Other factors, such as a possible specific vector (*Sitobion avenae* in the case of BYDV-MAV*),* could explain the difference of repartition between these two species (D'Arcy & Burnett, 1995; Mordecai *et al.*, 2015).

Aphids seem to have clear host preference as their survival rates was very limited on specific hosts (especially the ones belonging to the *Paniceae* tribe). However there was no difference in their survival rates on barley and on i) the most susceptible plants species to the viruses in CCI ii) the majority of the most prevalent species in FS, clearly suggesting a role of these species as vector reservoir. Leafhoppers do not have such preference but their survival rate was never as high as on wheat which could indicate a small preference for this host species. However their survival rate was always relatively high, indicating that the wild compartment could serve as vector (Lindblad & Areno, 2002; Cooper & Jones, 2006). Surprisingly, we did not find any correlation between vector's survival rate and infections. Moreover, some species were inoculated with high infection rates ((*Setaria viridis* (22.8%), *Setaria verticillata* (16.5%)) although the survival rates of the aphids were very low (2.5 and 8.75%, respectively). These species could probably serve as reservoir for the viruses but it seems unlikely that these species are used as vector reservoir in the landscape.

Further investigations are needed to confirm the role of wild *Poaceae* in the epidemiology of B/CYDV. The low prevalence obtained during such extensive samples (in species and number of plants) for all the viruses suggest that other compartments could play a bigger role in the maintaining of the viruses during interculture. Wild compartment could still serve as vector reservoir during the epidemiological process, as suggested by other studies (Lindblad & Areno, 2002; Tofangsazi *et al.*, 2010).

Acknowledgments

This work was funded by Bayer Crop Science. We thank V.Plat and P. Serin for their technical assistance with this research project, I. Abt, P. Leduc and S. Marchat and all the technical teams for their contribution to the field sampling.

Bibliography:

Abt I, Derlink M, Mabon R, Virant-Doberlet M, Jacquot E, 2017. Integrating multiple criteria for the characterization of Psammotettix populations in European cereal fields. *Bulletin of Entomological Research*, 1–18.

Abt I, Jacquot E, 2015. Wheat Dwarf. In: Tennant P,, Fermin G, eds. *Virus Diseases of Tropical and Subtropical Crops*. 27–41.

Alexander HM, Mauck KE, Whitfield AE, Garrett KA, Malmstrom CM, 2013. Plant-virus interactions and the agro-ecological interface. *European Journal of Plant Pathology* **138**, 529–547.

Ali M, Anwar S, Shuja MN, Tripathi RK, Singh J, 2018. The genus Luteovirus from infection to disease. *European Journal of Plant Pathology* **151**, 841–860.

Banks P, Davidson J, Bariana H, Larkin P, 1995. Effects of Barley yellow dwarf virus on the yield of winter-wheat. *Australian Journal of Agricultural Research* **46**, 935–946.

Berger WH, Parker FL, 1970. Diversity of planktonic foraminifera in deep-sea sediments. *Science (New York, N.Y.)* **168**, 1345–1347.

Blackman R, Halbert S, Carroll T, 1990. Association between karyotype and host plant in corn leaf aphid (Homoptera, Aphididae) in the northwestern United-States. *Environmental Entomology* **19**, 609–611.

Brault V, Uzest M, Monsion B, Jacquot E, Blanc S, 2010. Aphids as transport devices for plant viruses. *Comptes Rendus Biologies* **333**, 524–538.

Bruehl G, Toko HV, 1957. Host range of two strains of the cereal yellow dwarf virus. *Plant Dis. Rep* **41**, 730–734.

Caron A, Cappelle J, Cumming GS, de Garine-Wichatitsky M, Gaidet N, 2015. Bridge hosts, a missing link for disease ecology in multi-host systems. *Veterinary Research* **46**.

Cooper I, Jones RAC, 2006. Wild plants and viruses: under-investigated ecosystems. In: *Advances in Virus Research*. Plant Virus Epidemiology. Academic Press, 1–47.

D'Arcy CJ, Burnett PA, 1995. *Barley yellow dwarf: 40 years of progress*. APS Press.

Eastop VF, 1983. The biology of the principal aphid virus vectors. *Plant virus epidemiology*, 115–132.

Eweida M, Oxelfelt P, 1985. Purification and properties of two Swedish isolates of Barley yellow dwarf virus and their serological relationships with American isolates. *Annals of Applied Biology* **106**, 475–482.

Fabre F, Plantegenest M, Mieuzet L, Dedryver CA, Leterrier JL, Jacquot E, 2005. Effects of climate and land use on the occurrence of viruliferous aphids and the epidemiology of barley yellow dwarf disease. *Agriculture Ecosystems & Environment* **106**, 49–55.

Fargette D, Lister RM, 1982. Grasses as a reservoir of Barley yellow dwarf virus in Indiana. *Plant Disease* **66**, 1041–1045.

Foster JE, Stamenkovic SS, Araya JE, 1988. Life cycle and reproduction of Rhopalosiphum padi (l.) (homoptera: aphididae) on wheat in the laboratory. *Journal of Entomological Science* **23**, 216–222.

Gauthier K, Abt I, Deshoux M *et al.*, 2017. *Epidemiology of barley yellow dwarf and wheatdwarf diseases*.

Griesbach JA, Steffenson BJ, Brown MP, Falk BW, Webster RK, 1990. Infection of grasses by Barley yellow dwarf viruses in California. *Crop Science* **30**, 1173–1177.

Guglielmino A, Virla E, 1997. Postembryonic development and biology of Psammotettix alienus (Dahlbom) (Homoptera Cicadellidae) under laboratory conditions. *Bollettino di Zoologia Agraria e di Bachicoltura* **29**, 65–80.

Guy PL, 1988. Pasture ecology of Barley yellow dwarf viruses at Sandford, Tasmania. *Plant Pathology* **37**, 546–550.

Guy PL, Johnstone GR, Duffus JE, 1986. Occurrence and identity of Barley yellow dwarf viruses in Tasmanian pasture grasses. *Australian Journal of Agricultural Research* **37**, 43–53.

Guy P, Johnstone G, Morris D, 1987. Barley yellow dwarf viruses in, and aphids on, grasses (including cereals) in Tasmania. *Australian Journal of Agricultural Research* **38**, 139–152.

Haack L, Courbon R, Riault G *et al.*, 1999. A plant and field study of BYDV-PAV and -MAV distribution on maize in France. *Zeitschrift Fur Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection* **106**, 297–303.

Haydon DT, Cleaveland S, Taylor LH, Laurenson MK, 2002. Identifying reservoirs of infection: a conceptual and practical challenge. *Emerging Infectious Diseases* **8**, 1468–1473.

Heap IM, 1997. The occurrence of herbicide-resistant weeds worldwide. *Pesticide Science* **51**, 235–243.

Henry M, Dedryver CA, 1989. Fluctuations in cereal aphid populations on maize (Zea mays) in western France in relation to the epidemiology of Barley yellow dwarf virus (BYDV). *Journal of Applied Entomology* **107**, 401–410.

Holt RD, Dobson AP, Begon M, Bowers RG, Schauber EM, 2003. Parasite establishment in host communities. *Ecology Letters* **6**, 837–842.

Ingwell LL, Lacroix C, Rhoades PR, Karasev AV, Bosque-Pérez NA, 2017. Agroecological and environmental factors influence Barley yellow dwarf viruses in grasslands in the US Pacific Northwest. *Virus Research* **241**, 185–195.

Irwin ME, Thresh JM, 1990. Epidemiology of barley yellow dwarf: a study in ecological complexity. *Annual Review of Phytopathology* **28**, 393–424.

Jarošová J, Chrpová J, Šíp V, Kundu JK, 2013. A comparative study of the Barley yellow dwarf virus species PAV and PAS: distribution, accumulation and host resistance. *Plant Pathology* **62**, 436–443.

Jones R a. C, 2005. Patterns of spread of two non-persistently aphid-borne viruses in lupin stands under four different infection scenarios. *Annals of Applied Biology* **146**, 337–350.

Jones RAC, 2013. Virus diseases of pasture grasses in Australia: incidences, losses, epidemiology, and management. *Crop & Pasture Science* **64**, 216–233.

Keesing F, Holt RD, Ostfeld RS, 2006. Effects of species diversity on disease risk. *Ecology Letters* **9**, 485–498.

Krueger EN, Beckett RJ, Gray SM, Miller WA, 2013. The complete nucleotide sequence of the genome of Barley yellow dwarf virus-RMV reveals it to be a new Polerovirus distantly related to other yellow dwarf viruses. *Frontiers in Microbiology* **4**.

Kvarnheden A, Lindblad M, Lindsten K, Valkonen JPT, 2002. Genetic diversity of Wheat dwarf virus. *Archives of Virology* **147**, 205–216.

Lamptey JNL, Plumb RT, Shaw MW, 2003. Interactions between the grasses Phalaris arundinacea, Miscanthus sinensis and Echinochloa crus-galli, and Barley and Cereal yellow dwarf viruses. *Journal of Phytopathology* **151**, 463–468.

Latch GCM, 1977. Incidence of Barley yellow dwarf virus in ryegrass pastures in New Zealand. *New Zealand Journal of Agricultural Research* **20**, 87–89.

Leclercq-Le Quillec F, Plantegenest M, Riault G, Dedryver CA, 2000. Analyzing and modeling temporal disease progress of Barley yellow dwarf virus serotypes in barley fields. *Phytopathology* **90**, 860–866.

Legendre P, Cáceres MD, 2013. Beta diversity as the variance of community data: dissimilarity coefficients and partitioning. *Ecology Letters* **16**, 951–963.

Lindblad M, Areno P, 2002. Temporal and spatial population dynamics of Psammotettix alienus, a vector of Wheat dwarf virus. *International Journal of Pest Management* **48**, 233–238.

Lindblad M, Sigvald R, 2004. Temporal spread of Wheat dwarf virus and mature plant resistance in winter wheat. *Crop Protection* **23**, 229–234.

Lindblad M, Waern P, 2002. Correlation of wheat dwarf incidence to winter wheat cultivation practices. *Agriculture Ecosystems & Environment* **92**, 115–122.

Lindsten K, Lindsten B, 1999. Wheat dwarf - an old disease with new outbreaks in Sweden. *Zeitschrift Fur Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection* **106**, 325–332.

Lindsten K, Vacke J, 1991. A possible barley adapted strain of Wheat dwarf virus (WDV). *Acta Phytopathologica Et Entomologica Hungarica* **26**, 175–180.

Lowe AD, 1967. Avoid yellow dwarf virus by late sowing. *New Zealand Wheat Review* **10**, 59–63.

Malmstrom CM, Alexander HM, 2016. Effects of crop viruses on wild plants. *Current Opinion in Virology* **19**, 30–36.

Manurung B, Witsack W, Mehner S, Gruntzig M, Fuchs E, 2005. Studies on biology and population dynamics of the leafhopper Psammotettix alienus Dahlb. (Homoptera : Auchenorrhyncha) as vector of Wheat dwarf virus (WDV) in Saxony-Anhalt, Germany. *Zeitschrift Fur Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection* **112**, 497–507.

McMurdie PJ, Holmes S, 2013. phyloseq: an r package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PLOS ONE* **8**, e61217.

Mehner S, Manurung B, Gruntzig M, Habekuss A, Witsack W, Fuchs E, 2003. Investigations into the ecology of the Wheat dwarf virus (WDV) in Saxony-Anhalt, Germany. *Zeitschrift Fur Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection* **110**, 313–323.

Miller WA, Rasochová L, 1997. Barley yellow dwarf viruses. *Annual Review of Phytopathology* **35**, 167–190.

Mordecai EA, Gross K, Mitchell CE, 2015. Within-host niche differences and fitness trade-offs promote coexistence of plant viruses. *The American Naturalist* **187**, E13–E26.

Oksanen J, Blanchet FG, Friendly M *et al.*, 2019. *Community Ecology Package*.

Oswald JW, Houston BE, 1953. The yellow-dwarf virus disease of cereal crops. *Phytopathology* **43**, 128–136.

Panayotou PC, 1982. Some aspects on barley yellow dwarf virus host range / Einlge Aspekte zum Wirtspflanzenkreis des Gelbverzwergungs-Virus der Gerste. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz / Journal of Plant Diseases and Protection* **89**, 595–603.

Parizipour MHG, Behjatnia S a. A, Afsharifar A, Izadpanah K, 2016. Natural hosts and efficiency of leafhopper vector in transmission of Wheat Dwarf Virus. *Journal of Plant Pathology* **98**, 483–492.

Perry KL, Kolb FL, Sammons B, Lawson C, Cisar G, Ohm H, 2000. Yield effects of Barley yellow dwarf virus in soft red winter wheat. *Phytopathology* **90**, 1043–1048.

Pielou EC, 1966. Species-diversity and pattern-diversity in the study of ecological succession. *Journal of Theoretical Biology* **10**, 370–383.

Plantegenest M, Le May C, Fabre F, 2007. Landscape epidemiology of plant diseases. *Journal of the Royal Society Interface* **4**, 963–972.

Power AG, 2000. Insect transmission of plant viruses: a constraint on virus variability. *Current Opinion in Plant Biology* **3**, 336–340.

Power AG, Flecker AS, 2003. Virus Specificity in Disease Systems: Are Species Redundant? In: Kareiva P,, Levin S, eds. *The importance of species. Perspectives on expendability and triage.* 330–351.

Power AG, Mitchell CE, 2004. Pathogen spillover in disease epidemics. *The American Naturalist* **164**, S79–S89.

R Development Core Team, 2019. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.

Remold SK, 2002. Unapparent virus infection and host fitness in three weedy grass species. *Journal of Ecology* **90**, 967–977.

Ripl J, Kundu JK, 2015. Cynosurus Cristatus, a new host of Wheat dwarf virus in the Czech Republic. *Journal of Plant Pathology* **97**, 547–547.

Rochow WF, 1959. Transmission of strains of Barley yellow dwarf virus by 2 aphid species. *Phytopathology* **49**, 744–748.

Rochow WF, 1961. The Barley Yellow Dwarf Virus Disease of Small Grains. In: Norman AG, ed. *Advances in Agronomy*. Academic Press, 217–248.

Royer TA, Giles KL, Nyamanzi T *et al.*, 2005. Economic evaluation of the effects of planting date and application rate of imidacloprid for management of cereal aphids and Barley yellow dwarf in winter wheat. *Journal of Economic Entomology* **98**, 95–102.

Sharma HC, Gill BS, Uyemoto JK, 1984. High Levels of Resistance in Agropyron Species to Barley Yellow Dwarf and Wheat Streak Mosaic Viruses. *Journal of Phytopathology* **110**, 143–147.

Soreng RJ, Peterson PM, Romaschenko K *et al.*, 2015. A worldwide phylogenetic classification of the Poaceae (Gramineae). *Journal of Systematics and Evolution* **53**, 117–137.

Svanella-Dumas L, Candresse T, Hulle M, Marais A, 2013. Distribution of Barley yellow dwarf virus-PAV in the Sub-Antarctic Kerguelen islands and characterization of two new Luteovirus species. *Plos One* **8**, e67231.

Tofangsazi N, Kheradmand K, Shahrokhi S, Talebi AA, 2010. Temperature-dependent life history of Schizaphis graminum on barley. *Bulletin of Insectology* **63**, 79–84.

Toko HV, Bruehl GW, 1959. Some host and vector relationships of strains of the Barley yellow-dwarf virus. *Phytopathology* **49**, 343–347.

Vacke J, 1961. Wheat dwarf virus disease. *Biologia Plantarum* **3**, 228–233.

Vacke J, 1972. Host plants range and symptoms of Wheat dwarf virus. *Věd Pr Výz Ústavú Rostl Výroby Praha-Ruzyně* **17**, 151–162.

Vacke J, Cibulka R, 1999. Silky bent grass (Apera spica-venti [L.] Beauv.) - a new host and reservoir of wheat dwarf virus. *Plant Protection Science* **35**, 47–50.

Watson MA, Mulligan T, 1960. The manner of transmission of some Barley yellow dwarf viruses by different aphid species. *Annals of Applied Biology* **48**, 711–720.

Whittaker RH, 1972. Evolution and Measurement of Species Diversity. *Taxon* **21**, 213–251.

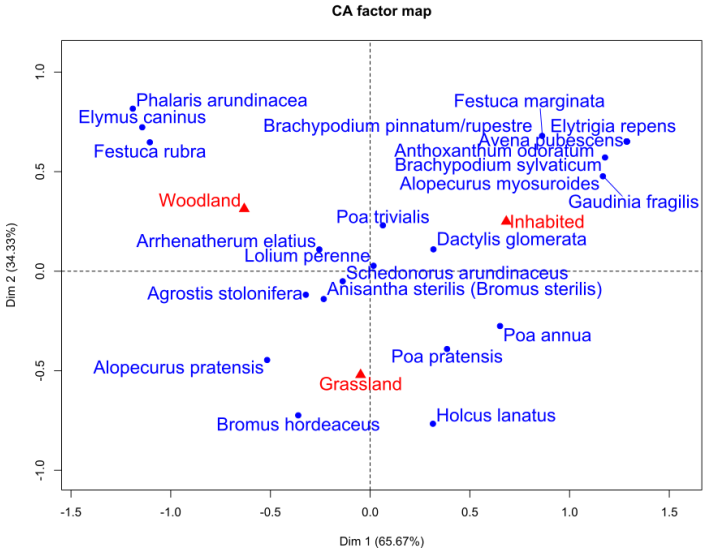


Figure 1. Correspondance analysis of different habitats (red triangles) and species (blue dots) using abundance raw data from the sampling carried out in Annoix. The two axes explain 100% of ordination of plant species within habitat types (65.67% for the first axis and 34.33% for the second axis).

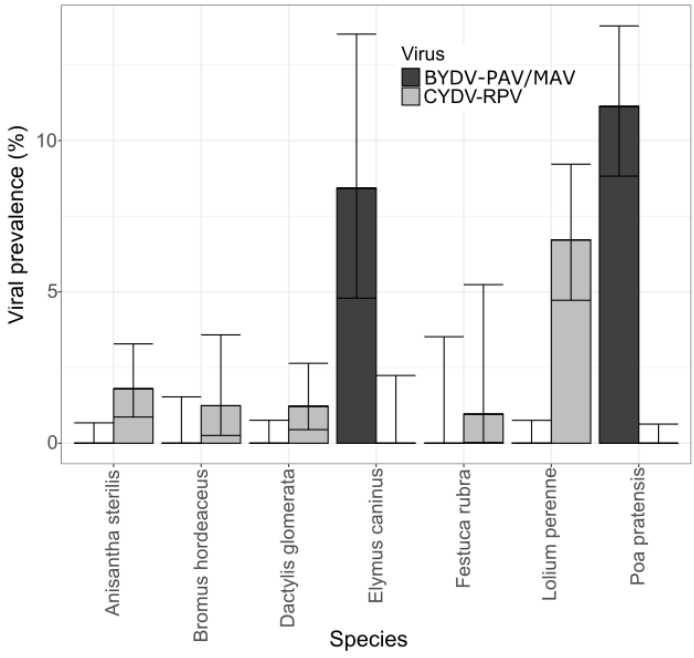


Figure 2: Prevalence of BYDV-PAV/MAV and CYDV- RPV in wild *Poaceae* species sampled in Annoix in April 2017. Only the species infected by one of the virus are presented. According to the specificity of the PAV-52 antibody, BYDV-PAV/MAV refers to the detection of BYDV-PAV and/or BYDV-MAV. Black bars denote 95% confidence interval.

Table 1 : 3 Prevalence of BYDV-PAV/MAV and CYDV- RPV in the sampled zones

Virus	Sampled zones											
	Grassland				Inhabited				Woodland			
	G1	G2	G3	G4	I1	I2	I3	I4	W1	W2	W3	W4
BYDV-PAV/MAV	2/469 (0.4%)	36/403 (8.9%)	0/411 (0.0%)	34/318 (10.7%)	0/291 (0.0%)	0/339 (0.0%)	0/482 (0.0%)	1/369 (0.3%)	0/476 (0.0%)	1/318 (0.3%)	0/165 (0.0%)	14/521 (2.7%)
CYDV-RPV	9/469 (1.9%)	0/403 (0.0%)	1/411 (0.2%)	0/318 (0.0%)	0/291 (0.0%)	10/339 (2.9%)	1/482	2/369	11/476	0/318	2/165	19/521

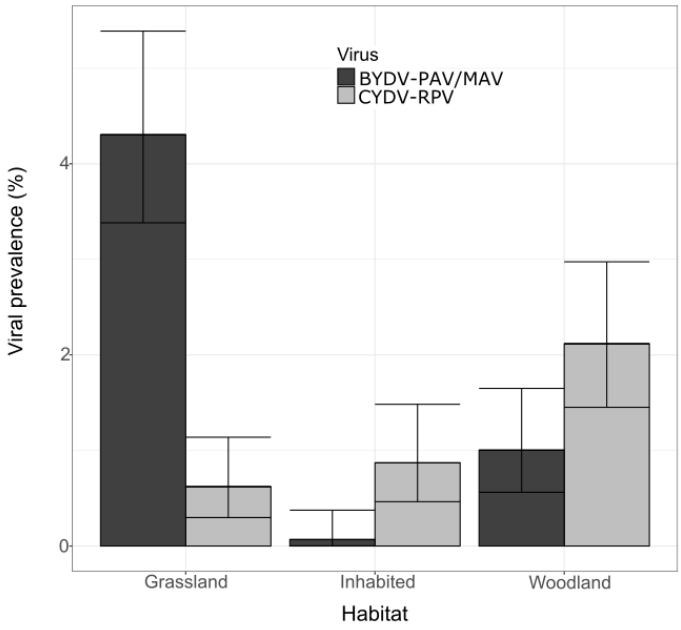


Fig. 3 Prevalence of BYDV-PAV/MAV and CYDV- RPV in the sampled habitat. Each habitat is constituted of 4 different sampling zones. According to the specificity of the PAV-52 antibody, BYDV-PAV/MAV refers to the detection of BYDV-PAV and/or BYDV-MAV. The zones uninfected by CYDV-RPV are counted in the total as they contained CYDV-RPV host species. Black bars denote 95% confidence interval.

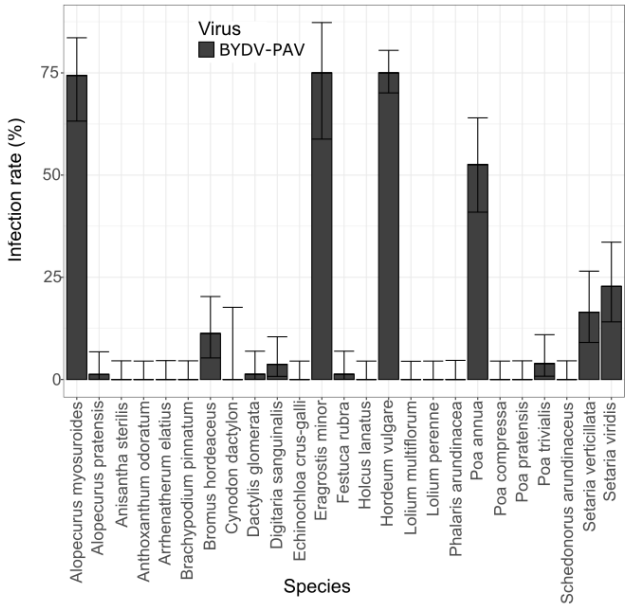


Fig. 4a: Infection rates of wild *Poaceae* species under controlled condition inoculations. 4 sets of 20 plants were inoculated with the exception of *Cynodon dactylon* (1 set) and *Eragrostis minor* (2 sets). Black bars denote 95% confidence interval. The black line denotes the WDV-positive threshold. *Hordeum vulgare* is the positive control inoculated during the procedure.

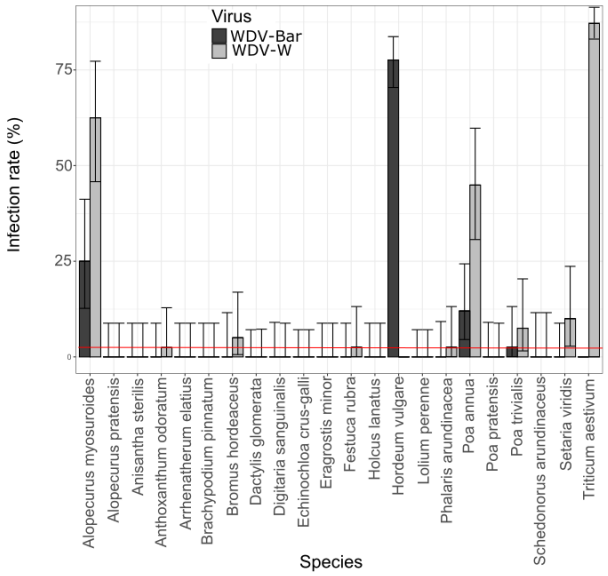


Fig. 4b: Infection rates of wild *Poaceae* species under controlled condition inoculations. 4 sets of 10 plants were inoculated with the exception of *Dactylis glomerata, Echinochloa crus-galli, Lolium perenne* and *Poa annua* (5 sets). WDV-W represents WDV wheat strain and WDV-Bar the barley strain. Black bars denote 95% confidence interval. The red line denotes the WDV-positive threshold. *Hordeum vulgare* and *Triticum aestivum* were inoculated as positive control for the WDV-Bar sand WDV-W strain, respectively.

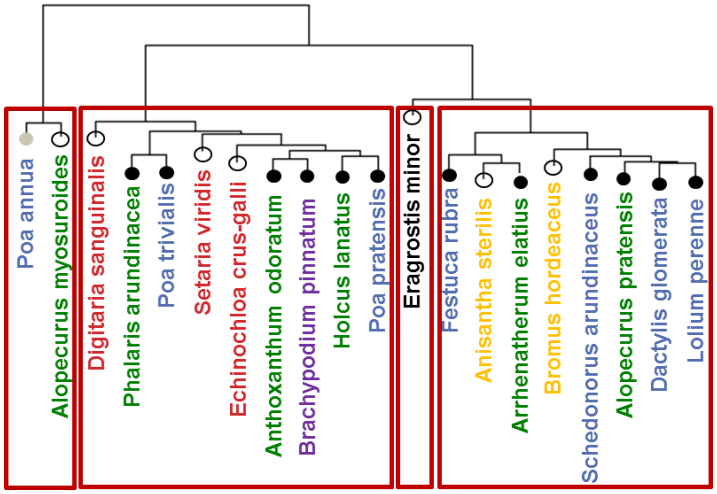


Fig. 5: Cluster dendrogramm classifying the species according to their susceptibility to BYDV-PAV, WDV, WDV-Bar and to the survival rates of the tested vector species. Groups are delimited by red squares. The different tribes are represented by colors and the different life cycles are represented by circles.

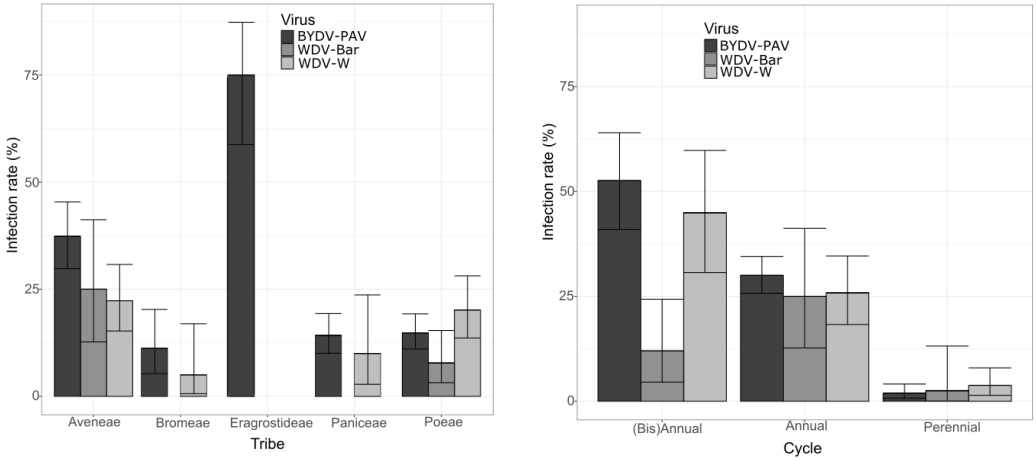


Fig 6A and 6B: Influence of the botanical tribe and life cycle on BYDV-PAV, WDV-W and WDV-Bar susceptibility during CCI. Only the host species of the tested virus were counted to estimate the influence of tribe an life cycles. Blank correspond to the situation where no species of the tribe were susceptible to the virus. Black bars denote 95% confidence interval.

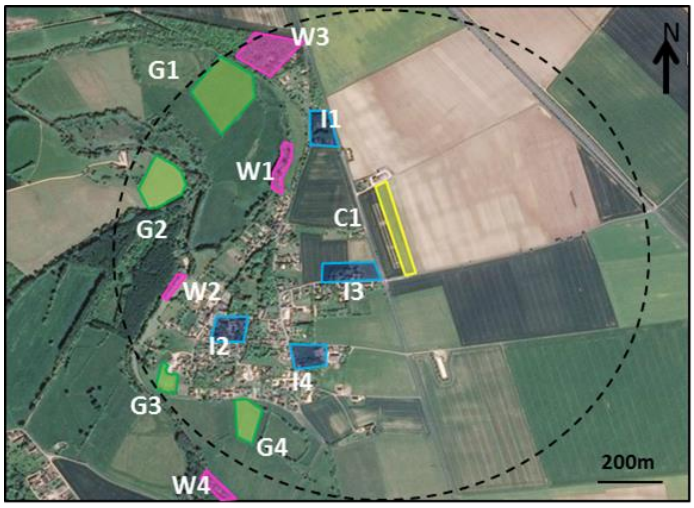


Figure S1: Localization of the sites in the landscape of Annoix. The cultivated field is in yellow, grasslands are in green, woodlands in orange and inhabited areas in blue.

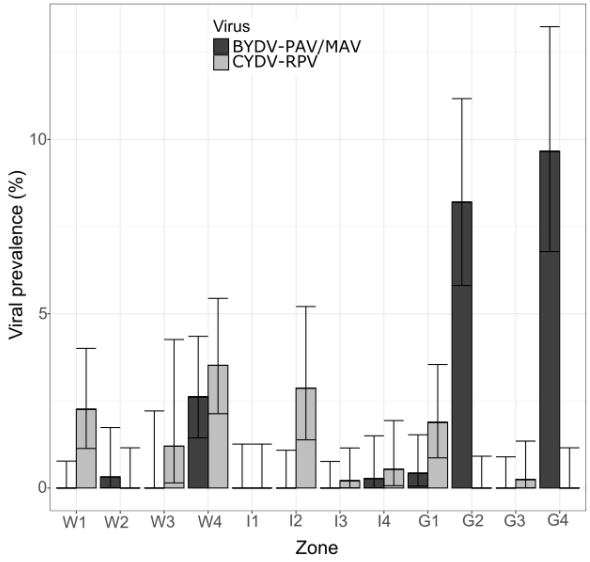


Fig. S2: Prevalence of BYDV-PAV/MAV and CYDV- RPV in the sampled zones. BYDV-PAV/MAV corresponds to BYDV-PAV and/or BYDV-MAV as the detection antibodies are polyclonal. Black bars denote 95% confidence interval.

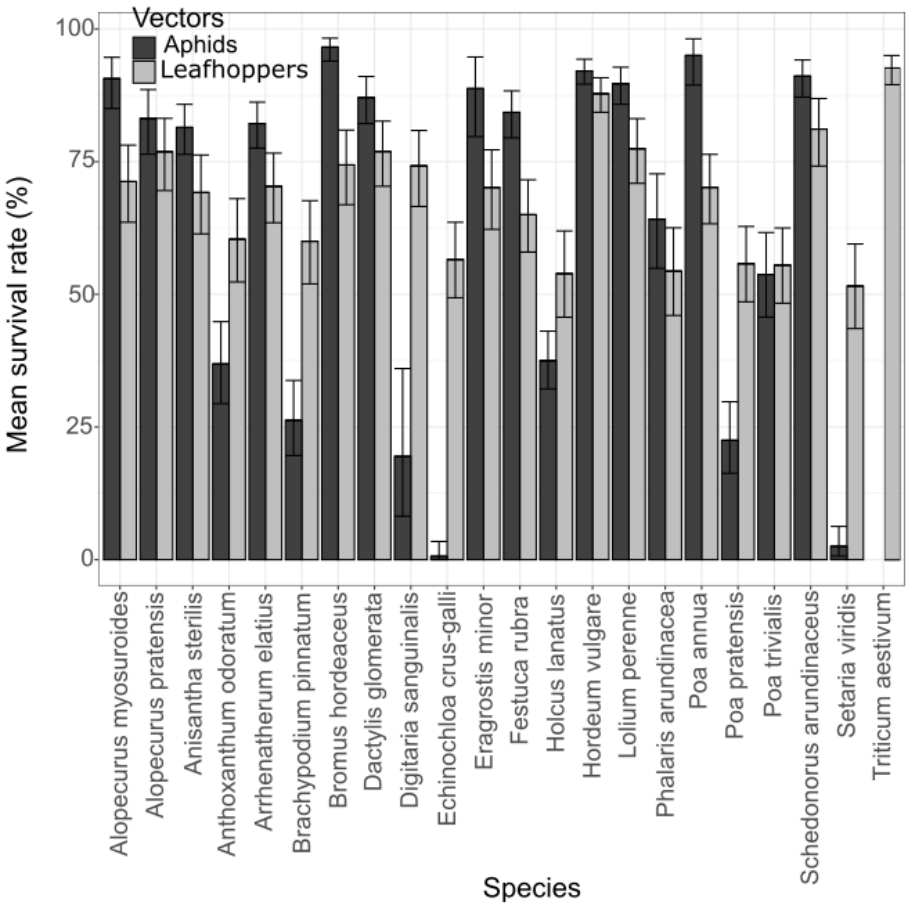


Fig S3 : Survival rates of the vectors on the tested species. 4 sets of 20 plants (BYDV-PAV) or 10 plants (WDV strain WDV and WDV-Bar) were tested per virus. Only the wild species tested for both aphids and leafhoppers are presented in the graph. Black bars denote 95% confidence interval. *Hordeum vulgare and Triticum aestivum* are the two cultivated species used as control.

Tab S1: Composition of the sampling performed in April 2017

Species	W1	W2	W3	W4	I1	I2	I3	I4	G1	G2	G3	G4
Agrostis stolonifera	10			28		15						38
Alopecurus myosuroides							21				1	1
Alopecurus pratensis	40	16						2	80			
Anisantha sterilis (Bromus sterilis)	80	46		80	53		28	27	80	72	80	
Anthoxanthum odoratum						1	3					
Arrhenatherum elatius	46	1	6	50	24		15	16			70	
Avena pubescens							11					
Brachypodium pinnatum/rupestre			12		28		30					
Brachypodium sylvaticum			1		45					2		
Bromopsis erecta												
Bromus hordeaceus	60	5					5		80	9	80	
Dactylis glomerata	43	14	6	49	17	56	80	80	9	80	27	24
Elymus caninus		76		80						7		
Elytrigia repens						50						
Festuca marginata					80	63	18					
Festuca rubra	15		80						2	6		
Gaudinia fragilis							1					
Holcus lanatus						22		3				60
Lolium perenne	45		59	54		80	80	4	26	71	42	25
Phalaris arundinacea	15			80								
Poa annua						7					6	
Poa pratensis	41		1		30	45	80	80	66	80	80	80
Poa trivialis	1	80		20	2		30	80	46		11	10
Schedonorus arundinaceus	80	80		80	12		80	77	80	76	14	80

Number: number of plant sampled. For area names, G, I and W mean grassland, inhabited and woodland, respectively. Sampling was limited to 80 plants/species/zone.

Table S2: List of the tested species in field sampling 2017 (FS), in CCI with BYDV PAV (CCI BYDV) and in CCI with WDV (CCI WDV).

Species	Tribe	Carbon pathway	Life cycle	Survey	BYDV-PAV4	WDV & WDV-BAR IA
Agrostis stolonifera	*Aveneae*	C3	Perennial	X		
Alopecurus myosuroides	*Aveneae*	C3	Annual	X	X	X
Alopecurus pratensis	*Aveneae*	C3	Perennial	X	X	X
Anisantha sterilis (Bromus sterilis)	*Bromeae*	C3	Annual	X	X	X
Anthoxanthum odoratum	*Aveneae*	C3	Perennial	X	X	X
Arrhenatherum elatius	*Aveneae*	C3	Perennial	X	X	X
Avena pubescens	*Aveneae*	C3	Perennial	X		
Brachypodium pinnatum/rupestre	*Brachyelytreae*	C3	Perennial	X	X	X
Brachypodium sylvaticum	*Brachyelytreae*	C3	Perennial	X		
Bromopsis erecta	*Bromeae*	C3	Perennial	X		
Bromus hordeaceus	*Bromeae*	C3	Annual	X	X	X
Cynodon dactylon	*Cynodonteae*	C4	Perennial		X	
Dactylis glomerata	*Poeae*	C3	Perennial	X	X	X
Digitaria sanguinalis	*Paniceae*	C4	Annual		X	X
Echinochloa crus-galli	*Paniceae*	C4	Annual		X	X
Elymus caninus	*Triticeae*	C3	Perennial	X		
Elytrigia repens	*Triticeae*	C3	Perennial	X		
Eragrostis minor	*Eragrostideae*	C4	Annual		X	X
Festuca marginata	*Poeae*	C3	Perennial	X		
Festuca rubra	*Poeae*	C3	Perennial	X	X	X
Gaudinia fragilis	*Aveneae*	C3	Annual	X		
Holcus lanatus	*Aveneae*	C3	Perennial	X	X	X
Hordeum vulgare	*Triticeae*	C3	Annual		X	BAR
Lolium perenne	*Poeae*	C3	Perennial	X	X	X
Lolium multiflorum	*Poeae*	C3	Annual		X	
Phalaris arundinacea	*Aveneae*	C3	Perennial	X	X	X
Poa annua	*Poeae*	C3	(Bis)Annual	X	X	X
Poa compressa	*Poeae*	C3	Perennial		X	
Poa pratensis	*Poeae*	C3	Perennial	X	X	X
Poa trivialis	*Poeae*	C3	Perennial	X	X	X
Schedonorus arundinaceus	*Poeae*	C3	Perennial	X	X	X
Setaria verticillata	*Paniceae*	C4	Annual		X	
Setaria viridis	*Paniceae*	C4	Annual		X	X
Triticum aestivum	*Triticeae*	C3	Annual		X	WDV

WDV: only tested for the WDW-W strain, WDV-Bar: only tested for the WDV-Bar strain

Table S3 : Weight/volulme ratio applied to the samples from FS Avril 2017 when the dilution was not performed according to the 1:6 ratio

Zone	Species	Average weight (g)	Volume (mL)	Ratio
I2	*Anthoxanthum odoratum*	0,08	1,2	15,00
G1	*Alopecurus pratensis*	1,2	6	5,00
G4	*Alopecurus pratensis*	2	6	3,00
W1	*Alopecurus pratensis*	1,7	6	3,53
W1	*Anisantha sterilis*	0,08	1,2	15,00
G2	*Anisantha sterilis*	0,05	1,2	24,00
G1	*Anisantha sterilis*	0,085	1,2	14,12
I4	*Anisantha sterilis*	0,07	1,2	17,14
G4	*Agrostis stolonifera*	0,15	1,2	8,00
I2	*Agrostis stolonifera*	0,101	1,2	11,88
G1	*Bromus hordeaceus*	0,17	1,2	7,06
W2	*Bromus hordeaceus*	2	6	3,00
W1	*Bromus hordeaceus*	0,1	1.2	12,00
I1	*Brachypodium sylvaticum*	0,1	1,2	12,00
G4	*Dactylis glomerata*	0,18	1,2	6,67
I3	*Dactylis glomerata*	2	6	3,00
I2	*Elytrigia repens*	0,15	1,2	8,00
I2	*Festuca marginata*	0,17	1,2	7,06
W3	*Festuca rubra*	0,1	1,2	12,00
I2	*Lolium perenne*	0,18	1,2	6,67
G3	*Poa pratensis*	0,07	1,2	17,14
I2	*Poa pratensis*	0,15	1,2	8,00
G4	*Poa pratensis*	0,04	1,2	30,00
I4	*Poa pratensis*	0,08	1,2	15,00
I4	*Poa trivialis*	0,07	1,2	17,14
W1	*Poa trivialis*	1,7	6	3,53
G4	*Poa trivialis*	0,032	1,2	37,50
G2	*Poa trivialis*	0,07	1,2	17,14
W4	*Poa trivialis*	1,1	6	5,45
G1	*Schedonorus arundinaceus*	0,06	1,2	20,00

The species absent from this table were ground with a 1:6 (w/v) sample:buffer ratio. For area names, G, I and W mean grassland, inhabited and woodland, respectively. The average weight was calculated with up to 10 plants.

Table S4 : p-values obtained during the comparison of the geographical and biological factors tested to explain B/CYDV prevalence in the landscape.

Effect		BYDV-PAV/MAV	CYDV-RPV
Habitat		0.0004***	0.427
Grassland	Woodland	0.177 ns	-
Grassland	Inhabited	0.386 ns	-
Woodland	Inhabited	0.709 ns	-
Alpha diversity			
Richness		0.0002***	0.947 ns
Richness:Habitat		0.663 ns	0.016*
Pielou's eveness		0.258 ns	0.0165*
Inverse Simpson		0.154 ns	0.0237 *
Berger Parker dominancy		0.197 ns	0.191 ns
Berger Parker dominancy:Habitat		0.456 ns	0.130 ns
Zone/Habitat		0.047*	0.190 ns
Tribe		-	0.110 ns
Species		-	0.056 ns

Symbols: :interaction, /: nested effect. Statistical significance: ns: not significant, *: p<0.05, **:p<0.01, ***:p<0.001. All the p-values are given after the Holm's correction for multiple tests. For clarity reason, only the interactions which were statistically significant at least for one virus before the Holm correction are presented in the table. Pairwise comparisons were performed only when the main effect was statistically significant. None of them was statistically significant. Only host species were used to test the biological effect. Habitat: Grasslands, woodlands or inhabited area. Zones: RG: zone of grasslands habitat, RW : zone of woodlands habitat, RI: Zone of inhabited area. Tribe: Influence of the botanical tribe, Life cycle: annual or perennial.

Table S5 : p-values obtained during the comparison of the susceptibility to BYDV-PAV and WDV in CCI.

Species		BYDV	WDV/WDV-Bar
Alopecurus myosuroides	*Alopecurus pratensis*	<0.01***	-
Alopecurus myosuroides	*Bromus hordeaceus*	<0.01***	<0.01***
Alopecurus myosuroides	*Dactylis glomerata*	<0.01***	-
Alopecurus myosuroides	*Digitaria sanguinalis*	<0.01***	-
Alopecurus myosuroides	*Eragrostis minor*	1.0000 ns	-
Alopecurus myosuroides	*Festuca rubra*	<0.01***	-
Alopecurus myosuroides	*Hordeum vulgare*	1.0000 ns	<0.01*** (Bar)
Alopecurus myosuroides	*Poa annua*	0.1476 ns	0.8920 ns
Alopecurus myosuroides	*Poa trivialis*	<0.01***	<0.01***
Alopecurus myosuroides	*Setaria verticillata*	<0.01***	-
Alopecurus myosuroides	*Setaria viridis*	<0.01***	<0.01***
Alopecurus pratensis	*Bromus hordeaceus*	0.5178 ns	-

Alopecurus pratensis	*Dactylis glomerata*	1.0000 ns	-
Alopecurus pratensis	*Digitaria sanguinalis*	0.9978 ns	-
Alopecurus pratensis	*Eragrostis minor*	<0.01***	-
Alopecurus pratensis	*Festuca rubra*	1.0000 ns	-
Alopecurus pratensis	*Hordeum vulgare*	<0.01***	-
Alopecurus pratensis	*Poa annua*	<0.01***	-
Alopecurus pratensis	*Poa trivialis*	0.9967 ns	-
Alopecurus pratensis	*Setaria verticillata*	0.2255 ns	-
Alopecurus pratensis	*Setaria viridis*	0.0790 ns	-
Bromus hordeaceus	*Dactylis glomerata*	0.5356 ns	-
Bromus hordeaceus	*Digitaria sanguinalis*	0.8128 ns	-
Bromus hordeaceus	*Eragrostis minor*	<0.01***	-
Bromus hordeaceus	*Festuca rubra*	0.5368 ns	-
Bromus hordeaceus	*Hordeum vulgare*	<0.01***	-
Bromus hordeaceus	*Poa annua*	<0.01***	0.0202*
Bromus hordeaceus	*Poa trivialis*	0.8545 ns	1.000 ns
Bromus hordeaceus	*Setaria verticillata*	0.9979 ns	0.997 ns
Bromus hordeaceus	*Setaria viridis*	0.7063 ns	-
Dactylis glomerata	*Digitaria sanguinalis*	0.9982 ns	-
Dactylis glomerata	*Eragrostis minor*	<0.01***	-
Dactylis glomerata	*Festuca rubra*	1.0000 ns	-
Dactylis glomerata	*Hordeum vulgare*	<0.01***	-
Dactylis glomerata	*Poa annua*	<0.01***	-
Dactylis glomerata	*Poa trivialis*	0.9973 ns	-
Dactylis glomerata	*Setaria verticillata*	0.2385 ns	-
Dactylis glomerata	*Setaria viridis*	0.0858 ns	-
Digitaria sanguinalis	*Eragrostis minor*	<0.01***	-
Digitaria sanguinalis	*Festuca rubra*	0.9982 ns	-
Digitaria sanguinalis	*Hordeum vulgare*	<0.01***	-
Digitaria sanguinalis	*Poa annua*	<0.01***	-
Digitaria sanguinalis	*Poa trivialis*	1.0000 ns	-

Digitaria sanguinalis	*Setaria verticillata*	0.3058 ns	-
Digitaria sanguinalis	*Setaria viridis*	0.0541 ns	-
Eragrostis minor	*Festuca rubra*	<0.01***	-
Eragrostis minor	*Hordeum vulgare*	1.0000 ns	-
Eragrostis minor	*Poa annua*	0.4048 ns	-
Eragrostis minor	*Poa trivialis*	<0.01***	-
Eragrostis minor	*Setaria verticillata*	<0.01***	-
Eragrostis minor	*Setaria viridis*	<0.01***	-
Festuca rubra	*Hordeum vulgare*	<0.01***	-
Festuca rubra	*Poa annua*	<0.01***	-
Festuca rubra	*Poa trivialis*	0.9973 ns	-
Festuca rubra	*Setaria verticillata*	0.2382 ns	-
Festuca rubra	*Setaria viridis*	0.0861 ns	-
Hordeum vulgare	*Poa annua*	<0.01***	<0.01*** (Bar)
Hordeum vulgare	*Poa trivialis*	<0.01***	-
Hordeum vulgare	*Setaria verticillata*	<0.01***	-
Hordeum vulgare	*Setaria viridis*	<0.01***	-
Poa annua	*Poa trivialis*	<0.01***	0.0232*
Poa annua	*Setaria verticillata*	<0.01***	-
Poa annua	*Setaria viridis*	<0.01***	0.0378*
Poa trivialis	*Setaria verticillata*	0.3576 ns	-
Poa trivialis	*Setaria viridis*	0.0702 ns	1.000*
Setaria verticillata	*Setaria viridis*	0.9967 ns	-
Alopecurus myosuroides (WDV)	*Alopecurus myosuroides* (WDV-Bar)	-	0.0438*
Poa annua (WDV)	*Poa annua* (WDV-Bar)	-	0.0270*
Triticum aestivum	*Alopecurus myosuroides*	-	0.0136 *
Triticum aestivum	*Bromus hordeaceus*	-	<0.01***
Triticum aestivum	*Poa annua*	-	<0.01***
Triticum aestivum	*Poa trivialis*	-	<0.01***
Triticum aestivum	*Setaria viridis*	-	<0.01***
Triticum aestivum	*Hordeum vulgare*	-	0.3610 ns

-: no test as one of the species remained uninfected or was not tested. Statistical significance: ns: not significant, *: p<0.05, **:p<0.01, ***:p<0.001. WDV pairwise p-values comparisons are given by defaut for the wheat strain unless (Bar) is precised. Comparison between a host and barley are made with WDV-Bar infection rate. All the p-values are given after the Holm's correction for multiple tests. 4 sets of 20 plants (BYDV-PAV) or 10 plants (WDV and WDV-Bar) were inoculated.

Table S6 : Pairwise comparisons of vector's survival rate on wild plants and cultivated plants.

Species		Vectors	
		Aphids	Leafhoppers
Hordeum vulgare	*Alopecurus myosuroides*	1.0000 ^{ns}	<0.01 ***
Hordeum vulgare	*Alopecurus pratensis*	0.1139 ^{ns}	0.1417 ^{ns}
Hordeum vulgare	*Anisantha sterilis*	<0.01 ***	<0.01 ***
Hordeum vulgare	*Anthoxanthum odoratum*	<0.01 ***	<0.01 ***
Hordeum vulgare	*Arrhenatherum elatius*	<0.01 ***	<0.01 ***
Hordeum vulgare	*Brachypodium pinnatum*	<0.01 ***	<0.01 ***
Hordeum vulgare	*Bromus hordeaceus*	0.6232 ^{ns}	0.0172 *
Hordeum vulgare	*Cynodon dactylon*	<0.01 ***	-
Hordeum vulgare	*Dactylis glomerata*	0.8120 ^{ns}	0.0846 ^{ns}
Hordeum vulgare	*Digitaria sanguinalis*	<0.01 ***	0.0182 *
Hordeum vulgare	*Echinochloa crus-galli*	<0.01 ***	<0.01 ***
Hordeum vulgare	*Eragrostis minor*	1.0000 ^{ns}	<0.01 ***
Hordeum vulgare	*Festuca rubra*	0.0722 ^{ns}	<0.01 ***
Hordeum vulgare	*Holcus lanatus*	<0.01 ***	<0.01 ***
Hordeum vulgare	*Lolium perenne*	0.9999 ^{ns}	0.1270 ^{ns}
Hordeum vulgare	*Phalaris arundinacea*	<0.01 ***	<0.01 ***
Hordeum vulgare	*Poa annua*	1.0000 ^{ns}	<0.01 ***
Hordeum vulgare	*Poa compressa*	<0.01 ***	-
Hordeum vulgare	*Poa pratensis*	<0.01 ***	<0.01 ***
Hordeum vulgare	*Poa trivialis*	<0.01 ***	<0.01 ***
Hordeum vulgare	*Schedonorus arundinaceus*	1.0000 ^{ns}	0.9016 ^{ns}
Hordeum vulgare	*Setaria verticillata*	<0.01 ***	-
Hordeum vulgare	*Setaria viridis*	<0.01 ***	<0.01 ***
Triticum aestivum	*Alopecurus myosuroides*	-	<0.01 ***
Triticum aestivum	*Alopecurus pratensis*	-	<0.01 ***
Triticum aestivum	*Anisantha sterilis*	-	<0.01 ***
Triticum aestivum	*Anthoxanthum odoratum*	-	<0.01 ***
Triticum aestivum	*Arrhenatherum elatius*	-	<0.01 ***
Triticum aestivum	*Brachypodium pinnatum*	-	<0.01 ***
Triticum aestivum	*Bromus hordeaceus*	-	<0.01 ***
Triticum aestivum	*Dactylis glomerata*	-	<0.01 ***
Triticum aestivum	*Digitaria sanguinalis*	-	<0.01 ***
Triticum aestivum	*Echinochloa crus-galli*	-	<0.01 ***
Triticum aestivum	*Eragrostis minor*	-	<0.01 ***
Triticum aestivum	*Festuca rubra*	-	<0.01 ***
Triticum aestivum	*Holcus lanatus*	-	<0.01 ***
Triticum aestivum	*Hordeum vulgare*	-	0.8147 ^{ns}
Triticum aestivum	*Lolium perenne*	-	<0.01 ***
Triticum aestivum	*Phalaris arundinacea*	-	<0.01 ***
Triticum aestivum	*Poa annua*	-	<0.01 ***
Triticum aestivum	*Poa pratensis*	-	<0.01 ***
Triticum aestivum	*Poa trivialis*	-	<0.01 ***

Triticum aestivum	*Schedonorus arundinaceus*	-	0.0239*
Triticum aestivum	*Setaria viridis*	-	<0.01***

-: no test as one of the species was not tested. Statistical significance: ns: not significant, *: p<0.05, **:p<0.01, ***:p<0.001. 4 sets of 20 plants were tested per wild species per vector. 2 vectors were disposed per plant.

Table S7 : p-values obtained during the comparison of the factors tested to explain BYDV-PAV and WDV susceptibility in CCI.

Effect		Virus	
		BYDV-PAV	WDV
Tribe		1.08E-5 ***	3.25E-9***
Aveneae	*Bromeae*	0.676ns	0.0118*
Aveneae	*Eragrostideae*	0.662 ns	NT
Aveneae	*Paniceae*	0.421 ns	0.0116*
Aveneae	*Poeae*	0.378 ns	0.0539 ns
Bromeae	*Eragrostideae*	0.233 ns	NT
Bromeae	*Paniceae*	0.999 ns	0.9339 ns
Bromeae	*Poeae*	0.999 ns	0.2443 ns
Eragrostideae	*Paniceae*	0.130 ns	NT
Eragrostideae	*Poeae*	0.122 ns	NT
Paniceae	*Poeae*	1.000 ns	0.4097 ns
Tribe /Species		0.346 ns	3.80E-5***
Alopecurus myosuroides	*Bromus hordeaceus*	-	0.001**
Alopecurus myosuroides	*Poa annua*	-	0.585 ns
Alopecurus myosuroides	*Poa trivialis*	-	<0.001***
Alopecurus myosuroides	*Setaria viridis*	-	0.001**
Bromus hordeaceus	*Poa annua*	-	0.017*
Bromus hordeaceus	*Poa trivialis*	-	0.994 ns
Bromus hordeaceus	*Setaria viridis*	-	0.946 ns
Poa annua	*Poa trivialis*	-	0.019*
Poa annua	*Setaria viridis*	-	0.028*
Poa trivialis	*Setaria viridis*	-	0.997 ns
Life cycle		2.1E-8***	3.80E-5***
(Bis)Annual	Annual	0.26997 ns	0.378 ns
(Bis)Annual	Perennial	0.00178**	0.402 ns
Annual	Perennial	0.00924**	0.139 ns
Life cycle / Species		0.346 ns	6.52E-10***
Photosynthetic strategy (C3/C4)		0.690 ns	0.003**
Phot/Species		0.346 ns	4.67E-11***
Vector survival rate		0.398 ns	0.189 ns

Symbols: :interaction, /: nested effect. Statistical significance: ns: not significant, *: p<0.05, **:p<0.01, ***:p<0.001, NT: not tested (no species infected by WDV in the tribe), Phot : photosynthetic strategy. All the p-values are given after the Holm's correction for multiple tests. For clarity reason, only the

interactions which were statistically significant at least for one virus before the Holm correction are presented in the table. Pairwise comparisons were performed only when the main effect was statistically significant. Only host species were used to test the biological effect. The effects were not tested or WDV-Bar as only two species were infected by the virus.

Table S8: p-values obtained during the comparison of the factors tested to explain BYDV-PAV and WDV susceptibility in CCI.

Effect	Vector	
	R. padi	*P. alienus*
Tribe	0.171 ^{ns}	0.850 ^{ns}
Life cycle	0.215 ^{ns}	0.626 ^{ns}
Photosynthetic strategy (C3/C4)	0.004 **	0.423 ^{ns}

Statistical significance: ^{ns}: not significant, *: p<0.05, **:p<0.01, ***:p<0.001. *R. padi : Rhopalosiphum padi, P. alienus*: *Psammotettix alienus*. All the tested species infested with a virus were included in the tests. All the p-values are given after the Holm's correction for multiple tests.

2. Choix du seuil de détection

Cette étude a consacré une attention toute particulière à la définition du statut hôte des espèces sauvages. La définition du statut hôte est soumise à l'application d'un seuil qui définit de manière dichotomique le statut d'un échantillon (sain ou infecté). Dans le cas des phytovirus, le seuil historique de 0,1 correspond à une corrélation visuelle entre la couleur jaune produite par la réaction entre la phosphatase alcaline et le p-nitrophenyl phosphate et l'OD_{405} mesurée des échantillons positifs les plus dilués (Clark & Adams, 1977). Ce seuil, utilisé par plusieurs études pour détecter les B/CYDV et le WDV (e.g. (Comas *et al.*, 1993; Mehner *et al.*, 2003; Fabre *et al.*, 2005) a montré certaines limites parmi lesquelles i) l'absence de considération d'éventuelles réactions croisées entre l'anticorps et certaines des protéines de la plante hôte, ii) la génération d'éventuels faux positifs. D'autres seuils de positivité sont apparus pour étudier ces virus (8). Ces seuils, pouvant être adaptés à l'objectif de l'étude devaient permettre un équilibre entre i) la discrimination efficace des échantillons appartenant aux deux catégories (infecté ou sain) en limitant le risque de confusion α entre les deux ii) la détection des échantillons infectés en limitant le risque β de faux négatif. Par manque d'uniformité le seuil de détection pour un même virus peut varier du simple au triple e.g ((Mehner *et al.*, 2003; Lindblad & Sigvald, 2004), certains auteurs préférant assurer la détection des échantillons infectés, d'autres l'absence de faux positifs. Il y a donc une part importante de subjectivité dans le choix du seuil. Afin de pouvoir déterminer au mieux le statut sanitaire des plantes analysées, un seuil hybride constitué de la valeur maximale entre une OD_{405} de 0.15 à 2 heures et deux fois la valeur des témoins sains est proposé. La présence de l'OD_{405} des témoins sains de l'espèce testée permet de tenir compte d'une éventuelle réaction croisée entre les anticorps de détection et les protéines de l'espèce testée. Le choix de la valeur de 0.15 (et non 0.10) a été réalisé après l'analyse de la distribution des différents types de distribution. Elle permet d'éliminer les densités optiques marginalement supérieures au seuil dues à des phénomènes extérieurs (notamment la proximité du bord de la plaque, l'ordre de dépôt des échantillons ou un éventuel effet test (Annexe 2). La combinaison de ces deux seuils a permis d'affiner la détermination du statut sanitaire des échantillons et pourrait constituer une approche intéressante pour les futurs travaux basés sur des protocoles de détection à l'aide de techniques quantitatives.

Tableau 8: *Présentation des différents seuils utilisés en ELISA pour le diagnostic des échantillons infectés.*

Virus	Type de plante	Seuil proposé	Référence
BYDV	Cultivé	0.1	(Comas *et al.*, 1993; Mehner *et al.*, 2003; Fabre *et al.*, 2005)
		2 x Témoin	(Rochow, 1982; Gray, 1991; Power *et al.*, 1991; McKirdy *et al.*, 2002; Seabloom *et al.*, 2009)
		3 x Témoin	(Dedryver *et al.*, 2005; Chain *et al.*, 2006; Riedel *et al.*, 2011)
		Témoin + 3 x ET	(Perry *et al.*, 2000)
	Sauvage	Témoin	(Sharma *et al.*, 1984)
		0.1	(Mehner *et al.*, 2003)
		2 x Témoin	(Fargette & Lister, 1982; Lamptey *et al.*, 2003)
		3 x Témoin	(Guy *et al.*, 1986, 1987; Guy, 1988)
		Témoin + 4 x ET	(Griesbach *et al.*, 1990)
WDV	Cultivé	0.1	(Mehner *et al.*, 2003)
		2 x Témoin	(Vacke & Cibulka, 1999; Abt *et al.*, 2017)
		Témoin + 3 x ET	(Luo *et al.*, 2016)
		0.30	(Kvarnheden *et al.*, 2002; Lindblad & Waern, 2002; Lindblad & Sigvald, 2004)
	Sauvage	0.1	(Mehner *et al.*, 2003)

Les nombres sont des valeurs d'OD_{405} après deux heures, ET : écart type

3. Accessibilité des espèces testées influençant leur rôle dans l'épidémie

Sur les 30 espèces testées en tout, au moins 18 ont pu être infectées par un des B/CYDV. La présence des B/CYDV dans les graminées sauvages du paysage d'Annoix est une donnée nécessaire mais non suffisante pour leur attribuer un rôle de maintien dans l'épidémiologie de la JNO. Les plantes du compartiment sauvage ne peuvent jouer un rôle de maintien et de source virales que si elles sont présentes à des périodes de l'année compatibles avec les périodes de culture des céréales et de vol des vecteurs ce qui est le cas pour la totalité des espèces pérennes prélevées à Annoix (Tab 9). En revanche les espèces annuelles à floraison tardive (*Digitaria sanguinalis, Eragrostis minor, Setaria verticillata* et *Setaria viridis*) ne sont associées à la période de sensibilité des hôtes cultivées que très brièvement. Cette association est visible à un stade déjà très avancé de la culture (après le stade premier nœud). Si *Digitaria sanguinalis* est peu sensible au BYDV-PAV expérimentalement, ce n'est pas le cas de *Eragrostis minor, Setaria viridis* et *Setaria verticilata* qui sont 3 des espèces les plus sensibles en conditions contrôlées.

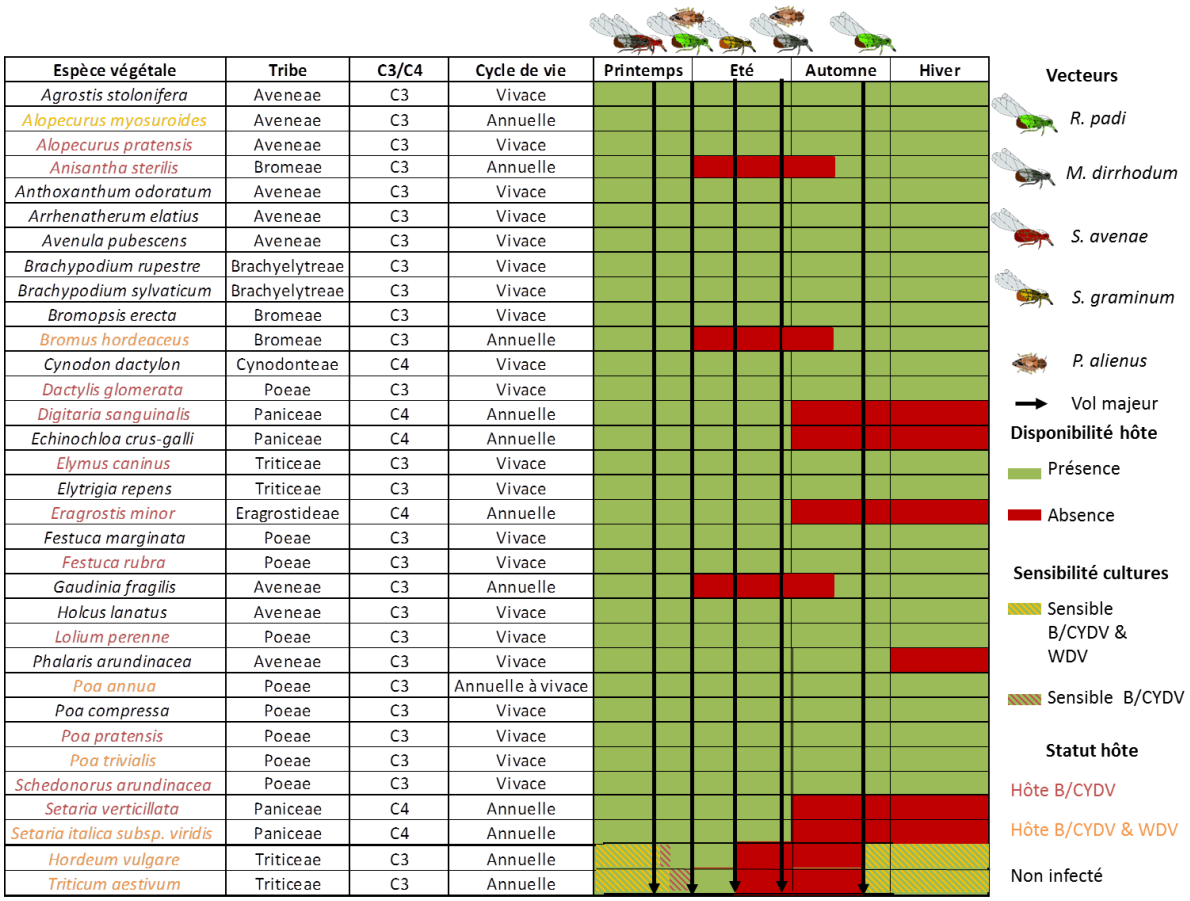
Au-delà d'une présence synchrone avec celle des cultures qui permet les flux de virus et de vecteurs entre hôtes, les espèces sauvages ne peuvent servir de population de maintien que si elles sont également présentes lors de l'absence des cultures. Dans le cas contraire, elles ne constitueront qu'une population alternative, ne permettant pas le maintien du virus pendant la période d'interculture. Cette situation se produit dans le cas des espèces annuelles à floraison précoce (*Anisantha sterilis, Bromus hordeaceus, Gaudinia fragilis)* qui ne remplissent pas ces conditions. Parmi les annuelles, seule *Alopecurus myosuroides* qui possède deux cycles de floraisons, possiblement associés à des écotypes différents, peut être présent tout au long du cycle de culture et jouer efficacement ce rôle de réservoir (Maréchal *et al.*, 2012), les autres semblant avoir un rôle plus limité à cause de leur biologie

La capacité des vecteurs à se nourrir sur les espèces testées est également une composante importante des pathosystèmes étudiés. Dans le cas des B/CYDV et du WDV, si le vecteur ne se nourrit pas sur une espèce hôte, cette dernière ne sera pas infectée par les virus testés. Si les cicadelles semblent globalement pouvoir se nourrir sur toutes les espèces testées (taux de survie toujours supérieur à 50%), les pucerons semblent éprouver des difficultés à se nourrir sur les espèces de la tribu des *Paniceae* (*Digitaria sanguinalis, Echinochloa crus-galli, Setaria verticillata, Setaria viridis*), avec un taux de survie de 20% dans le meilleur des cas. Il semble donc peu probable que ces hôtes soient sélectionnés par le puceron dans le paysage où il est libre de choisir son hôte pour se nourrir. Ce résultat reste à nuancer car nous n'avons testé qu'un seul clone de puceron en conditions contrôlées, d'autres clones de la même espèce pourraient tout de même parvenir à se nourrir sur ces

espèces (Vialatte *et al.*, 2005). L'infection de ces espèces dans le paysage reste tout de même possible à l'aide d'autres espèces vectrices (e.g. *Sitobion avenae)*.

Le WDV n'ayant infecté que 5 espèces parmi les 27 testées (dont 1 seule pérenne), son maintien dans le paysage au niveau du compartiment sauvage au cours des années mérite d'être questionné. Cette étude a mis en évidence 5 hôtes sauvages communs B/CYDV – WDV. Ce dernier n'ayant aucun hôte exclusif dans notre étude. La présence des deux virus dans un même hôte, sauvage ou cultivé est donc théoriquement possible. L'impact et la représentation des co-infections dans les dynamiques de colonisation des compartiments sauvages, et surtout cultivé (dans lequel les virus sont plus prévalents) pourrait constituer un élément clef de l'épidémiologie de ces virus.

Tableau 9 : *Récapitulatif de la présence des différentes espèces végétales identifiées à Annoix, de leurs cycles de vie ainsi que de leur sensibilité aux virus.*



La présence des différents hôtes est codée en vert, leur absence en rouge. Ces périodes sont données pour des conditions climatiques proches de celles d'Annoix, hors conditions climatiques exceptionnelles (source : R. Dupré, botaniste du MNHN). Les deux espèces cultivées sont situées en bas du tableau, les périodes indiquées correspondent aux variétés d'hiver. Les différentes périodes de vols majeures des vecteurs sont représentées par des flèches noires. *Cynodon dactylon, Poa*

compressa et *Setaria verticillata* n'ont pas été testées pour le WDV. La période de sensibilité des cultures aux différents virus correspondent au stade 53 de Zadoks pour les B/CYDV et 31 pour le WDV, atteints plus rapidement chez l'orge que chez le blé.

Chapitre 2



Chapitre 2 : Influence des co-infections entre B/CYDV et WDV dans le paysage

A- Interactions de plusieurs pathogènes dans un environnement proche

La présence de plusieurs agents pathogènes dans un même environnement, voir dans un même hôte, n'est pas un évènement rare. Lorsque deux agents pathogènes qui possèdent un hôte ou un vecteur commun se situent dans un même hôte, une interaction entre les deux est possible. L'interaction peut affecter plusieurs étapes du cycle d'infection (acquisition, inoculation, accumulation virale) qui peuvent répondre différemment à la présence d'un autre virus (Marchetto & Power, 2018). Cette interaction peut donner lieu à 3 types d'effets différents : des effets synergiques, antagonistes ou une absence d'effets (Syller, 2012; Syller & Grupa, 2016). Les effets synergiques concernent surtout une augmentation de la charge virale (Hibino *et al.*, 1978; García-Marcos *et al.*, 2009), des contournements de genes de résistance (Wang *et al.*, 2004) ou une meilleure acquisition par le vecteur (Li *et al.*, 2014). A l'inverse, les effets antagonistes sont généralement caractérisés par l'exclusion de la surinfection, décrite dans plusieurs travaux (e.g. (Gutiérrez *et al.*, 2010; Syller & Grupa, 2016)). Ces effets ne sont pas toujours reciproques et une combinaison d'effets (antagonistes pour un virus, synergiques pour l'autre) est possible (Wintermantel *et al.*, 2008).

La présence de plusieurs pathogènes au sein d'un même hôte peut arriver par différentes périodes d'infections. Une co-infection simultanée désigne l'infection de l'hôte par deux virus en même temps (souvent par co-inoculation) ou dans un laps de temps court (de l'ordre de la journée) (Aapola & Rochow, 1971). De cette façon, lorsque le second virus infecte l'hôte, le premier n'est pas encore pleinement établi et les mécanismes de silencing ne sont pas systémiques (Voinnet *et al.*, 1998) ce qui peut éventuellement limiter les effets d'exclusion. A l'inverse, l'infection séquentielle par deux virus d'un même hôte était historiquement appelée surinfection (Syller & Grupa, 2016). Néanmoins, la terminologie a été un peu clarifiée qui est désormais appelé co-infection séquentielle (Sofonea *et al.*, 2017; Marchetto & Power, 2018).

Les co-infections peuvent être caractérisées par plusieurs modèles qui prennent en compte les modalités d'entrée et de survie des différents pathogènes dans leur hôte (Sofonea *et al.*, 2017). Ces modèles sont expliqués pour deux pathogènes.

Certains pathogènes ne peuvent infecter leurs hôtes seuls. Ainsi, la suprainfection désigne l'incapacité d'un des deux pathogènes à infecter l'hôte en infection simple. Il ne peut infecter qu'un hôte préalablement infecté par l'autre pathogène. Les satellites correspondent à ce schéma

d'infection (Hull, 2014). Un cas plus extrême est celui de l'ambinfection où les deux pathogènes sont incapables d'infecter l'hôte séparément et seules les co-infections sont possibles. Ce schéma d'infection est tout à fait celui des virus multipartites où plusieurs segments sont requis pour réaliser l'infection (Grigoras *et al.*, 2018).

A l'inverse, certains agents pathogènes ne peuvent coexister au sein d'un même hôte. Comme évoqué plus haut, dans le cas d'interactions antagonistes, le premier pathogène inoculé exclut souvent l'autre. Ceci correspond à la priorinfection. On parle parfois d'effet de priorité pour désigner ce phénomène, traduisant l'avantage biologique conféré au premier virus à infecter un hôte ou à être acquis par le vecteur (Mordecai *et al.*, 2015a; Syller & Grupa, 2016). Il est possible qu'un des pathogènes soit tellement compétitif qu'il parvienne à systématiquement exclure l'autre de l'hôte, même lorsqu'il est inoculé en second. Ce schéma d'infection est appelé superinfection. A ma connaissance, ce schéma n'est pas représenté chez les virus de plantes (tout du moins entre espèces) mais il existe chez des parasites d'autres hôtes des règnes du vivant comme les crustacés (Lohr *et al.*, 2010) ou chez les parasites du genre *Plasmodium* (de Roode *et al.*, 2005). En dehors, des phénomènes d'exclusion, d'autres effets peuvent causer l'absence de co-infection. L'ultrainfection est un des schémas représentatifs de ce phénomène, l'effet synergique entre pathogènes étant si important que la présence des deux pathogènes dans un même hôte engendre rapidement son décès. Ce cas est relativement courant chez les virus de plantes, un des exemples les plus connus étant l'interaction PVX-PVY chez le tabac (González-Jara *et al.*, 2004).

Finalement, la co-infection entre deux virus désigne la seule situation où la co-existence de toutes les formes d'infections est stable, que ce soit individuellement pour chacun des virus ou en présence de l'autre pathogène.

La coexistence de deux pathogènes antagonistes dans un environnement n'est toutefois pas exclue, comme il existe des mécanismes qui permettent au pathogène le moins compétitif de subsister. Il existe deux types de mécanismes qui permettent la coexistence stable de deux pathogènes antagonistes dans un même environnement : les mécanismes égalisateurs (qui diminuent la différence de compétitivité entre les deux agents) et les mécanismes stabilisateurs (qui maintiennent la diversité en diversifiant les niches de chaque pathogène). Un exemple de mécanisme égalisateur peut être un hôte dans lequel le pathogène le mieux transmis se multiplie plus lentement que son antagoniste. Un mécanisme stabilisateur serait lui un hôte spécifique à un des pathogènes (Chesson, 2000). Cette coexistence entre deux agents pathogènes dans un même environnement est qualifiée de stable si les densités des différentes espèces sont stables sur le long terme. Si un

déséquilibre se crée, il aura tendance à être compensé. Lorsque cette condition n'est pas remplie, la coexistence est dite instable (Chesson, 2000).

Les B/CYDV et le WDV possédant des hôtes communs (e.g. blé, orge) et dans le cas des B/CYDV, des vecteurs identiques, il est possible que ces virus interagissent d'une manière ou d'une autre et que cela influence leur dispersion.

B- Interactions entre B/CYDV, entre synergie et antagonisme

L'interaction entre le BYDV-PAV et le BYDV-MAV, deux des espèces appartenant au genre *Luteovirus*, est antagoniste, causant des phénomènes d'exclusion et de priorité typiquement ceux observés dans le schéma de priorinfection (Aapola & Rochow, 1971; Gildow & Rochow, 1980a; Wen *et al.*, 1991).

Le BYDV-PAV peut être transmis par *Rhopalosiphum padi* et *Sitobion avenae* alors que le BYDV-MAV est transmis par *Sitobion avenae.* A densité de vecteurs proches entre ces deux espèces, le BYDV-PAV pourrait être transmis plus rapidement, ayant accès à un nombre de vecteurs plus important. En l'absence d'effets supplémentaire le BYDV-PAV pourrait exclure le BYDV-MAV du paysage à moins que les populations de *Sitobion avenae* ne soient beaucoup plus nombreuses que celles de *Rhopalosiphum padi* (Seabloom *et al.*, 2009; Mordecai *et al.*, 2015a). Le BYDV-PAV serait également un peu plus facilement transmis que le BYDV-MAV (environ 10% plus facilement) (Zhang & Holt, 2001) et le choix des vecteurs virulifères s'oriente moins souvent vers les hôtes infectés par le BYDV-PAV que par le BYDV-MAV (Power, 1996). L'ensemble de ces facteurs a entrainé le remplacement de l'espèce BYDV-MAV par l'espèce BYDV-PAV (passé de 1 à 76% de prévalence) dans l'état de New York en seulement 20 ans (Rochow, 1979; Zhang & Holt, 2001). Ce remplacement a été facilité par le cycle de vie annuel des hôtes, ce qui diminuait considérablement le nombre de plantes infectées par les deux virus, favorisant le BYDV-PAV qui était transmis plus rapidement. Cependant deux facteurs restent à considérer pour nuancer ces observations. Premièrement cette exclusion a déjà lieu au niveau du vecteur (*Sitobion avenae),* toujours sous la forme de priorinfection. Ce phénomène semble causé par la saturation des récepteurs des glandes salivaires accessoires du vecteur (Gildow & Rochow, 1980b). Il semble que dans ce cadre que le BYDV-MAV soit plus efficace pour exclure le BYDV-PAV du vecteur que le contraire (Mordecai *et al.*, 2015a). De plus la plupart des clones de *Sitobion avenae* sont de bons vecteurs du BYDV-MAV mais des vecteurs moins efficaces du BYDV-PAV (Gray *et al.*, 1991; Yu *et al.*, 2013; Mordecai *et al.*, 2015a). Ces deux éléments agissent comme mécanisme stabilisateur en spécialisant davantage *Sitobion avenae* dans la transmission du BYDV-MAV. D'autres facteurs extérieurs, comme la présence du CYDV-RPV, peuvent faciliter la transmission du BYDV-MAV. Lors de certains évènements rares, il peut y avoir transencapsidation du

BYDV-MAV par le CYDV-RPV (Rochow, 1970; Rochow & Gill, 1978) ce qui le rend transmissible par *Rhopalosiphum padi.*

Contrairement à l'interaction entre deux espèces de B/CYDV appartenant aux *Luteovirus,* l'interaction entre une espèce de B/CYDV appartenant aux *Luteovirus* et une espèce de B/CYDV appartenant aux *Polerovirus* est souvent décrite comme au moins partiellement synergique. Une interaction entre le BYDV-PAV et le CYDV-RPV entraine une augmentation de la sévérité des symptômes (Aapola & Rochow, 1971; Miller *et al.*, 1997b) mais semble diminuer la charge virale des deux protagonistes (Mordecai *et al.*, 2015a; Lacroix *et al.*, 2017). Il ne semble pas y avoir d'effet sur la transmission des deux espèces (Mordecai *et al.*, 2015b). La synergie est plus forte entre le BYDV-MAV et le CYDV-RPV : si il y a également une hausse de la sévérité des symptômes (Aapola & Rochow, 1971), il n'y a pas de diminution de la charge virale des deux espèces en co-infection. En revanche, il peut y avoir transencapsidation de ces espèces permettant la transmission du premier par *Rhopalosiphum padi* et du second par *Sitobion avenae*. L'encapsidation hétérologue fonctionne mieux lorsque c'est le CYDV-RPV qui encapside le génome du BYDV-MAV que dans l'autre sens (Rochow, 1982). Il existe d'autres espèces de B/CYDV du genre *Polerovirus*, notamment le MYDV-RMV, qui possèdent des effets synergiques en co-infection avec le BYDV-MAV (Rochow, 1982).

Les interactions au sein du groupe d'espèces virales des B/CYDV sont complexes et dépendent de multiples facteurs. Deux éléments semblent cependant avoir un fort impact sur la dispersion de ces virus dans le paysage : les populations de vecteurs et le genre des espèces virales impliquées (deux espèces de *Luteovirus* interagissant plutôt en priorinfection alors qu'une espèce de *Luteovirus* et une espèce de *Polerovirus* interagissent plutôt en co-infection).

C- Interaction entre WDV

Le WDV est un pathosystème beaucoup plus simple que celui des B/CYDV, n'étant caractérisé que par un seul vecteur et un seul virus ce qui limite la complexité des interactions.

La question de l'interaction entre les deux souches de WDV n'a pas été posée directement. En effet, les gammes d'hôtes cultivés du WDV souche WDV et WDV-Bar sont assez distinctes comme expliqué auparavant.

L'ensemble des données permet cependant de s'orienter vers un évènement très rare, probablement possible uniquement en co-infection (Commandeur & Huth, 1999; Köklü *et al.*, 2007; Kundu *et al.*, 2009). A ma connaissance il n'y a pas d'autres études faisant état d'une interaction entre les deux souches virales dans un hôte commun ou dans le vecteur

D- Interaction entre B/CYDV et WDV

Les B/CYDV et le WDV ayant des hôtes communs, il est théoriquement possible qu'ils puissent infecter le même hôte. Ces virus n'ont pas de vecteurs communs, leur interaction n'est possible que si chacun est inoculé à l'hôte par son propre vecteur.

L'interaction entre les vecteurs ainsi qu'entre le vecteur d'un pathosystème et le virus de l'autre pathosystème est un préalable à la compréhension des interactions entre B/CYDV et WDV. Les vecteurs semblent agir de façon antagoniste l'un envers l'autre. Une pré-infestation de *Rhopalosiphum padi* cause un allongement de la durée de développement de *Psammotettix alienus* ainsi qu'une hausse de la mortalité des nymphes et un déplacement de ces dernières sur l'hôte (quittant l'aisselle des feuilles pour une zone moins favorable à leur alimentation, voire quittant simplement l'hôte (Alla *et al.*, 2001a)). Cet effet pourrait être causé par des composés chimiques émis par les pucerons (Alla *et al.*, 2001b). Réciproquement, il semble qu'une pré-infestation par *Psammotettix alienus* réduise le poids et allonge le développement de *Sitobion avenae* lors de sa nutrition sur l'hôte (Luo *et al.*, 2016). Ces deux éléments suggèrent qu'une co-infection simultanée de ces virus est assez improbable.

En revanche, il semble que la présence du WDV influence positivement le comportement alimentaire de *Sitobion avenae.* La présence du WDV cause une réduction de la durée des phases de repos et de cheminement extracellulaire et un allongement de la durée de la phase phloémienne. Ceci pourrait augmenter le nombre de co-infections séquentielles entre ces virus. L'influence de la présence des B/CYDV sur le comportement alimentaire de *Psammotettix alienus* est inconnue.

Une seule étude a été réalisée sur les interactions entre BYDV-PAV et WDV (Jarošová *et al.*, 2018). Cette étude a été réalisée uniquement en co-infection simultanée, et les plantes n'ont été testées qu'à un seul âge. De plus, l'influence de la présence de l'autre virus sur le taux d'infection n'a pas été mesurée. L'objectif de mon travail est de déterminer si un des paramètres du pathosystème (présence d'un autre vecteur ou virus, âge de l'hôte) peut influer sur le taux de transmission du BYDV-PAV ou du WDV en co-infection séquentielle. Ces résultats seront confrontés à ceux réalisés en inoculation en conditions contrôlées pour tester l'évolution de la charge virale avec le temps. L'effet des interactions entre le BYDV-PAV et le WDV-Bar en fonction de leur ordre d'inoculation a été discuté dans un article : Gauthier K ., Souquet M., Dallot S., Thébaud G. and Jacquot E, **Interactions between Barley yellow dwarf virus PAV and Wheat dwarf virus in co-inoculated barley plants,** proposé dans *Plant pathology.*

Interactions between *Barley yellow dwarf virus PAV* and *Wheat dwarf virus* in co-inoculated barley plants

K. Gauthier[1,2], M. Souquet[1], S. Dallot[1], G. Thébaud[1] and E. Jacquot[1]

[1] BGPI, INRA, Montpellier SupAgro, Univ Montpellier, Cirad, Campus International de Baillarguet, F-34398, Montpellier Cedex 5, France
[2] Bayer SAS - Bayer CropScience, 16 Rue Jean-Marie Leclair, F-69623 Lyon Cedex 09, France

Running title : BYDV-PAV/WDV interactions in barley

Abstract:

Barley yellow dwarf virus PAV (BYDV-PAV, genus *Luteovirus*, family *Luteoviridae*) and *Wheat dwarf virus* (WDV, genus *Mastrevirus,* family *Geminiviridae*), exclusively transmitted by insects, infect numerous host species belonging to the *Poaceae* family. Within their host ranges, these viruses have several common hosts including economically important small-grain cereals. Since their first description in the mid-XXth century, BYDV-PAV and WDV pathosystems have been extensively studied. Thus, most of the key steps of the epidemiology of viral diseases induced by BYDV-PAV and WDV are well described in the literature. However, very few information is available on interactions between BYDV-PAV and WDV while they could compete for the same hosts. The objective of this work was to test, using sequential and co-inoculation procedures, the ability of BYDV-PAV and WDV to infect heathy and already infected barley plants. Thus, infection rates and viral loads were used to evaluate the impact of each virus on the virulence of the other. Results showed that the abilities of the two viruses to infect and to accumulate in plants are not modified by co-inoculation procedures while sequential inoculation experiments highlighted that BYDV-PAV reduces the virulence of WDV.

Keywords: cereal viruses, coinfection, multiple infections, competition.

Introduction

Plant viruses are, for most of them, able to infect several host species (Power & Flecker, 2003) and most plant species are hosts for numerous viruses (Lapierre & Signoret, 2004). Thus, an overlap, even partial, of host ranges of two plant virus species allows the identification of common host(s) where multiple infections can occur (DaPalma *et al.*, 2010). Multiple infection results either from simultaneous or sequential inoculations. Simultaneous inoculation (co-inoculation) occurs when at least two viruses enter in a susceptible host within a period short enough to not consider an inoculation step for each pathogen. It was reported that the replication cycle of a plant virus in the first inoculated cell of a susceptible host takes hours (e.g.(Gal-On *et al.*, 1994; Khelifa *et al.*, 2010)) and systemic infection needs days to be achieved (Michelson *et al.*, 1994; Rodrigo *et al.*, 2014). Moreover, plant defence mechanisms such as gene silencing needs few days after viral inoculation to be efficient at the plant level (Voinnet *et al.*, 1998). Thus, co-inoculation can be considered as series of inoculation steps within a period shorter than one day while sequential inoculation describes two (or more) inoculation steps with a delay between each step of at least few days. Multiple infection can either be neutral for the pathogens or leads to a range molecular (e.g. recombination events between viral sequences, (Köklü *et al.*, 2007)) and/or biological (e.g. transcomplementation of part(s) of the infectious cycle of the dependant virus by (Lapierre & Signoret, 2004) the helper virus ((Cohen *et al.*, 1988; Spitsin *et al.*, 1991; Mayo *et al.*, 2000; Ryabov *et al.*, 2001)) interactions between viruses. The impacts of multiple infections on the fitness of co-infecting viruses (e.g. maintenance of a low fit strain in the infected host (Péréfarres *et al.*, 2014), enhancement of virulence (Wang *et al.*, 2004), modification of the transmission pattern (Li *et al.*, 2014), increase of within-plant accumulation (Hibino *et al.*, 1978; Sta Cruz *et al.*, 2003; García-Marcos *et al.*, 2009), and super-infection exclusion (Gutiérrez *et al.*, 2010; Syller & Grupa, 2016) depend on the partners involved in the virus-virus and in the viruses-host interactions (Syller, 2012). Thus, interactions between viruses in a co-infected plant can lead to different effects (i.e. synergism, antagonism or neutral) for each of the involved partners (Wintermantel *et al.*, 2008) but it is generally accepted that the first inoculated virus is less impacted by the inoculation of another virus than the virus inoculated to an already-infected plant (Syller & Grupa, 2016).

With about 700 genera and 10.000 species, *Poaceae* is one of the most important plant family (Lapierre & Signoret, 2004). More than 100 pathogenic virus species were described in *Poaceae* plants. The analysis of the host ranges of these viral species showed that more than 120 *Poacaea* species are hosts for two or more viruses. Moreover, data from surveys, carried out on wild and cultivated areas and targeting some of the most important cereal viruses, showed that multiple viral infections are not rare in *Poaceae* and can reach up to 70% of the tested samples (Seabloom *et al.*, 2009, 2010). *Barley yellow dwarf virus PAV* (BYDV-PAV, genus *Luteovirus*, family *Luteoviridae*) and *Wheat dwarf virus* (WDV, genus *Mastrevirus,* family *Geminiviridae*), which cause the yellow dwarf (YDD) and the wheat dwarf (WDD) diseases, respectively, are among the most important viruses for *Poaceae*. Indeed, in

addition to the numerous (more than 100 for BYDV-PAV and 21 for WDV) wild *Poaceae* species hosts for these viruses (Vacke, 1972; D'Arcy & Burnett, 1995; Mehner *et al.*, 2003; Ripl & Kundu, 2015; Parizipour *et al.*, 2016), the host ranges of BYDV-PAV and WDV include economically important cultivated *Poaceae* species (e.g. wheat, barley and oat) on which YDD and WDD can cause up to 90% of yield losses (Lister & Ranieri, 1995; Perry, 1998; Lindsten & Lindsten, 1999; Lindblad & Waern, 2002; Širlová *et al.*, 2010). These viruses are exclusively transmitted by insects in a persistent non-propagative manner (Brault *et al.*, 2010). BYDV-PAV is transmitted by different aphid species including the bird cherry-oat aphid (*Rhopalosiphum padi* (Linnaeus 1758)) and the English grain aphid (*Sitobion avenae* (Fabricius 1775)) (D'Arcy & Burnett, 1995) and WDV is transmitted by only one leafhopper species, i.e. *Psammotettix alienus* (Manurung *et al.*, 2005). Cultivated small-grain cereals are hosts for these vectors and for the viruses they transmit. Due to the absence of resistant cultivar against BYDV-PAV and WDV in small-grain cereal germplasms (Li *et al.*, 1998), main control methods against these insect-borne viral diseases are based on the use of insecticides (Gourmet *et al.*, 1996). Prevalence of YDD and WDD in small-grain cereal fields can reach 100% of the plants but varies greatly from year to year and between growing regions (Irwin & Thresh, 1990; Perry, 1998; Lindsten & Lindsten, 1999; Lindblad & Sigvald, 2004)

Since the first description of these viral diseases in the mid-XXth century (Oswald & Houston, 1953; Vacke, 1972), numerous characteristics of the yellow dwarf and the wheat dwarf pathosystems were studied, including the description of properties of viruses, vectors and host plants, and of the interactions between these partners (for reviews see (D'Arcy & Burnett, 1995; Abt & Jacquot, 2015)). Thus, most of the key steps (e.g. transmission efficiencies, dynamics of viral infection in susceptible plants…) of the epidemiology of these two viral diseases are accurately described in the literature (Gray, 1991; Power *et al.*, 1991; Lindblad & Sigvald, 2004). However, most of the works carried out on these cereal diseases focussed on one pathosystem (either YDD or WDD). Indeed, very few information is available on the possible interactions between BYDV-PAV and WDV (Jarošová *et al.*, 2018) while these two viruses obviously compete for the same plant hosts in cereal growing areas. The objective of this work was to test the ability of BYDV-PAV and WDV to infect barley plantlets under single- or multiple-viral inoculation procedures. Infection rates and viral loads were used to evaluate the impact of the actual or the mock inoculations of one virus on the success of inoculation by the other virus. This study will inform us on the characteristics of BYDV-PAV/WDV interactions during coinfection of barley plants, one of their common hosts, and will help us to consider how each of these vector-borne viral diseases impacts the epidemiology of the other.

Material and methods

Plants, insects and viruses

Barley seeds cv. Etincel (Secobra, Maule, France) were individually sown in plastic tubes (10-cm high; 2 cm in diameter) filled with a 70% N2 soil (Klasmann-Deilmann GmbH, Geeste, Allemagne) and 30% vermiculite (Hortiplus, Boisseron, France) mixture. After sowing, the tubes were individually covered with microperforated plastic bags. Plants were grown in a greenhouse at 26°C/23°C day/night and a maximum of 80% RH. Between 6 am and 7 pm, light intensity was adjusted to 2,800 W/m² when natural light intensity was lower.

The aphid *Rhopalosiphum padi* clone IA (collected in Yonne (France) in 2012) and *Psammotettix alienus* leafhoppers (from a population collected in Loire-et-Cher (France) in 2011) were used as virus vectors in the experiments. These insects were reared in insect-proof cages in the presence of barley plants, and maintained in a growth chamber at 16h/8h day/night, 24°C/21°C and 40% RH. Isolates BYDV-PAV4 (sampled from oat cv. Peniarth in 1991) and WDV-BarIA (sampled from barley in 2012) were used in the experiments. Viruliferous vectors were reared on infected plants.

Inoculation of plants

One week after sowing, barley plants at the 2-leaf stage were used to initiate sequential inoculation (SIP) and coinoculation (CIP) experiments. For SIP, viruliferous and virus-free aphids, and leafhoppers were used to inoculate sets of 20 plantlets (one aphid or two leafhoppers per plant) for 6 hours (aphid-mediated inoculations) or 5 hours (leafhopper-mediated inoculations). At the end of the inoculation access period (IAP), insects were removed and inoculated plants were maintained in an insect-free area for 9 days. Then, a second inoculation step was carried out as described above. At the end of the second IAP, plants were sprayed with insecticides (Decis Protech (Bayer Crop Science, Monheim am Rhein, Germany) and Pirimor G (Adama, Suresnes, France)), individually covered with microperforated plastic bags and transferred in a greenhouse for three weeks before being sampled and stored at -20°C until use. For CIP, viruliferous and virus-free aphids and leafhoppers were used to inoculate sets of 30 (single inoculations) or 45 (coinoculations) plantlets (one aphid and two leafhoppers per plant) for 24 h IAP. At the end of IAP, plants were sprayed with insecticides, covered with microperforated plastic bags and transferred in a greenhouse. The apex of plant leaves (2.5 cm) were sampled at 14, 21 or 28 days post inoculation (dpi). Leaf fragments were pooled per plant and stored at - 80°C until use. Vectors (type and sanitary status) used in each step of SIP and CIP are listed in Table 1. SIP and CIP experiments were repeated three and four times, respectively.

Detection of infected plants using enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA)

Plants from SIP were ground in the presence of 250 µL of grinding buffer (137 mM NaCl, 8 mM Na_2HPO_4-$12H_2O$, 2.7 mM KCl, 1.5 mM KH_2PO_4, pH=7.4), 0.05% (v/v) Tween 20 and 2% (w/v) PVP-40T) using a Pollähne press (MEKU, Wennigsen, Germany). CIP samples (pools of apexes) were ground in the presence of buffer (100 µl + 100 µl per apex) in microtubes containing 1 mm glass balls and 5.6 mm inox balls using a mixer mill MM301 (Retsch, Düsseldorf, Germany) at 22 oscillations/s for 240 s. The presence of BYDV-PAV and WDV-Bar in samples was determined using ELISA (Clark & Adams, 1977). A polyclonal antiserum raised against BYDV-PAV (IgG PAV52, H. Lapierre, INRA, France) and a monoclonal antibody raised

against WDV (DSMZ, Braunschweig, Germany) were used. Each serological reagent was diluted in carbonate buffer (15 mM Na_2CO_3, 35 mM $NaHCO_3$, pH=9.6) according to the recommendations of the providers. Wells of microtitration plates (NUNC, Maxisorp) were coated 3h at 37°C with 100 µl of diluted polyclonal antiserum. Plates were washed three times with PBS buffer supplemented with 0.05% (v/v) Tween 20 between each step of the ELISA protocol with an extra washing step performed with distilled water after the overnight incubation. For each sample, 100 µl of both crude and tenfold-diluted sap were then incubated in the coated wells overnight at 4°C. According to the expected specificity of the detection assays, 100 µl of appropriate antisera conjugated to alkaline phosphatase, diluted according to manufacturer's recommendations in grinding buffer supplemented with 0.2% (w/v) ovalbumin, were added in wells. After 3 h of incubation at 37°C, plate wells were washed and filled with 100 µl of p-nitrophenyl-phosphate (1 mg/ml) diluted in substrate buffer (1 N, diethanolamine, pH=9.8). After incubation for 2 h at room temperature in the dark, the absorbance at 405 nm was recorded for each well using a microplate reader (Thermo Scientific, Illkrich, France). A positive detection was considered when the OD_{405} value of a tested sample was twice that of the healthy controls (with a minimal threshold OD_{405} value of 0.15). Crude sap from barley plants infected by BYDV-PAV or WDV-Bar was used as positive controls in the detection procedure. Serial 1.5-fold dilution series of positive controls in sap from healthy barley plants were added to the microtitration plates and used to estimate the relative virus load of the tested samples. Semi-quantitative ELISA procedure based on the use of these standard ranges makes it possible to calculate viral loads of infected samples. Virus concentrations were expressed according to the viral load of the undiluted (i.e. 100 units (U)) infected BYDV-PAV and WDV-Bar controls.

Statistical analyses:

Statistical analyses were performed using R version 3.6.0 (R Development Core Team, 2019). The numbers of infected and healthy plants were analysed using a quasibinomial generalized linear model (GLM). The effects were tested by comparing nested models using a Student test (*drop1* function). Multiple comparisons of the procedures were performed using the *multcomp* package (Hothorn *et al.*, 2008). The comparison of the viral loads was performed by using Fisher test after log transformation of the data. All the p-values were corrected with the Holm method (Holm, 1979).

Results:

Sequential inoculations (SIP)

In SIP, the inoculation of each virus was carried out on test plants either 7 or 16 days post sowing (dps), i.e. before or after the mock or actual inoculation of the other virus by the corresponding vector (Table 1). Depending on the procedures and their outcomes, most plants were inoculated by only one virus (i.e. X/vA, vA/X, X/vL, vL/X, A/vL and L/vA procedures) while other plants were inoculated by the two viruses (i.e. vA/vL and vL/vA procedures). However, the 505 plants used in the SIP experiment were individually tested by ELISA both for the presence of BYDV-PAV and WDV-Bar. The raw data showed that 1 out of the 179 plants (0.56%) inoculated only by BYDV-PAV (i.e. X/vA, vA/X and L/vA procedures) was detected as infected by WDV-Bar, and 4 out of the 177 plants (2.2%) inoculated only by WDV-Bar (i.e. X/vL, vL/X and A/vL procedures) were detected as infected by BYDV-PAV. These results suggest that despite the confinement in place, rare unexpected insect movements from one plant to another occurred during the sequential inoculation procedures, generating background noise. This has been considered in the analyses (pairwise comparisons between this background noise and the tested procedures) of the data produced from SIP experiments. Characterization of the sanitary status of test plants show that BYDV-PAV and WDV-Bar mean infection rates for the different procedures are in the range 42-56% and 15-68%, respectively (Fig. 1). Data analysis showed no significant difference for BYDV-PAV infection rates between inoculation procedures with viruliferous aphids ($p=0.50$). In contrast, there was a significant difference ($p=6.8\times10^{-10}$) among WDV infection rates. The vL/vA and vL/X procedures were associated to higher WDV infection rates than other SIP procedures (with the exception of WDV infection rates from vL/X and X/vL which are not different), and infection rate from X/vL was higher than the one from vA/vL but not from A/vL (Table S1). Some plants from the coinoculation procedures vA/vL and vL/vA were infected by only one of the two inoculated viruses. It is not possible to distinguish exclusion between viruses during multiple infections from failure in the inoculation process of one of the two viruses. However, as the second inoculation step in SIP occurs 9 days after the inoculation of the first virus, the infection rate associated to the former is considered to be not impacted by the later. Thus, coinfected plants from coinoculation procedures (i.e. vA/vL and vL/vA) were assigned to vA^+/vL and vL^+/vA procedures while single-infected plants (in which the first inoculated virus was not detected) from coinoculated procedures were assigned to vA^-/vL and vL^-/vA procedures (Table 2). The success of WDV-Bar infection on BYDV-PAV infection rate remained the same among replicates ($p=0.051$) and does not have any influence ($p=0.12$). The effect of BYDV-PAV on the WDV-Bar infection rate remained the same among replicates ($p=0.47$). Infection rate obtained from plants inoculated only by WDV-Bar at 16 dps (i.e. X/vL) is significantly lower ($p=0.040$) than WDV-Bar infection rates obtained for plants inoculated at 7 dps (vL/vA and vL/X). Moreover, WDV-Bar infection rate observed for leafhopper-mediated inoculations carried out at 16 dps is significantly reduced by the presence of BYDV-PAV in the tested plants (vA^+/vL vs. X/vL, $p=0.019$) but not by the use of virus-free aphids during the first inoculation step ($(A/vL)+(vA^-/vL)$ vs. X/vL, $p=0.12$). Finally, WDV-Bar inoculations at 16 dps lead to similar WDV-Bar infection rates for plants infested with aphids, BYDV-PAV inoculation being successful or not (vA^+/vL vs. $(A/vL)+(vA^-/vL)$) combination ($p=0.33$).

Coinoculation (CIP)

In CIP, single inoculations (vA&L and A&vL) and simultaneous inoculations (vA&vL, i.e. coinoculation) of viruses were carried out on barley plantlets at 7 dps. Inoculated plants were sampled at 14, 21 or 28 dpi and ELISA was used to detect and quantify BYDV-PAV and WDV-Bar in test plants. Coinoculated plants were assigned into four categories: healthy, infected by BYDV-PAV, infected by WDV-Bar, or coinfected. As for SIP, coinoculated plants infected by only one virus were considered as members of specific groups (i.e. $vA^-\&vL^+$ and $vA^+\&vL^-$) and plants coinfected were considered as members of groups $vA^+\&vL^+$ for data analyses (Table 2). Analysis of the sanitary status of plants inoculated by one virus (i.e. vA&L and A&vL, Fig. S1) showed that similar BYDV-PAV infection rates were obtained for the three tested dpi (p=0.78) while WDV-Bar infection rates increased from 18% at 14 dpi to 31% at 28 dpi. Using data from single- and co-inoculations, the rate of BYDV-PAV single infected plants (i.e. vA&L and $vA\&vL^-$, 53%) was significantly higher (p=0.040) than the rate of WDV-Bar single infected plants (i.e. A&vL and $vA^-\&vL$, 31%) (Fig. 2). Rates of single infections (i.e. (vA&L)+($vA\&vL^-$) for BYDV-PAV, and (A&vL)+($vA^-\&vL$) for WDV-Bar) and coinfections (i.e. $vA^+\&vL^+$) were not significantly different for BYDV-PAV (p=0.34) and WDV-Bar (p=0.83). Viral loads were calculated for each virus in plants sampled at 14, 21 and 28 dpi. Data showed that plants coinfected by BYDV-PAV and WDV-Bar accumulated each virus at levels similar to those present in single-infected plants (Fig. 3 and Table S2). The comparison of virus loads present in infected plants at the different dates after inoculation showed that BYDV-PAV viral load was similar at 14, 21 and 28 dpi (p=1) while WDV-Bar loads significantly increased between 14 and 21 DAI (p=0.02) and between 21 and 28 dpi (p=0.01). Viral loads (p=0.79 for BYDV-PAV and p=1 for WDV-Bar) were influenced by the presence of the other virus (Table S2).

Discussion

Plant viruses, at least most of them, are known for their abilities to infect several host species. In return, plant species can be infected by several viruses. Thus, an accurate characterisation of viruses present in plants would lead to the identification of multiple viral species within a single host. Such multiple virus-infected status of plants was reported since decades from surveys carried out on cultivated (Leclercq-Le Quillec *et al.*, 2000; Burrows *et al.*, 2007) and wild (Seabloom *et al.*, 2009, 2010) plants. Moreover, the recent description of viral sequences from plant samples characterized by deep sequencing approaches (Kreuze *et al.*, 2009) highlights the fact that virus-infected plants contain mixtures of viral entities belonging to several virus species (Li *et al.*, 2014). During the infection process, viruses use some of the host resources to perform the infection cycle. Thus, the virus-host interactions that drive parameters of infection by one virus can be altered by the presence of another virus within the host (Syller, 2012). Even if competitions between viruses during multiple infections is a well-known phenomenon (Syller, 2012; Hall & Little, 2013), most of the studies carried out under controlled conditions to improve knowledge on the epidemiology of a virus disease focussed on one virus-one host interactions without considering possible impacts of other pathogens on the collected data.

Yellow dwarf and wheat dwarf are two economically important viral diseases for small-grain cereals. Since their first description, virus-vector (Gray, 1991; Wang *et al.*, 2014), virus-host (Makkouk & Comeau, 1994; Lindblad & Sigvald, 2004) and vector-host (Manurung *et al.*, 2005; Ingwell *et al.*, 2012) interactions involved in the epidemiology of these two diseases have been studied to better understand processes of emergence, maintenance and spread of YDD and WDD. However, interactions between the viruses involved in these cereal diseases were poorly described (Jarošová *et al.*, 2018) while mixed infected plants are frequently reported from field surveys (Bukvayova *et al.*, 2006). Thus, using experimental design based on sequential and co-inoculation of the susceptible barley cv. Etincel, infection rates and virus load in single and co-infected plants were used to study the possible impact of BYDV-PAV/WDV interactions on the epidemiology of YDD and WDD. Results from co-inoculation showed that each of these two viruses infects test plants in the presence or the absence of the other virus with a similar efficiency (infection rate and virus load). This suggests for each virus that the different steps of plant infection process, from inoculation to systemic infection, occurred without being impacted by the presence of the other virus. In co-inoculation procedures, one aphid and two leafhoppers were placed on a barley plantlet under the confinement of a plastic bag. The simultaneous presence of these two insects on one plant was described to be not neutral for the behaviour of leafhoppers. Indeed, aphids move to the lower part of the plant (Dean & Luuring, 1970; McPherson & Brann, 1983; Chongrattanameteekul *et al.*, 1991) which forced the leafhoppers to move away from their preferred site and/or off the plant, and may have consequences on leafhoppers feeding (Alla *et al.*, 2001a). Actually, comparison between infection rates from X/vL procedure (inoculation (6h IAP) of WDV in the absence of aphid, SIP experiment, 40.0%) and from A&vL procedure (inoculation (24h IAP) of WDV in the presence of aphid, CIP experiment, 17.5%) allows to conclude that the presence of a single aphid on the plant during leafhopper-

mediated inoculation negatively impacts WDV infection rates. However, the similar infection rates obtained for A/vL and X/vL procedures of SIP indicates that 9 days after the removal of the aphid from test plants, its negative impact on WDV transmission is lost. Thus, the disturbing effect, which was proposed to be a chemical components produced by the aphid (Alla *et al.*, 2001b), is no longer present (or efficient) after nine days of plant growth without aphid. To complete these data, it would be interesting to test how fast this effect is lost after the removal of the aphid from the plant environment.

Co-inoculation of plants by viruliferous aphids and leafhoppers is unlikely to occur frequently in fields. Indeed, insect monitoring carried out using traps (Labonne *et al.*, 1982, 1989; Yattara & Francis, 2013) showed that only a low proportion (from 2 to 10%) of winged aphids entering the crop are viriliferous (Fabre *et al.*, 2005) and it is the secondary spread of virus within cereal field that mainly transmits the virus. Field surveys targeting leafhopper/WDV pathosystem showed that primary infections did not exceed 5% while secondary infections lead to high incidence of WDV at the end of the growing season (Lindblad & Sigvald, 2004). Thus, BYDV-PAV- and/or WDV-infected plants in a cereal field should mainly result from single virus inoculation or from sequential inoculation of the two viruses. However, the analysis of data available on the biological characteristics of aphids and leafhoppers (reproduction, population density, movement within and between reservoirs/fields…) did not allow us to hypothesis that one out of the two possible sequential inoculations of BYDV-PAV and WDV could occur more often than the other.

BYDV-PAV infection rates obtained for the five tested sequential inoculation procedures were similar. Moreover, mean BYDV-PAV infection rates from SIP (49.3%) and CIP (64.5%) experiments were not significantly different ($p=0.09$). This indicates that the ability of BYDV-PAV to infect barley is not sensitive to i) the healthy/WDV-infected status of the host and ii) the fact that the inoculated plant was previously or is currently used to host viruliferous or virus-free leafhoppers. Moreover, as expected from studies on the BYDV-PAV/cereals pathosystem (Makkouk & Comeau, 1994), young barley plantlets inoculated at 7 or 16 dps, i.e. both at two-leaf stage, present a similar BYDV-PAV susceptibility level. Data associated to WDV showed that the 9-day delay between the two inoculation steps of the SIP experiment are associated to a variation of the virulence of WDV with a reduced infection rate for inoculations carried out at 16 dps. Mature plant resistance (MPR) phenomenon for virus inoculation was described for WDV (Lindblad & Sigvald, 2004). However, data presented in the literature suggest that MPR for WDV in winter barley is observed when stem elongation starts (i.e. at Zadock stage 31, (Lindblad & Sigvald, 2004)) which is more or less six months after sowing. Thus, the reason for the reduced WDV infection rate for inoculations at 16 dps observed in this work is not known.

Under our experimental conditions, the ability of WDV to infect barley plants is reduced by the BYDV-PAV-infected status of the inoculated host. However, such negative effect between BYDV-PAV and WDV was observed in SIP experiment only. Indeed, data collected for each virus in CIP experiment showed that dynamics of viral accumulation in single and co-infections are similar. This suggests that competition between these two viruses in barley plantlets i) is associated to a priorinfection pattern of BYDV-PAV (Sofonea *et al.*,

2017) and ii) rather involves late than early steps of BYDV-PAV infection. The reduced infection rate observed for WDV inoculation of BYDV-PAV-infected plant could be a consequence of the presence of BYDV-PAV components in the host that impair WDV infection cycle (Marchetto & Power, 2018) and/or a side effect of a host defense initially expressed against BYDV-PAV infection, i.e. gene silencing ((Hall & Little, 2013)). However, further analyses must be carried out to understand which mechanism(s) could explain the BYDV-PAV/WDV phenotype observed.

For the last three decades, most of cereal fields sown in autumn were protected against insect-borne viruses by insecticide treatments, including neonicotinoid(NNI)-based treatments that were applied in France to 60% of barley seeds sown during the 2009-2014 period (N. Robin, Arvalis, Pers. comm.). This control method does not impair primary infections induced by viruliferous vectors entering in the protected area. However, secondary infections and maintenance of insect populations in field is not possible until the insecticide is efficient, i.e. at least three-four weeks after seed germination. This control method mainly limits the probability of BYDV-PAV/WDV mixed infections to plants visited by migrant viruliferous aphids and leafhoppers, both reported to represent low proportion of these insects. Secondary infections (and production of insects within the field) occur later in the growing season, when the insecticide is no longer efficient and autumn/winter season is still favorable for insects. At that time, the spread of infectious foci occurs according to population dynamics of each vector, parameters involved in virus transmission (i.e. acquisition, latency and transmission) and to interactions between viruses such as the one described in this work. With the recent ban of neonicotinoids to control insects in small-grain cereals, it seems unlikely that aphid populations and YDD will be maintain at levels as low as have been reported so far especially in years with very mild winters. Indeed, in an insecticide-free field, it is likely that a plant infected by a virus transmitted by aphids is infested by the aphid responsible of the virus inoculation and/or by the aphid's offspring. Thus, in addition to the negative impact of BYDV-PAV on WDV infection rate described in SIP experiments, the presence in a non-treated field of (numerous) aphids on both healthy and BYDV-PAV infected plants would enhance, at the field scale, the decrease of WDV infection rate by the combination of negative effects of i) aphids on leafhoppers behavior and ii) BYDV-PAV on WDV infection rate. Thus, without considering of other factor(s) that could modify our analysis of virus-vector-host interactions involved in epidemiology of YDD and WDD, the results presented in this work suggest that an increase of aphid populations and/or of BYDV-PAV prevalence in small-grain cereal could lead to a lower incidence of WDD.

Acknowledgments

This work was supported by Bayer CropScience. The authors thank Quentin Le Blaye for his assistance during experimentations.

Literature cited:

Abt I, Jacquot E, 2015. Wheat Dwarf. In: Tennant P,, Fermin G, eds. *Virus Diseases of Tropical and Subtropical Crops*. 27–41.

Alla S, Moreau J p., Frérot B, 2001a. Effects of the aphid Rhopalosiphum padi on the leafhopper Psammotettix alienus under laboratory conditions. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **98**, 203–209.

Alla S, Moreau J p., Frérot B, 2001b. Evidence of an extractable semiochemical produced by Rhopalosiphum padi acting on Psammotettix alienus. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **99**, 107–111.

Brault V, Uzest M, Monsion B, Jacquot E, Blanc S, 2010. Aphids as transport devices for plant viruses. *Comptes Rendus Biologies* **333**, 524–538.

Bukvayova N, Henselova M, Vajcikova V, Kormanova T, 2006. Occurrence of dwarf virus of winter wheat and barley in several regions of Slovakia during the growing seasons 2001-2004. *Plant, Soil and Environment - UZPI (Czech Republic)*.

Burrows ME, Caillaud MC, Smith DM, Gray SM, 2007. Biometrical genetic analysis of luteovirus transmission in the aphid Schizaphis graminum. *Heredity* **98**, 106–113.

Chongrattanameteekul W, Foster JE, Araya JE, 1991. Biological interactions between the cereal aphids Rhopalosiphum padi (L.) and Sitobion avenae (F.) (Horn., Aphididae) on wheat. *Journal of Applied Entomology* **111**, 249–253.

Cohen S, Kern J, Harpaz I, Benjoseph R, 1988. Epidemiological-Studies of the Tomato Yellow Leaf Curl Virus (tylcv) in the Jordan Valley, Israel. *Phytoparasitica* **16**, 259–270.

DaPalma T, Doonan BP, Trager NM, Kasman LM, 2010. A systematic approach to virus–virus interactions. *Virus Research* **149**, 1–9.

D'Arcy CJ, Burnett PA, 1995. *Barley yellow dwarf: 40 years of progress*. APS Press.

Dean GJ, Luuring BB, 1970. Distribution of aphids in cereal crops. *Annals of Applied Biology* **66**, 485–496.

Fabre F, Plantegenest M, Mieuzet L, Dedryver CA, Leterrier JL, Jacquot E, 2005. Effects of climate and land use on the occurrence of viruliferous aphids and the epidemiology of barley yellow dwarf disease. *Agriculture Ecosystems & Environment* **106**, 49–55.

Gal-On A, Kaplan I, Roossinck MJ, Palukaitis P, 1994. The kinetics of infection of zucchini squash by cucumber mosaic virus indicate a function for RNA 1 in virus movement. *Virology* **205**, 280–289.

García-Marcos A, Pacheco R, Martiáñez J, González-Jara P, Díaz-Ruíz JR, Tenllado F, 2009. Transcriptional changes and oxidative stress associated with the synergistic interaction between Potato virus X and Potato virus Y and their relationship with symptom expression. *Molecular plant-microbe interactions: MPMI* **22**, 1431–1444.

Gourmet C, Kolb FL, Smyth CA, Pedersen WL, 1996. Use of imidacloprid as a seed-treatment insecticide to control barley yellow dwarf virus (BYDV) in oat and wheat. *Plant Disease* **80**, 136–141.

Gray SM, 1991. Aphid transmission of Barley yellow dwarf virus: acquisition access periods and virus concentration requirements. *Phytopathology* **81**, 539.

Gutiérrez S, Yvon M, Thébaud G, Monsion B, Michalakis Y, Blanc S, 2010. Dynamics of the multiplicity of cellular infection in a plant virus. *PLOS Pathogens* **6**, e1001113.

Hall GS, Little DP, 2013. Within-host competition between barley yellow dwarf-PAV and -PAS. *Virus Research* **174**, 148–151.

Hibino H, Roechan M, Sudarisman S, 1978. Association of two types of virus particles with penyakit habang (tungro disease) of rice in Indonesia. *Phytopathology* **68**, 1412–1416.

Holm S, 1979. A simple sequentially rejective multiple test procedure. *Scandinavian Journal of Statistics* **6**, 65–70.

Hothorn T, Brek F, Westfall P, 2008. Simultaneous inference in general parametric models. *Biometrical Journal* **50**, 346–363.

Ingwell LL, Eigenbrode SD, Bosque-Perez NA, 2012. Plant viruses alter insect behavior to enhance their spread. *Scientific Reports* **2**, 578.

Irwin ME, Thresh JM, 1990. Epidemiology of barley yellow dwarf: a study in ecological complexity. *Annual Review of Phytopathology* **28**, 393–424.

Jarošová J, Ripl J, Fousek J, Kundu JK, 2018. TaqMan multiplex real-time qPCR assays for the detection and quantification of Barley yellow dwarf virus, Wheat dwarf virus and Wheat streak mosaic virus and the study of their interactions. *Crop and Pasture Science* **69**, 765.

Khelifa M, Massé D, Blanc S, Drucker M, 2010. Evaluation of the minimal replication time of Cauliflower mosaic virus in different hosts. *Virology* **396**, 238–245.

Köklü G, Ramsell JNE, Kvarnheden A, 2007. The complete genome sequence for a Turkish isolate of Wheat dwarf virus (WDV) from barley confirms the presence of two distinct WDV strains. *Virus Genes* **34**, 359–366.

Kreuze JF, Perez A, Untiveros M *et al.*, 2009. Complete viral genome sequence and discovery of novel viruses by deep sequencing of small RNAs: A generic method for diagnosis, discovery and sequencing of viruses. *Virology* **388**, 1–7.

Labonne G, Fauvel C, Leclant F, Quiot J-B, 1982. Description d'un piège à succion : son emploi dans la recherche des aphides vecteurs de virus transmis sur le mode non persistant. *Agronomie* **2**, 773–776.

Labonne G, Lauriaut F, Quiot J, 1989. Comparaison de trois types de pieges pour l'echantillonage des populations de pucerons ailes. *Agronomie 6 (9), 547-557. (1989)*.

Lapierre H, Signoret P-A, 2004. *Viruses and virus diseases of Poaceae (Gramineae)*. Editions Quae.

Leclercq-Le Quillec F, Plantegenest M, Riault G, Dedryver CA, 2000. Analyzing and modeling temporal disease progress of Barley yellow dwarf virus serotypes in barley fields. *Phytopathology* **90**, 860–866.

Li S, Wang H, Zhou G, 2014. Synergism between Southern rice black-streaked dwarf virus and Rice ragged stunt virus enhances their insect vector acquisition. *Phytopathology* **104**, 794–799.

Li LH, Zheng DS, Yang XM, Li XQ, Liu SC, Song CH, 1998. Diversity evaluation of wheat germplasm resources in China. *Genetic Resources and Crop Evolution* **45**, 167–172.

Lindblad M, Sigvald R, 2004. Temporal spread of Wheat dwarf virus and mature plant resistance in winter wheat. *Crop Protection* **23**, 229–234.

Lindblad M, Waern P, 2002. Correlation of wheat dwarf incidence to winter wheat cultivation practices. *Agriculture Ecosystems & Environment* **92**, 115–122.

Lindsten K, Lindsten B, 1999. Wheat dwarf - an old disease with new outbreaks in Sweden. *Zeitschrift Fur Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection* **106**, 325–332.

Lister RM, Ranieri R, 1995. Distribution and economic importance of barley yellow dwarf. *Barley yellow dwarf* **40**, 29–53.

Makkouk KM, Comeau A, 1994. Evaluation of various methods for the detection of Barley yellow dwarf virus by the tissue-blot immunoassay and its use for virus detection in cereals inoculated at different growth stages. *European Journal of Plant Pathology* **100**, 71–80.

Manurung B, Witsack W, Mehner S, Gruntzig M, Fuchs E, 2005. Studies on biology and population dynamics of the leafhopper Psammotettix alienus Dahlb. (Homoptera : Auchenorrhyncha) as vector of Wheat dwarf virus (WDV) in Saxony-Anhalt, Germany. *Zeitschrift Fur Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection* **112**, 497–507.

Marchetto KM, Power AG, 2018. Coinfection timing drives host population dynamics through changes in virulence. *American Naturalist* **191**, 173–183.

Mayo M, Ryabov E, Fraser G, Taliansky M, 2000. Mechanical transmission of Potato leafroll virus. *Journal of General Virology* **81**, 2791–2795.

McPherson RM, Brann DE, 1983. Seasonal abundance and species composition of aphids (Homoptera: Aphididae) in virginia small grains. *Journal of Economic Entomology* **76**, 272–274.

Mehner S, Manurung B, Gruntzig M, Habekuss A, Witsack W, Fuchs E, 2003. Investigations into the ecology of the Wheat dwarf virus (WDV) in Saxony-Anhalt, Germany. *Zeitschrift Fur Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection* **110**, 313–323.

Michelson S, Alcami J, Kim S *et al.*, 1994. Human Cytomegalovirus-Infection Induces Transcription and Secretion of Transforming Growth-Factor-Beta-1. *Journal of Virology* **68**, 5730–5737.

Oswald JW, Houston BE, 1953. The yellow-dwarf virus disease of cereal crops. *Phytopathology* **43**, 128–136.

Parizipour MHG, Behjatnia S a. A, Afsharifar A, Izadpanah K, 2016. Natural hosts and efficiency of leafhopper vector in transmission of Wheat Dwarf Virus. *Journal of Plant Pathology* **98**, 483–492.

Péréfarres F, Thébaud G, Lefeuvre P *et al.*, 2014. Frequency-dependent assistance as a way out of competitive exclusion between two strains of an emerging virus. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **281**.

Perry JN, 1998. Measures of Spatial Pattern for Counts. *Ecology* **79**, 1008–1017.

Power AG, Flecker AS, 2003. Virus Specificity in Disease Systems: Are Species Redundant? In: Kareiva P,, Levin S, eds. *The importance of species. Perspectives on expendability and triage.* 330–351.

Power A, Seaman A, Gray S, 1991. Aphid Transmission of Barley Yellow Dwarf Virus - Inoculation Access Periods and Epidemiologic Implications. *Phytopathology* **81**, 545–548.

R Development Core Team, 2019. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.

Ripl J, Kundu JK, 2015. Cynosurus Cristatus, a new host of Wheat dwarf virus in the Czech Republic. *Journal of Plant Pathology* **97**, 547–547.

Rodrigo G, Zwart MP, Elena SF, 2014. Onset of virus systemic infection in plants is determined by speed of cell-to-cell movement and number of primary infection foci. *Journal of the Royal Society Interface* **11**.

Ryabov EV, Fraser G, Mayo MA, Barker H, Taliansky M, 2001. Umbravirus Gene Expression Helps Potato leafroll virus to Invade Mesophyll Tissues and to be Transmitted Mechanically between Plants. *Virology* **286**, 363–372.

Seabloom EW, Borer ET, Mitchell CE, Power AG, 2010. Viral diversity and prevalence gradients in North American Pacific coast grasslands. *Ecology* **91**, 721–732.

Seabloom EW, Hosseini PR, Power AG, Borer ET, 2009. Diversity and composition of viral communities: coinfection of barley and cereal yellow dwarf viruses in California grasslands. *American Naturalist* **173**.

Širlová L, Vacke J, Chaloupková M, 2010. Reaction of selected winter wheat varieties to autumnal infection with Wheat dwarf virus. *Plant Protection Science* **41**, 1–7.

Sofonea MT, Alizon S, Michalakis Y, 2017. Exposing the diversity of multiple infection patterns. *Journal of Theoretical Biology* **419**, 278–289.

Spitsin S, Drobyshevskaya E, Barkhatova O, Belyi Y, Tartakovsky I, Nesterenko V, 1991. Induction of the Immune-Response to Legionella-Pneumophila Cytolysin by Monoclonal Antiidiotypic Antibodies. *Journal of Immunology* **147**, 2001–2005.

Sta Cruz FC, Hull R, Azzam O, 2003. Changes in level of virus accumulation and incidence of infection are critical in the characterization of Rice tungro bacilliform virus (RTBV) resistance in rice. *Archives of Virology* **148**, 1465–1483.

Syller J, 2012. Facilitative and antagonistic interactions between plant viruses in mixed infections. *Molecular Plant Pathology* **13**, 204–216.

Syller J, Grupa A, 2016. Antagonistic within-host interactions between plant viruses: molecular basis and impact on viral and host fitness. *Molecular Plant Pathology* **17**, 769–782.

Vacke J, 1972. Host plants range and symptoms of Wheat dwarf virus. *Věd Pr Výz Ústavú Rostl Výroby Praha-Ruzyně* **17**, 151–162.

Voinnet O, Vain P, Angell S, Baulcombe DC, 1998. Systemic spread of sequence-specific transgene RNA degradation in plants is initiated by localized introduction of ectopic promoterless DNA. *Cell* **95**, 177–187.

Wang Y, Lee KC, Gaba V, Wong SM, Palukaitis P, Gal-On A, 2004. Breakage of resistance to Cucumber mosaic virus by co-infection with Zucchini yellow mosaic virus: enhancement of CMV accumulation independent of symptom expression. *Archives of Virology* **149**, 379–396.

Wang Y, Mao Q, Liu W *et al.*, 2014. Localization and distribution of *Wheat dwarf virus* in its vector leafhopper, *Psammotettix alienus*. *Phytopathology* **104**, 897–904.

Wintermantel WM, Cortez AA, Anchieta AG, Gulati-Sakhuja A, Hladky LL, 2008. Co-infection by two criniviruses alters accumulation of each virus in a host-specific manner and influences efficiency of virus transmission. *Phytopathology* **98**, 1340–1345.

Yattara AAA, Francis F, 2013. Impact des méthodes de piégeage sur l'efficacité de surveillance des pucerons: illustration dans les champs de pommes de terre en Belgique. *Entomologie Faunistique*.

Table 1. Characteristics of the sequential inoculation (SIP) and coinoculation (CIP) experiments.

Procedure	SIP		CIP
	First vector	Second vector	Vectors
A/vL	Aphid	v. leafhoppers	
L/vA	Leafhoppers	v. aphid	
vA/vL	v. aphid	v. leafhoppers	
vA/X	v. aphid	X	
vL/vA	v. leafhoppers	v. aphid	
vL/X	v. leafhoppers	X	
X/vA	X	v. aphid	
X/vL	X	v. leafhoppers	
vA&vL			v. aphid & v.leafhoppers
vA&L			v. aphid & leafhoppers
A&vL			aphid & v. leafhoppers

A: virus-free aphid; L: virus-free leafhoppers, vA: viruliferous aphid (noted v. aphid), vL: viruliferous leafhoppers (noted v. leafhoppers); X: no vector

Table 2. Assignment of coinoculated plants from SIP and CIP in groups

Procedure		Plant sanitary status		Group
		BYDV-PAV	WDV-Bar	
SIP	vA/vL	+	+	vA^+/vL
		-	+	vA^-/vL
	vL/vA	+	+	vL^+/vA
		+	-	vL^-/vA
CIP	vA&vL	+	+	$vA^+\&vL^+$
		+	-	$vA^+\&vL^-$
		-	+	$vA^-\&vL^+$

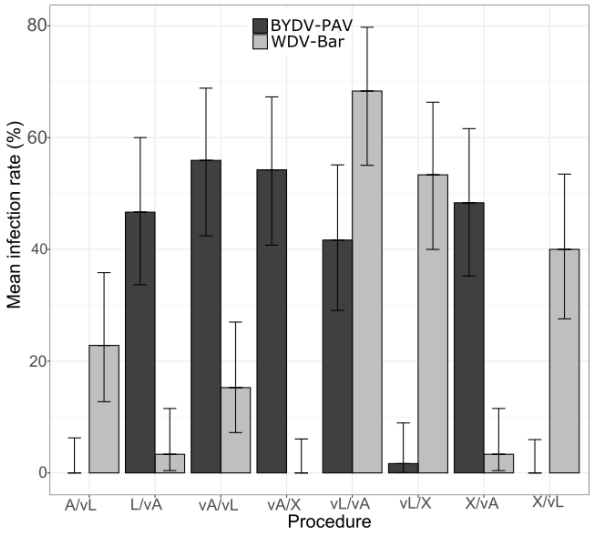


Figure 1. BYDV-PAV and WDV-Bar infection rates in sequential inoculation procedures (SIP). A: virus-free aphid; L: virus-free leafhoppers; vA: viruliferous aphid; vL: viruliferous leafhoppers; X: no vector. Procedures were named according to first/second inoculation steps. For each procedure, a set of 20 plants were inoculated. The whole SIP experiment was repeated three times. Black bars correspond to 95% confidence intervals.

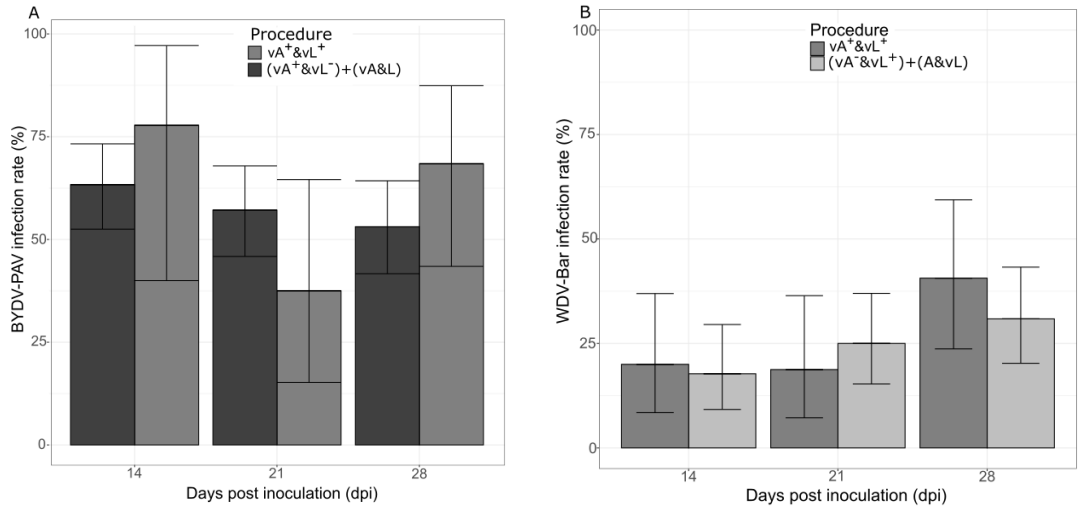


Figure 2. BYDV-PAV (A) and WDV-Bar (B) infection rates from coinoculation procedures (CIP). $vA^{+}\&vL^{+}$: coinfection rates from vA&vL procedure; $(vA^{+}\&vL^{-})$+(vA&L): BYDV-PAV single infection rates from vA&vL procedure; $(vA^{-}\&vL^{+})$+(A&vL): WDV-Bar single infection rates from vA&vL procedure. Inoculation procedures were repeated 4 times on sets of 10 plants (single inoculations) or 15 plants (coinoculations). Black bars correspond to 95% confidence intervals.

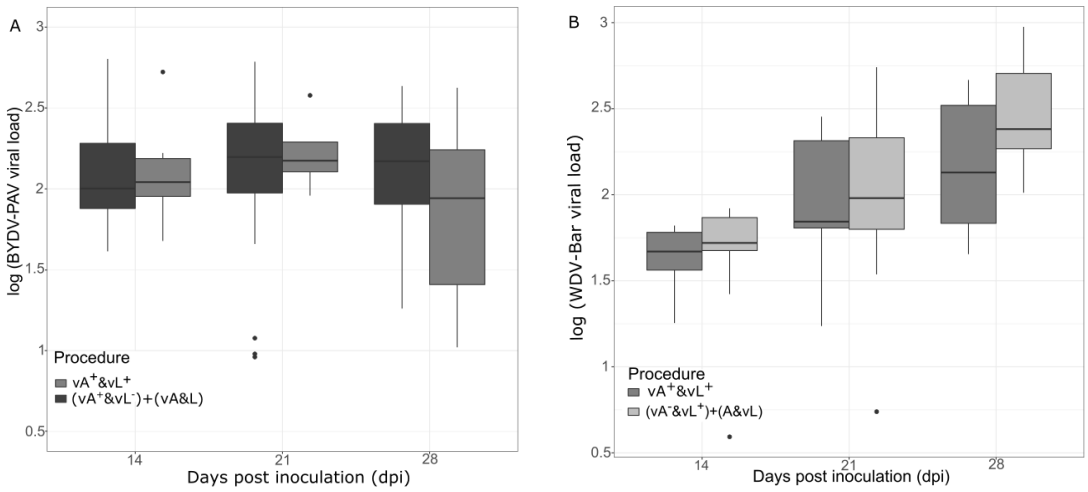


Figure 3. Boxplot analysis of log transformation of BYDV-PAV (A) and WDV-Bar (B) viral loads in infected plants from CIP procedures. $vA^{+}\&vL^{+}$: coinfected plants from vA&vL procedure; $vA^{+}\&vL^{-}$: BYDV-PAV single infected plants from vA&vL and vA&L procedures; $vA^{-}\&vL^{+}$: WDV-Bar single infected plants from vA&vL and A&vL procedures. Inoculation procedures were repeated 4 times on sets of 10 plants (single inoculations) or 15 plants (coinoculations). Black bars correspond to 95% confidence intervals. Horizontal bold lines the medians, limits of the box the first and the third quartiles (Q1 and Q3, respectively). Lower and upper whisker's length corresponds to the value of the lowest (respectively highest) value – (respectively +) 1.5 times the length of the box. Dots represent outliers

Table S1. Pairwise comparisons between WDV-Bar infection rates from SIP

Pairwise comparisons		p-value
Procedure 1	Procedure 2	
A/vL	vA/vL	0.829 ^{ns}
	vL/vA	<0.001 ***
	vL/X	0.009 **
	X/vL	0.287 ^{ns}
vA/vL	vL/vA	<0.001 ***
	vL/X	<0.001 ***
	X/vL	0.028 *
vL/vA	vL/X	0.443 ^{ns}
	X/vL	0.018 *
vL/X	X/vL	0.582 ^{ns}
vA^{+}/vL	$(vA^{-}/vL)+(A/vL)$	0.334 ^{ns}
	(vL/vA)+(vL/X)	<0.001 ***
	X/vL	0.019 *
$(vA^{-}/vL)+(A/vL)$	(vL/vA)+(vL/X)	<0.001 ***
	X/vL	0.120 ^{ns}
(vL/vA)+(vL/X)	X/vL	0.040 *

Statistical significance: ^{ns}: not significant, *: p<0.05, **: p<0.01, ***: p<0.001

Table S2. Comparison of infection rates and virus loads from single and co-infected plants of CIP

Groups	dai	Infection rate		Viral load	
		BYDV-PAV	WDV-Bar	BYDV-PAV	WDV-Bar
$vA^+\&vL^+$ vs $(vA^+\&vL^-)+(vA\&L)$	14	0.952	-	1	-
	21	0.686	-	0.996	-
	28	0.818	-	0.220	-
	All	0.342	-	0.787	-
$vA^+\&vL^+$ vs $(vA^-\&vL^+)+(A\&vL)$	14	-	1	-	1
	21	-	0.983	-	0.999
	28	-	0.973	-	0.409
	All	-	0.831	-	1

vs: versus, All: analyses carried out with the full data set. $vA^+\&vL^+$: coinfections from vA&vL procedure; $vA^+\&vL^-$: BYDV-PAV single infections from vA&vL or from vA&L procedures ; $vA^-\&vL^+$: WDV-Bar single infections from vA&vL or from A&vL procedures. Inoculation procedures were repeated 4 times on sets of 10 plants (single inoculations) or 15 plants (coinoculations). Chi-squared were performed

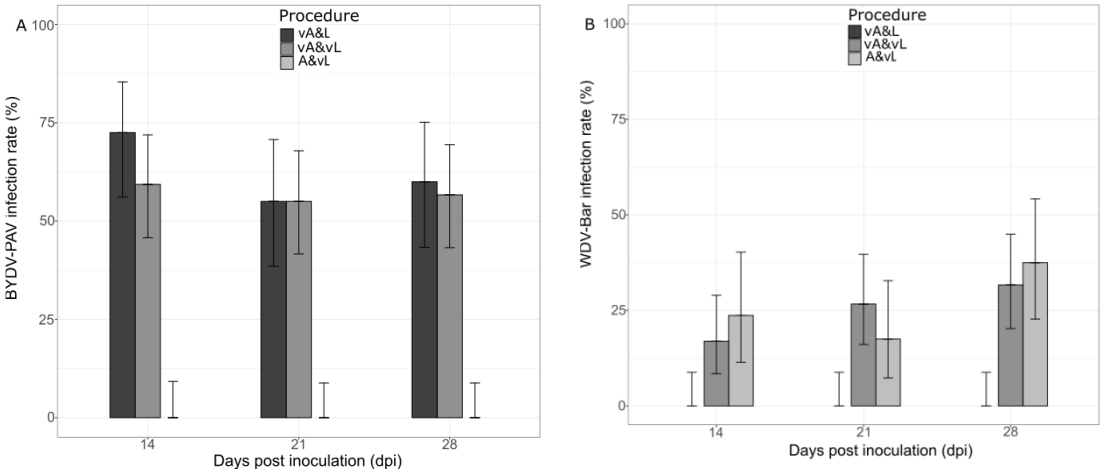


Figure S1. BYDV-PAV (A) and WDV-Bar (B) infection rates in coinoculation procedures (CIP). vA&L: BYDV-PAV single inoculation procedure; vA&vL: coinoculation procedure; A&vL: WDV-Bar single inoculation procedure. Each procedure was repeated 4 times on sets of 10 plants per dpi (single inoculations) or on sets on 15 plants (coinoculations). Black bars correspond to 95% confidence intervals.

3. Discussion générale

3.1. Importance du compartiment sauvage dans les épidémies virales

Les paysages agricoles sont constitués de zones cultivées et de zones sauvages. Les zones cultivées sont composées d'espèces semées par l'homme sur lesquelles il réalise de nombreuses interventions techniques (utilisation de matière active contre les ravageurs, engrais) (Burdon & Thrall, 2008). A l'inverse, les zones sauvages désignent les plantes sur lesquelles il n'y a pas d'intervention humaine directe (Alexander *et al.*, 2013). L'importance du compartiment sauvage dans les épidémies virales a souvent été débattue.

Bien que de nombreux travaux aient étudié la gamme d'hôtes sauvages des virus infectant les cultures, surtout lorsque ceux-ci sont responsables de pertes majeures dans les cultures (e.g. (Watson & Mulligan, 1960; Konate & Traore, 1992; Mehner *et al.*, 2003; Stobbs *et al.*, 2005; Kaliciak & Syller, 2009), les premiers modèles utilisés pour prédire la propagation des épidémies étaient paradoxalement basés sur la présence d'un seul type d'hôte, généralement cultivé (Anderson & May, 1992). Des modèles plus récents ont cependant commencé à rechercher le rôle d'autres populations (Haydon *et al.*, 2002; Caron *et al.*, 2015), parmi lesquelles, les populations d'hôtes sauvages. Ces modèles paraissent plus adaptés à l'étude des processus de dispersion des épidémies virales, la majeure partie des virus ayant plusieurs hôtes végétaux (Power & Flecker, 2003).

Parmi les rôles possibles du compartiment sauvage dans les épidémies, celui de population de maintien pour les virus est probablement le plus étudié. Certains des hôtes sauvages étant des espèces pérennes, ils peuvent persister plusieurs années dans le paysage et constituer une population de maintien importante en l'absence des cultures. Ce rôle de réservoir n'a cependant pas été mis en évidence pour les principales maladies virales des hôtes cultivés pérennes. Les raisons sont multiples, la gamme d'hôte du virus peut être très restreinte autour des espèces cultivées (cas du *Citrus tristeza virus* (Cambra *et al.*, 2000; Folimonova *et al.*, 2008) ou alors le nombre d'infections dans le compartiment sauvage peut être très faible et son apport est négligeable par rapport à celui du compartiment cultivé dans lequel les hôtes cultivés persistent plusieurs années (cas du *Plum pox virus* (Stobbs *et al.*, 2005; Subr & Glasa, 2013) et du *Gravepine leafroll associated virus* (Meng *et al.*, 2017). La surface foliaire des vignes et des arbres est d'ailleurs souvent bien supérieure à celles des hôtes sauvages ce qui tend à favoriser leur choix par les vecteurs (Llácer, 2006). Cette observation est plus contrastée lorsque la population cultivée a un rôle annuel et est absente du paysage durant l'interculture (Zhang & Holt, 2001). Dans certains cas, comme pour le *Tomato yellow leaf curl virus*, le compartiment sauvage peut effectivement avoir un rôle de maintien mais ce rôle est parfois

majoritairement tenu par une culture de la même espèce présente toute l'année (Picó *et al.*, 1996). Dans le cas du *Potato virus Y*, les plantes sauvages peuvent être infectées de manière très occasionnelle, la majorité des infections dans les pommes de terre étant généralement issue des repousses ou de l'utilisation de tubercules infectées (Loebenstein *et al.*, 2001). Certaines études font état d'une forte prévalence virale dans les plantes du compartiment sauvage alors que les épidémies dans les hôtes cultivés n'apparaissent que de manière très occasionnelle, comme dans le cas du *Maize streak virus* (Martin & Shepherd, 2009). Les populations sauvages peuvent donc constituer une population de maintien importante lorsque la population cible est annuelle, comme c'est le cas pour les céréales, mais ce rôle n'est pas systématique comme l'indique la notion de CULPAD et de WILPAD dans la littérature (Harrison, 1981).

Dans le cas des virus exclusivement transmis par vecteurs, le compartiment sauvage peut également avoir un rôle de réservoir de vecteurs. Le retrait des hôtes cultivés impose en effet aux vecteurs de trouver une autre source de nourriture pendant l'interculture. Ce rôle a déjà été décrit dans plusieurs études précédentes, comme dans le cas du *Potato virus Y* (Kirchner *et al.*, 2011), du *Wheat dwarf virus* (Lindblad & Waern, 2002) ou encore du *Wheat streak mosaic virus* (Coutts *et al.*, 2008). Ce rôle n'est cependant possible que si le vecteur est capable de se nourrir sur les deux types de compartiments ce qui n'est pas toujours le cas (Vialatte *et al.*, 2005). Dans ce cas le compartiment sauvage permet le maintien de l'épidémie en favorisant la dynamique de population des vecteurs.

Le compartiment sauvage peut donc avoir un double rôle dans les épidémies de virus exclusivement transmis par vecteurs, en maintenant à la fois les virus et les vecteurs en l'absence de la population cible.

3.2. Analyse des faibles prévalences mesurées dans le paysage

Les prévalences des B/CYDV mesurées dans le compartiment sauvage dans les travaux antérieurs faisant aussi appel à l'ELISA comme outil de diagnostic sont globalement très variables entre travaux, la majorité se situant entre 10 et 50% : 18% en France (Henry & Dedryver, 1991), 11% en Lettonie (Bisnieks *et al.*, 2006), 9% en Australie (Guy *et al.*, 1986), et 21% (Griesbach *et al.*, 1990; Seabloom *et al.*, 2010), 43% (Ingwell *et al.*, 2017) ou 50% (Fargette & Lister, 1982) aux USA. La seule étude analysant la prévalence du WDV dans les espèces sauvages a mesuré une prévalence de 48%. Cette étude est cependant basée sur des échantillons prélevés au sein des parcelles où le nombre de plantes infectés environnantes est potentiellement beaucoup plus important (Parizipour *et al.*, 2016). Notre étude ayant été réalisée dans le compartiment sauvage dans lequel les sources virales sont souvent plus rares, la différence entre les prévalences semble relativement attendue, dans la mesure où la pression des pathogènes n'est pas comparable.

En pratique, moins de 5% des plantes sauvages testées sont infectées par les B/CYDV alors que la prévalence du WDV est inférieure au seuil de résolution du test (0.61% dans notre cas). La présence de ce seuil ne nous permet pas de déclarer le WDV comme absent du prélèvement. Dans tous les cas les prévalences mesurées (Figure 16, flèches rouges et vertes en traits plein, dans la moitié supérieure du schéma) sont très éloignées de celles qui aurait pu être obtenues en tenant compte de la taille de la population de plantes hôtes (Figure 16, flèches rouges en pointillés, dans la moitié supérieure du schéma). Il apparait tout de même surprenant qu'aucune des feuilles testées parmi les 555 prélevées au printemps 2017 sur des plantes hôtes du WDV ne soit infectée. Le cas de *Poa trivialis,* hôte pérenne du WDV qui aurait pu être infecté les années précédentes, soulève plusieurs interrogations. Cette observation est d'autant plus étonnante que le site d'Annoix a été choisi pour positionner cette étude parce qu'il a été identifié comme soumis à des pressions virales importantes (Bayer Crop Science, suivi réalisé sur la période 2011-2017).

Plusieurs facteurs biotiques (nombre d'espèces et de plantes hôtes, sensibilité des espèces aux infections virales, cycle de vie des espèces, populations de vecteurs) ou technique (anticorps utilisé) pourraient expliquer ces faibles prévalences et les différences observées entre les prévalences mesurées dans notre étude et dans celles d'autres auteurs. Certains de ces facteurs, notamment l'anticorps utilisé (qui semble être une explication trop légère pour justifier de l'ampleur des différences observées) ou le nombre d'espèces et de plantes hôtes (très nombreuses dans le paysage) ne semblent pas être de bons arguments pour expliquer le faible nombre de plantes infectées par les B/CYDV et le WDV (voire son absence du prélèvement). En effet, parmi les 24 espèces végétales prélevées (pour un total de 4562 échantillons) sur le paysage d'Annoix, 16 (dont les individus représentent 88% des échantillons prélevées) ont pu être testées dans les deux procédures (Annoix et en inoculations en conditions contrôlées). Parmi ces espèces, 11 (78% des effectifs prélevés) ont été infectées par le BYDV-PAV, BYDV-MAV ou le CYDV-RPV et 4 (12% des effectifs prélevés) ont pu être infectées par le WDV, au moins une fois lors de l'une ou l'autre des procédures. Les populations d'hôtes susceptibles d'être infectées par ces virus (notamment par les B/CYDV) sont bien présentes dans le paysage. Si l'ensemble de ces populations étaient infecté, des prévalences très importantes, potentiellement supérieures à celles mesurées dans les études précédentes (dans le cas des B/CYDV) auraient pu être mesurées (Figure 16, flèches rouges en pointillés, moitié supérieure du schéma).

D'autres facteurs semblent plus pertinents pour expliquer les faibles prévalences virales mesurées. La faible sensibilité de la majorité des espèces sauvages identifiées à Annoix aux infections par ces virus en conditions contrôlées, surtout lorsqu'elles sont comparées aux 75-88% obtenus pour les variétés de blé et d'orge testées dans les mêmes conditions, pourrait en revanche constituer une

piste intéressante pour expliquer les faibles prévalences mesurées (Figure 16, espèces peu sensibles). D'autres études font en effet état de plusieurs espèces très facilement infectées par les B/CYDV (e.g 25/45 (56%) *Phalaris arundinacea* et 123/185 (66%) d'*Arrhenatherum elatius* (Ingwell *et al.*, 2017)). Ce n'est pas le cas de notre étude dans laquelle les hôtes les plus facilement infectés en conditions contrôlées (*Alopecurus myosuroides, Poa annua* et *Eragrostis minor* uniquement infecté par le BYDV-PAV) n'ont été que peu présents dans le prélèvement réalisé en avril 2017 (36 individus en tout). Cet argument reste à relativiser, la sensibilité des espèces à l'infection n'ayant été testée qu'à l'aide d'un seul couple isolat viral – espèce vectrice en conditions contrôlées alors que d'autres pourraient exister dans le paysage. Les populations de vecteurs virulifères, éléments essentiels du cycle épidémiques ont pu être moins nombreuses dans cette étude que dans d'autres études qui ont décrit de larges populations de vecteurs (Raatikainen & Vasarainen, 1973; Dedryver & Tanguy, 1984). Dans notre cas, aucune cicadelle *Psammotettix alienus* n'a ainsi été piégée sur plaque jaune durant le printemps 2017. Cet argument reste toutefois à relativiser, l'effort de piégeage étant parfois irrégulier et l'intégralité des pièges étant disposée dans les parcelles et non dans le compartiment sauvage, ce qui ne permet pas d'avoir des informations sur les populations de vecteurs dans le compartiment sauvage. Cela reflète tout de même une année pauvre en vecteurs (Figure 16, année pauvre en vecteurs).

Bien que ces facteurs constituent des pistes intéressantes pour expliquer les faibles prévalences obtenues il est difficile d'attribuer une importance relative à chacun d'eux pour expliquer les faibles prévalences obtenues. D'autres facteurs (e.g. cycle de vie des plantes prélevées, compartiment cultivé peu infecté) pourraient également avoir une importance et pourraient être testés dans de futures études.

3.3. Etude de la gamme d'hôtes en conditions contrôlées et en plein champ

De manière plus générale, l'identification de la population sensible consiste à déterminer le nombre de plantes que les virus peuvent infecter. Ce nombre de plantes correspond au nombre d'individus de chaque espèce sensible. L'étude des gammes d'hôtes de ces virus est donc indispensable pour pouvoir estimer la taille de la population sensible.

Les études précédentes ont permis de détecter les B/CYDV dans plus de 150 hôtes et le WDV dans 21 hôtes. Au total, 15 des 32 espèces testées pendant ma thèse ont été infectées par les B/CYDV, et 5 sur 28 par le WDV. Nous avons ainsi identifié 3 nouvelles espèces hôtes du BYDV-PAV (*Alopecurus myosuroides, Eragrostis minor, Setaria verticiliata*) et 3 nouvelles espèces hôtes pour le WDV (*Alopecurus myosuroides, Poa trivialis* et *Setaria viridis*). Ces hôtes représentent une

augmentation de 2% et de 15% du nombre d'espèces hôtes de ces virus, respectivement, et pourraient constituer une augmentation importante de la population cible dans certains cas.

Aucune des espèces infectées par le BYDV-PAV et le WDV en conditions contrôlées n'a été infectée par ces virus dans le paysage d'Annoix. Réciproquement, *Poa pratensis*, fortement infecté par le BYDV-PAV/MAV dans le prélèvement d'Annoix (12.5% de prévalence) n'a pas été infecté par le BYDV-PAV pendant les inoculations en conditions contrôlées. Au-delà de montrer l'intérêt d'utiliser ces approches pour leur complémentarité, ces résultats peuvent paraître surprenants. L'absence de virus dans le paysage dans des espèces qui ont été infectées en conditions contrôlées peut s'expliquer par l'absence d'inoculation de ces dernières par des vecteurs virulifères. Cette explication semble cohérente avec les faibles populations de vecteurs piégés à Annoix. L'absence d'infection de *Poa pratensis* en conditions contrôlées alors que cette espèce est infectée dans le prélèvement à Annoix peut s'expliquer par une différence d'exposition entre les deux expérimentations (Figure 16, différences d'expositions). Ces différences d'expositions pourraient intervenir au niveau du vecteur (seul *Rhopalosiphum padi* a été testée en conditions contrôlées alors que d'autres espèces vectrices (*Sitobion avenae, Methopolophium dirrhodum)* ont également été identifiées dans le paysage et auraient pu réaliser l'infection. Une différence entre les espèces virales identifiées est également possible (BYDV-PAV dans le cas des inoculations en conditions contrôlées, BYDV-PAV ou BYDV-MAV sur le terrain, l'anticorps de diagnostic étant polyclonal, la détermination de l'espèce n'est pas disponible). Lors de l'étude d'un pathosystème complexe (plusieurs vecteurs, plusieurs virus), l'utilisation de plusieurs approches permet donc d'avoir un meilleur aperçu de la taille des populations sensibles aux virus.

3.4 Facteurs explicatifs de la répartition des infections à Annoix

Aucun des facteurs liés à la biologie de l'hôte n'a permis d'expliquer la dispersion des B/CYDV dans le paysage alors que ces facteurs (tribu, cycle de vie) avaient une influence significative sur le taux d'infection par le BYDV-PAV. Ces facteurs ainsi que la stratégie photosynthétique avaient également une influence sur le taux d'infection par le WDW-W. La dispersion des épidémies de B/CYDV pourrait donc être liée à d'autres facteurs plus spécifiques comme ceux liés à l'écologie du paysage (nombre d'espèces, habitats étudiés) ou à la connectivité du paysage (structure physique, proximité phylogénétique des hôtes).

Les facteurs liés à l'écologie du paysage (diversité alpha (B/CYDV), diversité béta et habitat prospecté (BYDV-PAV/MAV)) ont une influence sur le taux d'infection des B/CYDV à Annoix. Même si les indices de diversité alpha n'ont pas tous une influence sur le taux d'infection par le CYDV-RPV, l'ensemble des indices ayant une influence significative s'oriente vers des prévalences plus élevées

des B/CYDV dans les habitats moins diversifiés, ce qui est cohérent avec les données de la littérature (Ingwell *et al.*, 2017) comme avec des théories plus générales (Keesing *et al.*, 2006; Alexander *et al.*, 2013; Fraile & García-Arenal, 2016). Cinq des sept espèces majoritaires identifiées sur le terrain ont d'ailleurs été infectées par les B/CYDV alors que seules 2 des 19 autres espèces (*Elymus caninus* et *Festuca rubra*) ont été infectées par ces virus. Cette observation pourrait confirmer en partie l'idée que les habitats peu diversifiés, contenant un petit nombre d'espèces serait plus infectés. Ces deux éléments (les prévalences élevés dans les habitats peu diversifiés et le faible nombre d'espèces rares infectées) suggèrent qu'une certaine spécificité des isolats ou plus vraisemblablement de clones de vecteurs pourrait s'être développée, favorisant les infections des habitats peu diversifiés (Figure 16, zones peu diversifiées plus infectées). Cette hypothèse reste à nuancer, le bruit généré par l'analyse rendant difficile la validation des individus infectés présents dans une espèce faiblement prélevée dans le paysage. D'autres prélèvements, réalisés sur plusieurs années pourraient permettre de suivre l'évolution des prévalences en fonction de la diversité végétale et permettraient de tester cette hypothèse.

3.5. Bilan sur le rôle du compartiment sauvage en tant que réservoir viral

Les plantes du compartiment sauvage peuvent constituer un réservoir pour les B/CYDV pendant la période d'interculture. La prévalence des B/CYDV dans le compartiment sauvage est limitée (moins de 5%) et pourrait suggérer un rôle limité du compartiment sauvage dans les épidémies de JNO dans les parcelles. Le lien entre les plantes infectées dans le paysage et les premières infections dans les parcelles reste également à démontrer. Cependant, les éléments disponibles sur l'initiation et la propagation des épidémies de JNO dans les parcelles suggèrent une part très limitée des infections primaires, la majorité des infections étant réalisées par des infections secondaires (Irwin & Thresh, 1990; Fabre *et al.*, 2005). Les prévalences observées, sous réserve de flux de vecteurs entre compartiments, pourraient donc suffire à initier les épidémies de JNO dans les parcelles lors des nouveaux cycles de culture.

Malgré l'effort de prospection, réalisée sur 12 sites et 3 types de zones, ayant conduit à l'analyse de plusieurs milliers d'échantillons, aucune plante issue du site d'Annoix n'a été infectée par le WDV. Ce résultat pourrait suggérer que le compartiment sauvage n'est pas impliqué dans les épidémies de maladie des pieds chétifs du blé, n'hébergeant pas le virus. Cette conclusion doit cependant prendre en compte les limites expérimentales (sondage partiel du compartiment d'Annoix) et techniques (imposés par la méthode de détection et le bruit généré par l'analyse) qui ne permettent pas de rejeter formellement la présence du WDV à une prévalence très faible. Le seuil de résolution aurait permis la détection d'un minimum de 32 feuilles infectées sur 1000 testées (après test de Student unidirectionnel). Dans notre cas, un nombre inférieur ou égal à 19 feuilles infectées

dans les 4 espèces hôtes identifiées (*Alopecurus myosuroides, Bromus hordeaceus, Poa annua, Poa trivialis*) serait considéré comme une absence dans les plantes du prélèvement. Ces prévalences restent dans tous les cas extrêmement faibles et questionnent cependant sur le rôle du compartiment dans les épidémies de pieds chétifs.

Le WDV est cependant fréquemment détecté dans les parcelles (e.g en 2013, 2015), malgré son absence des hôtes pérennes prélevés. Cette observation suggère la présence d'autres types de réservoirs (e.g. repousses) ou d'une partie du paysage qui puisse servir de réservoir aux virus et aux vecteurs. En l'absence d'éléments permettant d'identifier ce type de zone(s) dans l'environnement proche de notre site d'étude, il convient de considérer que le WDV est probablement absent des zones étudiées (Figure 16, flèches vertes en trait plein dans la partie inférieure de la figure). Cette hypothèse est soutenue par le très faible nombre d'espèces infectées par le WDV en conditions contrôlées (seulement 4 espèces pour la souche blé et seulement 2 pour la souche orge parmi les espèces identifiées sur le terrain).

Le compartiment sauvage pourrait avoir un autre rôle dans le cycle épidémique des B/CYDV et du WDV, celui de population alternative ou de maintien pour les vecteurs (Figure 16, réservoir de vecteurs) (Haydon *et al.*, 2002). Les plantes du compartiment sauvage pourraient également ne pas jouer de rôle dans les épidémies de viroses des céréales.

3.6. Rôles alternatifs du compartiment sauvage dans les épidémies virales

A défaut du rôle de réservoir viral, les plantes du compartiment pourraient servir de population de maintien aux vecteurs, permettant la survie de ces derniers en l'absence des plantes du compartiment cultivé (Raatikainen & Vasarainen, 1973; Dedryver *et al.*, 2002; Lindblad & Waern, 2002). Les données générées dans ce travail semblent confirmer cette possibilité, avec des taux de survie important chez les vecteurs sur les plantes sauvages, proches de 70%. Ce taux reste un peu inférieur à celui obtenu sur plantes cultivées (autour de 90%) mais semble pouvoir permettre le développement et le maintien des populations d'insectes sur le long terme. Ces observations ne sont pas généralisables à tous les clones de pucerons ou biotypes de cicadelles (Vialatte *et al.*, 2005) mais indiquent au minimum que le clone/biotype testé peut survivre sur les plantes sauvages, malgré sa capture et son élevage sur céréales. Les plantes sauvages auraient un rôle dans l'épidémiologie de ces virus en permettant la survie des vecteurs mais ce rôle serait plus indirect que celui de population de maintien des virus. Ce rôle de maintien des populations de vecteurs n'est cependant pas spécifique aux plantes du compartiment sauvage, d'autres compartiments (repousses, culture dérobée) pourraient également contribuer au maintien des populations de vecteurs en l'absence des céréales. L'homme intervient cependant plus souvent sur ces populations qui ont de plus une durée

de vie généralement limitée (utilisation d'herbicides ou enfouissement de la culture), ce qui rend le compartiment sauvage, moins travaillé, plus indiqué pour ce rôle.

Dans la plupart des pathosystèmes, l'arrachage des adventices et des repousses est une des mesures recommandées pour limiter la progression des épidémies, supprimant le réservoir de vecteur et de virus. Ces pratiques permettent généralement de limiter la propagation de l'épidémie (Harrison, 1981; Lindblad & Waern, 2002; Wisler & Norris, 2005). Cependant dans le cas où les hôtes sauvages ne participeraient pas (directement ou indirectement) au cycle de la maladie mais pourraient être infestées par les vecteurs, cette pratique peut avoir des conséquences négatives sur l'épidémiologie de ces virus dans le compartiment cultivé. La diminution du nombre d'hôtes alternatifs dans le paysage, contraint le vecteur à s'orienter vers les cultures (Maramorosch & Harris, 1981), augmentant le facteur d'exposition de ces dernières. Dans certains cas, les prévalences virales mesurées dans les cultures peuvent varier du simple au triple dans les situations les plus extrêmes (Cooper & Harrison, 1973). Dans le cadre de notre étude, ces pratiques auraient sûrement un impact limité, le facteur d'exposition étant faible.

3.7. Possibilités de maintien du WDV-Bar dans les cultures d'orge

L'orge est une espèce de la population cible qui est un hôte commun au BYDV-PAV et au WDV-Bar. Notre étude montre qu'une infection préalable par le BYDV-PAV provoque une diminution du taux d'infection par le WDV-Bar (Figure 16, flèche rouge en trait plein remontant vers le pathosystème du WDV). Cette interaction pourrait limiter la dispersion du WDV-Bar dans les parcelles d'orge lorsque le BYDV-PAV est déjà fortement présent. Les éléments de biologie liée à la transmission des deux virus montrent une absence d'effet égalisateur entre ces deux virus (Chesson, 2000), plusieurs phénomènes anti-égalisateurs concernant les vecteurs et les hôtes étant même observés. Le BYDV-PAV possède davantage d'espèces vectrices que le WDV-Bar et leur temps de doublement de leurs populations est environ deux fois plus court, ce qui pourrait favoriser l'exposition de l'orge à ce virus. Le facteur de risque du BYDV-PAV pourrait lui aussi être plus important, le BYDV-PAV ayant d'une part davantage d'espèces hôtes identifiées dans le paysage d'Annoix (cette observation reste valable si on ne considère que les conditions contrôlées), et d'autre part un meilleur taux d'infection en laboratoire dans les espèces communes. D'autres études sur des modèles proches (compétition entre virus sur une population cible discontinue) ont fait état de l'exclusion d'une espèce virale par une autre dans un paysage à l'échelle de 20 ans ce qui pourrait être une issue dans notre cas, à long terme (Rochow, 1979; Zhang & Holt, 2001; Mordecai *et al.*, 2015). Ces études sont de surcroit basées sur une interaction négative réciproque là où l'inoculation du WDV-Bar dans l'orge ne semble pas affecter le cycle viral du BYDV-PAV dans notre cas. L'absence d'effet du WDV-Bar sur le BYDV-PAV pourrait favoriser son exclusion, car contrairement aux études

précédentes (Rochow, 1979; Zhang & Holt, 2001; Mordecai *et al.*, 2015), la propagation du virus le plus compétitif n'est pas limitée par celle de l'autre.

4. Perspectives

4.1. Autres réservoirs potentiels des virus de nanisme des céréales

Les B/CYDV ont été détectés dans le compartiment sauvage, confirmant le rôle de réservoir des espèces s'y trouvant. Cependant, cela n'exclut pas la présence d'autres populations de maintien dans le paysage, d'autant que le WDV n'a pas été détecté alors qu'il infecte les cultures situés autour de la parcelle d'Annoix. Ces populations pourraient se situer dans les parcelles (non prospectées dans cette étude), que ce soit les repousses, infectées dans le site d'Annoix en septembre 2017 (Bayer CropScience, données de terrain), les adventices (Burdon & Thrall, 2008; Alexander *et al.*, 2013) ou d'autres parcelles non récoltées comme c'est le cas pour les B/CYDV dans une autre étude (Paliwal, 1982). Un décalage dans la période de récolte des cultures permet un maintien des virus dans les parcelles récoltées tardivement. Ces parcelles peuvent alors servir de source virale permettant l'infection des cultures nouvellement semées (Figure 16, partie centrale en noir).

4.2. Attribution du rôle du compartiment sauvage dans les épidémies de virus de nanisme des céréales

Avant de qualifier de population de maintien la population infectée par les virus de nanisme des céréales, il est nécessaire d'identifier des flux de vecteurs et de virus entre ces populations et la population cible. Dans certains cas, les vecteurs ne se nourrissent que dans un seul type de compartiment. C'est le cas de *Sitobion avenae* (Vialatte *et al.*, 2005) dont certains clones sont exclusifs à un type de compartiment et de *Rhopalosiphum maidis* (Blackman *et al.*, 1990) dont certains clones se nourrissent sur maïs et d'autres sur céréales et graminées sauvages. Dans d'autres cas, les virus sont spécifiques d'une seule espèce hôte. Ainsi, seule la souche A du *Maize streak virus* cause des symptômes importants au maïs alors que les autres, qualifiées d'adaptées aux adventices, causent des symptômes limités au maïs (Pinner *et al.*, 1988; Martin & Shepherd, 2009). La caractérisation du rôle des graminées sauvages dans le cycle des virus de nanisme des céréales nécessiterait un suivi de la structure des populations virales dans la culture, mais aussi dans le compartiment sauvage avant et après la culture, ainsi qu'un piégeage des vecteurs dont une partie du génome pourra être séquencé afin de tester l'hypothèse d'une structuration des populations par la plante hôte.

L'étude des processus de maintien et de la dispersion de ces virus dans les hôtes du compartiment sauvage pourrait être réalisée à l'aide de prélèvements réguliers dans le paysage. Ces

prélèvements réguliers pourraient permettre d'estimer l'évolution du nombre de plantes infectées par les virus de nanisme des céréales. Notre étude pourrait donner une première indication sur les facteurs à étudier pour réaliser des approches prédictives (nombre de plantes à prélever, espèces sensibles).

4.3. Poursuivre la caractérisation des gammes d'hôtes sauvages

Cette étude aura permis de tester en conditions contrôlées la sensibilité de 24 espèces de graminées au BYDV-PAV et 20 au WDV (souches blé et orge). Un total de 40 espèces ayant été identifié dans le paysage d'Annoix, l'inoculation de ces virus au reste des espèces permettra une meilleure caractérisation de la gamme d'hôtes. Dans le cas des B/CYDV, l'étude des gammes d'hôtes des autres espèces virales (BYDV-MAV, CYDV-RPV) avec d'autres vecteurs (notamment *Sitobion avenae*, identifié dans le paysage d'Annoix, vecteur du BYDV-PAV et du BYDV-MAV) pourrait apporter des informations supplémentaires sur la sensibilité des espèces testées aux virus.

4.4. Poursuivre la caractérisation de l'interaction B/CYDV-WDV

Ces travaux se sont concentrés sur l'étude de l'interaction entre BYDV-PAV et WDV-Bar dans l'orge. Plusieurs espèces de B/CYDV étant présentes à Annoix, cette étude pourrait être enrichie en intégrant le BYDV-MAV, le CYDV-RPV ou le WDV-W au dispositif. D'autres vecteurs (e.g. *Sitobion avenae, Metopolophium dirhodum*) ou d'autres hôtes communs (e.g. le blé pour les espèces cultivées, *Alopecurus myosuroides* et *Poa annua* pour les espèces sauvages) pourraient être testés pour enrichir la compréhension des interactions entre virus dans un hôte cultivé à l'image de ce qui a été fait dans d'autres études (Mordecai *et al.*, 2015). Une validation de ces résultats à plus large échelle (parcelle) pourrait également être envisagée.

Les résultats de ces travaux sont résumés dans la Fig. 16.

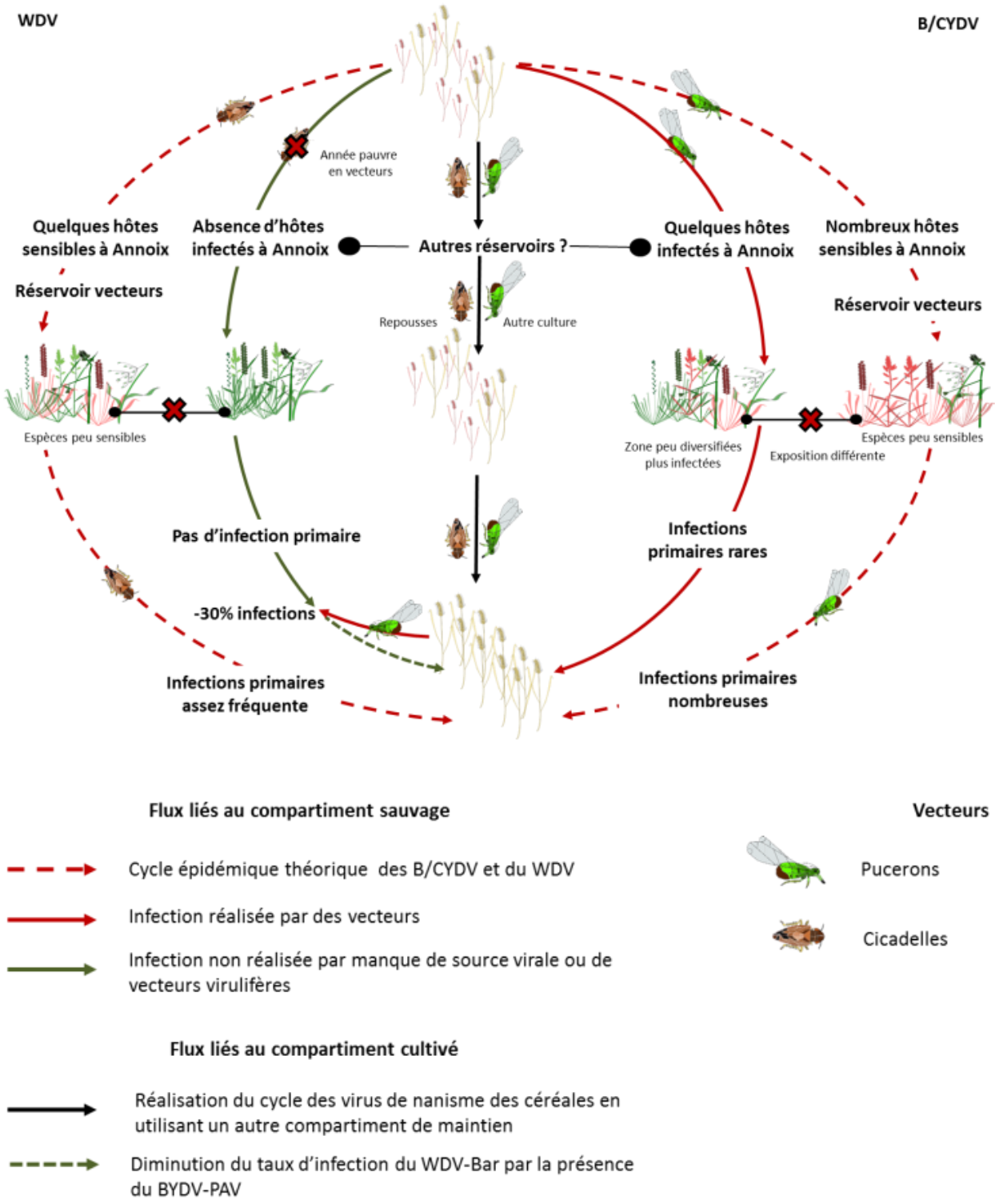


Figure 13 : Comparaison des cycles des virus de nanisme dans un scénario théorique où l'ensemble des populations hôtes sont infectées (traits pointillés) et dans le scénario observé à Annoix (traits pleins). La lecture du schéma commence par les traits pointillés rouges qui décrivent le déroulement du cycle si l'ensemble des hôtes sauvages était infecté. Le cycle des B/CYDV qui pourrait se produire à Annoix est représenté en traits rouges continus. Les différences observées entre les deux situations semblent venir d'une différence entre les expositions. Le cycle du WDV qui pourrait se produire à Annoix est représenté en traits verts continus. Le faible nombre de vecteurs et la faible prévalence

observée (voire l'absence de plantes infectées) rendent la réalisation de ce cycle difficile. Quel que soit le virus étudié, le compartiment sauvage n'est potentiellement pas la seule population de maintien, les repousses et d'autres cultures pouvant également jouer ce rôle. Cette alternative est représentée en noir sur le schéma. Enfin la présence préalable du BYDV-PAV dans l'orge provoque une baisse du taux d'infection par le WDV-Bar dans l'orge. Ce phénomène est représenté par la flèche rouge qui part en direction du pathosystème du WDV.

Bibliographie

Aapola AIE, Rochow WF, 1971. Relationships among three isolates of Barley yellow dwarf virus. *Virology* **46**, 127–141.

Abt I, Derlink M, Mabon R, Virant-Doberlet M, Jacquot E, 2017. Integrating multiple criteria for the characterization of Psammotettix populations in European cereal fields. *Bulletin of Entomological Research*, 1–18.

Abt I, Jacquot E, 2015. Wheat Dwarf. In: Tennant P,, Fermin G, eds. *Virus Diseases of Tropical and Subtropical Crops*. 27–41.

Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, 2019. ephy |. *E-Phy*.

Ahmed NE, Kanan HO, Sugimoto Y, Ma YQ, Inanaga S, 2001. Effect of imidacloprid on incidence of Tomato yellow leaf curl virus. *Plant Disease* **85**, 84–87.

Ajayi BO, Dewar AM, 1983. The effect of barley yellow dwarf virus on field populations of the cereal aphids, Sitobion avenae and Metopolophium dirhodum. *Annals of Applied Biology* **103**, 1–11.

Alexander HM, Mauck KE, Whitfield AE, Garrett KA, Malmstrom CM, 2013. Plant-virus interactions and the agro-ecological interface. *European Journal of Plant Pathology* **138**, 529–547.

Ali M, Anwar S, Shuja MN, Tripathi RK, Singh J, 2018. The genus Luteovirus from infection to disease. *European Journal of Plant Pathology* **151**, 841–860.

Alla S, Moreau J p., Frérot B, 2001a. Effects of the aphid Rhopalosiphum padi on the leafhopper Psammotettix alienus under laboratory conditions. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **98**, 203–209.

Alla S, Moreau J p., Frérot B, 2001b. Evidence of an extractable semiochemical produced by Rhopalosiphum padi acting on Psammotettix alienus. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **99**, 107–111.

Amici A, Faoro F, Osler R, Tornaghi R, 1978. The « giallume » disease of rice in Italy: new natural hosts of the viral agent, a strain of Barley yellow dwarf virus. *Rivista di Patologia Vegetale* **14**, 127–135.

Anderson PK, Cunningham AA, Patel NG, Morales FJ, Epstein PR, Daszak P, 2004. Emerging infectious diseases of plants: pathogen pollution, climate change and agrotechnology drivers. *Trends in Ecology & Evolution* **19**, 535–544.

Anderson RM, May RM, 1992. *Infectious diseases of humans: dynamics and control*. Oxford university press.

Antignus Y, Ben-Yakir D, 2004. Ultraviolet-absorbing barriers, an efficient integrated pest management tool to protect greenhouses from insects and virus diseases. In: Horowitz AR,, Ishaaya I, eds. *Insect Pest Management: Field and Protected Crops*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 319–335.

Backus EA, Serrano MS, Ranger CM, 2005. Mecanism of hopperburn: an overview of insect taxonomy, behavior, and physiology. *Annual Review of Entomology* **50**, 125–151.

Baker PF, 1960. Aphid behaviour on healthy and on yellows-virus-infected sugar beet. *Annals of Applied Biology* **48**, 384–391.

Banks P, Davidson J, Bariana H, Larkin P, 1995. Effects of Barley yellow dwarf virus on the yield of winter-wheat. *Australian Journal of Agricultural Research* **46**, 935–946.

Barloy D, Etienne C, Lemoine J *et al.*, 2003. Comparison of TAF46 and Zhong 5 resistances to Barley yellow dwarf virus from Thinopyrum intermedium in wheat. *Euphytica* **129**, 361–369.

Baselga A, 2010. Partitioning the turnover and nestedness components of beta diversity: Partitioning beta diversity. *Global Ecology and Biogeography* **19**, 134–143.

Bencharki B, El Yamani M, Zaoui D, 2000. Assessment of transmission ability of Barley yellow dwarf virus-PAV isolates by different populations of Rhopalosiphum padi and Sitobion avenae. *European Journal of Plant Pathology* **106**, 455–464.

Bendahmane M, Schalk H, Gronenborn B, 1995. Identification and characterization of Wheat dwarf virus from France using a rapid method for Geminivirus DNA preparation. *Phytopathology* **85**, 1449–1455.

Benkovics AH, Vida G, Nelson D *et al.*, 2010. Partial resistance to Wheat dwarf virus in winter wheat cultivars. *Plant Pathology* **59**, 1144–1151.

Berger WH, Parker FL, 1970. Diversity of planktonic foraminifera in deep-sea sediments. *Science (New York, N.Y.)* **168**, 1345–1347.

Beuve M, Lapierre H, 1992. Resistance to RPV Barley yellow dwarf virus in the genus Bromus. *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique* **70**, 32–37.

Bisnieks M, Kvarnheden A, Turka I, Sigvald R, 2006. Occurrence of Barley yellow dwarf virus and cereal yellow dwarf virus in pasture grasses and spring cereals in Latvia. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science* **56**, 171–178.

Blackman R, Halbert S, Carroll T, 1990. Association between karyotype and host plant in corn leaf aphid (Homoptera, Aphididae) in the northwestern United-States. *Environmental Entomology* **19**, 609–611.

Blua M, Perring T, 1992. Alatae production and population increase of aphid vectors on virus-infected host plants. *Oecologia* **92**, 65–70.

Bode E, 1980. Investigations on the occurrence of the bird cherry-oat aphid, Rhopalosiphum-Padi (l), on its primary host Prunus-Padus li biology of the bird cherry-oat aphid, Rhopalosiphum-Padi (l), on its primary host. *Zeitschrift Fur Angewandte Entomologie-Journal of Applied Entomology* **89**, 363–377.

Bogovac M, Cousin M, Moreau J, Spire D, 1968. Note on presence of Barley yellow dwarf in France. *Annales des Epiphyties* **19**, 275.

Boiteau G, Singh RP, 1999. Field assessment of imidacloprid to reduce the spread of PVY(O) and PLRV in potato. *American Journal of Potato Research* **76**, 31–36.

Boquel S, Ameline A, Giordanengo P, 2011. Assessing aphids potato virus Y-transmission efficiency: a new approach. *Journal of Virological Methods* **178**, 63–67.

Borer ET, Seabloom EW, Mitchell CE, Power AG, 2010. Local context drives infection of grasses by vector-borne generalist viruses. *Ecology Letters* **13**, 810–818.

Bortolamiol D, Pazhouhandeh M, Marrocco K, Genschik P, Ziegler-Graff V, 2007. The Polerovirus F box protein P0 targets ARGONAUTE1 to suppress RNA silencing. *Current Biology* **17**, 1615–1621.

Bos L, 1981. Wild plants in the ecology of virus diseases. In: *Plant diseases and vectors: ecology and epidemiology*. K Maramarosch, KF Harris, 1–28.

Brault V, Uzest M, Monsion B, Jacquot E, Blanc S, 2010. Aphids as transport devices for plant viruses. *Comptes Rendus Biologies* **333**, 524–538.

Brentassi ME, Marino de Remes Lenicov AM, 2006. Specific sites of stylet penetration of the vector Delphacodes kuscheli in relation of barley leaf anatomy (Hemiptera: Fulgoromorpha: Delphacidae). *Entomologia generalis*.

Broek LJ van der, Gill CC, 1980. The median latent periods for three isolates of barley yellow dwarf virus in aphid vectors. *Phytopathology* **70**, 644–646.

Bruehl G, Toko HV, 1957. Host range of two strains of the cereal yellow dwarf virus. *Plant Dis. Rep* **41**, 730–734.

Brunt AA, Crabtree K, Dallwitz MJ, Gibbs AJ, Watson L, Zurcher EJ, 1996. Plant Viruses Online: Descriptions and Lists from the VIDE Database.

Burdon JJ, Chilvers GA, 1982. Host density as a factor in plant disease ecology. *Annual Review of Phytopathology* **20**, 143–166.

Burdon JJ, Thrall PH, 2008. Pathogen evolution across the agro-ecological interface: implications for disease management. *Evolutionary Applications* **1**, 57–65.

Burdon JJ, Thrall PH, Ericson L, 2013. Genes, communities & invasive species: understanding the ecological and evolutionary dynamics of host-pathogen interactions. *Current Opinion in Plant Biology* **16**, 400–405.

Burnett PA, 1990. *World perspectives on Barley yellow dwarf: proceedings of the international workshop July 6-11, 1987, Undine Italy*. CIMMYT.

Cambra M, Gorris MT, Marroquín C *et al.*, 2000. Incidence and epidemiology of Citrus tristeza virus in the Valencian community of Spain. *Virus Research* **71**, 85–95.

Caron A, Cappelle J, Cumming GS, de Garine-Wichatitsky M, Gaidet N, 2015. Bridge hosts, a missing link for disease ecology in multi-host systems. *Veterinary Research* **46**.

Chain F, Riault G, Trottet M, Jacquot E, 2006. Evaluation of the durability of the Barley yellow dwarf virus-resistant Zhong ZH and TC14 wheat lines. *European Journal of Plant Pathology* **117**, 35–43.

Chao A, 1987. Estimating the population size for capture-recapture data with unequal catchability. *Biometrics* **43**, 783–791.

Chapin JW, Thomas JS, Gray SM, Smith DM, Halbert SE, 2001. Seasonal abundance of aphids (Homoptera: Aphididae) in wheat and their role as Barley yellow dwarf virus vectors in the South Carolina coastal plain. *Journal of Economic Entomology* **94**, 410–421.

Chay CA, Smith DM, Vaughan R, Gray SM, 1996. Diversity among isolates within the PAV serotype of Barley yellow dwarf virus. *Phytopathology* **86**, 370–377.

Chen AYS, Walker GP, Carter D, Ng JCK, 2011. A virus capsid component mediates virion retention and transmission by its insect vector. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **108**, 16777–16782.

Chesson P, 2000. Mechanisms of maintenance of species diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics* **31**, 343–366.

Clark MF, Adams AN, 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology* **34**, 475–483.

Colvin J, Omongo CA, Govindappa MR *et al.*, 2006. Host-plant viral infection effects on arthropod-vector population growth, development and behaviour: management and epidemiological implications. In: *Advances in Virus Research*. Plant Virus Epidemiology. Academic Press, 419–452.

Comas J, Pons X, Albajes R, Plumb RT, 1993. The role of maize in the epidemiology of Barley yellow dwarf virus in northeast Spain. *Journal of Phytopathology* **138**, 244–248.

Commandeur U, Huth W, 1999. Differentiation of strains of Wheat dwarf virus in infected wheat and barley plants by means of polymerase chain reaction. *Zeitschrift Fur Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection* **106**, 550–552.

Cooper JI, Harrison BD, 1973. The role of weed hosts and the distribution and activity of vector nematodes in the ecology of Tobacco rattle virus. *Annals of Applied Biology* **73**, 53–66.

Cooper I, Jones RAC, 2006. Wild plants and viruses: under-investigated ecosystems. In: *Advances in Virus Research*. Plant Virus Epidemiology. Academic Press, 1–47.

Coutts BA, Strickland GR, Kehoe MA, Severtson DL, Jones R a. C, 2008. The epidemiology of Wheat streak mosaic virus in Australia: case histories, gradients, mite vectors, and alternative hosts. *Australian Journal of Agricultural Research* **59**, 844–853.

Creamer R, Carpenter J, Rascon J, 2003. Incidence of the beet leafhopper, Circulifer tenellus (Homoptera : Cicadellidae) in New Mexico Chile. *Southwestern Entomologist* **28**, 177–182.

Dallot S, Gottwald T, Labonne G, Quiot J-B, 2004. Factors affecting the spread of Plum pox virus strain M in peach orchards subjected to roguing in France. *Phytopathology* **94**, 1390–1398.

D'Arcy CJ, Burnett PA, 1995. *Barley yellow dwarf: 40 years of progress*. APS Press.

Dawson W, Hilf M, 1992. Host-range determinants of plant-viruses. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **43**, 527–555.

Dawson GW, Pickett JA, Plumb RT, Woodcock CM, Zhong-Ning Z, 1988. Structure/activity studies on aphid alarm pheromone derivatives and their field use against transmission of Barley yellow dwarf virus. *Pesticide Science* **22**, 17–30.

De Wolf ED, Isard SA, 2007. Disease cycle approach to plant disease prediction. *Annual Review of Phytopathology* **45**, 203–220.

Dedryver, Le Gallic, Gauthier, Simon, 2002. Life cycle of the cereal aphid Sitobion avenae F.: polymorphism and comparison of life history traits associated with sexuality. *Ecological Entomology* **23**, 123–132.

Dedryver C-A, Riault G, Tanguy S, Gallic JFLe, Trottet M, Jacquot E, 2005. Intra-specific variation and inheritance of BYDV-PAV transmission in the aphid Sitobion avenae. *European Journal of Plant Pathology* **111**, 341–354.

Dedryver C-A, Tanguy S, 1984. Biologie des pucerons des céréales dans l'ouest de la France. V. - Influence de la date de semis du blé d'hiver sur les modalités d'infestation des parcelles par Rhopalosiphum padi (L.), Sitobion avenae (F.) et Metopolophium dirhodum (Wlk.) et sur le développement de leurs populations au printemps. *Agronomie* **4**, 711–719.

Derrick PM, Barker H, Oparka KJ, 1992. Increase in plasmodesmatal permeability during cell-to-cell spread of Tobacco rattle virus from individually inoculated cells. *The Plant Cell* **4**, 1405–1412.

Descamps LR, Chopa CS, 2011. Population growth of Rhopalosiphum padi L.(Homoptera: Aphididae) on different cereal crops from the semiarid pampas of Argentina under laboratory conditions. *Chilean Journal of Agricultural Research* **71**, 390.

Dinesh-Kumar SP, Brault V, Allen Miller W, 1992. Precise mapping and in vitro translation of a trifunctional subgenomic RNA of barley yellow dwarf virus. *Virology* **187**, 711–722.

Ding S-W, 2010. RNA-based antiviral immunity. *Nature Reviews. Immunology* **10**, 632–644.

Dixon AFG, Glen DM, 1971. Morph determination in the bird cherry-oat aphid, Rhopalosiphum padi L. *Annals of Applied Biology* **68**, 11–21.

Döring TF, Kirchner SM, Kühne S, Saucke H, 2004. Response of alate aphids to green targets on coloured backgrounds. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **113**, 53–61.

Eastop VF, 1983. The biology of the principal aphid virus vectors. *Plant virus epidemiology*, 115–132.

Edwardson JR, Christie RG, 1991. CRC handbook of viruses affecting legumes. *CRC handbook of viruses affecting legumes.*

Ehleringer JR, Cerling TE, Helliker BR, 1997. C4 photosynthesis, atmospheric CO2, and climate. *Oecologia* **112**, 285–299.

Ekzayez AM, Kumari SG, Ismail I, 2010. First report of Wheat dwarf virus and its vector (Psammotettix provincialis) affecting wheat and barley crops in Syria. *Plant Disease* **95**, 76–76.

Elena SF, Fraile A, Garcia-Arenal F, 2014. Evolution and emergence of plant viruses. In: Maramorosch K,, Murphy FA, eds. *Advances in Virus Research, Vol 88*. San Diego: Elsevier Academic Press Inc, 161–191.

Esau K, 1957. Anatomic effects of Barley yellow dwarf virus and maleic hydrazide on certain Gramineae. *Hilgardia* **27**, 15–69.

Eweida M, Oxelfelt P, 1985. Purification and properties of two Swedish isolates of Barley yellow dwarf virus and their serological relationships with American isolates. *Annals of Applied Biology* **106**, 475–482.

Eweida M, Rydén K, 1984. Detection of Barley yellow dwarf virus (BYDV) in cereals and grasses by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in Sweden / Nachweis des Virus der Gersten-Gelbverzwergung (BYDV) in Getreide und Gräsern durch ELISA in Schweden. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz / Journal of Plant Diseases and Protection* **91**, 131–137.

Fabre F, Kervarrec C, Mieuzet L, Riault G, Vialatte A, Jacquot E, 2003. Improvement of Barley yellow dwarf virus-PAV detection in single aphids using a fluorescent real time RT-PCR. *Journal of virological methods* **110**, 51–60.

Fabre F, Plantegenest M, Mieuzet L, Dedryver CA, Leterrier JL, Jacquot E, 2005. Effects of climate and land use on the occurrence of viruliferous aphids and the epidemiology of barley yellow dwarf disease. *Agriculture Ecosystems & Environment* **106**, 49–55.

Fajardo TVM, Peiró Morell A, Pallás Benet V, Sanchez Navarro JA, 2013. Systemic transport of Alfalfa mosaic virus can be mediated by the movement proteins of several viruses assigned to five genera of the 30K family. *Journal of General Virology* **94**, 677–681.

Falk BW, Tsai JH, 1998. Biology and molecular biology of viruses in the genus Tenuivirus. *Annual Review of Phytopathology* **36**, 139–163.

FAO F, OMS P, UNICEF, 2018. L'État de la sécurité alimentaire et de la nutrition dans le monde 2018. *Renforcer la résilience pour favoriser la paix et la sécurité alimentaire, Rome, FAO*.

Fargette D, Lister RM, 1982. Grasses as a reservoir of Barley yellow dwarf virus in Indiana. *Plant Disease* **66**, 1041–1045.

Fenoll C, Black DM, Howell SH, 1988. The intergenic region of Maize streak virus contains promoter elements involved in rightward transcription of the viral genome. *The EMBO Journal* **7**, 1589–1596.

Fereres A, Araya J, Housley T, Foster J, 1990. Carbohydrate-Composition of Wheat Infected with Barley Yellow Dwarf Virus. *Zeitschrift Fur Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection* **97**, 600–608.

Fereres A, Lister RM, Araya JE, Foster JE, 1989. Development and reproduction of the english grain aphid (Homoptera: Aphididae) on wheat cultivars infected with Barley yellow dwarf virus. *Environmental Entomology* **18**, 388–393.

Fereres A, Moreno A, 2009. Behavioural aspects influencing plant virus transmission by homopteran insects. *Virus Research* **141**, 158–168.

Fiebig M, Poehling H-M, Borgemeister C, 2004. Barley yellow dwarf virus, wheat, and Sitobion avenae: a case of trilateral interactions. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **110**, 11–21.

Finlay KJ, Luck JE, 2011. Response of the bird cherry-oat aphid (Rhopalosiphum padi) to climate change in relation to its pest status, vectoring potential and function in a crop–vector–virus pathosystem. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **144**, 405–421.

Folimonova SY, Folimonov AS, Tatineni S, Dawson WO, 2008. Citrus tristeza virus: survival at the edge of the movement continuum. *Journal of Virology* **82**, 6546–6556.

Fraile A, García-Arenal F, 2016. Environment and evolution modulate plant virus pathogenesis. *Current Opinion in Virology* **17**, 50–56.

Froissart R, Doumayrou J, Vuillaume F, Alizon S, Michalakis Y, 2010. The virulence–transmission trade-off in vector-borne plant viruses: a review of (non-)existing studies. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences* **365**, 1907–1918.

Fry PR, Matthews REF, 1963. Timing of some early events following inoculation with Tobacco mosaic virus. *Virology* **19**, 461–469.

Galvani AP, 2003. Epidemiology meets evolutionary ecology. *Trends in Ecology & Evolution* **18**, 132–139.

Garcia JA, Glasa M, Cambra M, Candresse T, 2014. Plum pox virus and sharka: a model potyvirus and a major disease. *Molecular Plant Pathology* **15**, 226–241.

García-Marcos A, Pacheco R, Martiáñez J, González-Jara P, Díaz-Ruíz JR, Tenllado F, 2009. Transcriptional changes and oxidative stress associated with the synergistic interaction between Potato virus X and Potato virus Y and their relationship with symptom expression. *Molecular plant-microbe interactions: MPMI* **22**, 1431–1444.

Garret A, Kerlan C, Thomas D, 1996. Ultrastructural study of acquisition and retention of potato leafroll luteovirus in the alimentary canal of its aphid vector,Myzus persicae Sulz. *Archives of Virology* **141**, 1279–1292.

Geering ADW, Olszewski NE, Harper G, Lockhart BEL, Hull R, Thomas JE, 2005. Banana contains a diverse array of endogenous Badnaviruses. *The Journal of General Virology* **86**, 511–520.

Ghodoum PMH, Leila R, Pakdaman SB, 2018. Temperature affected transmission, symptom development and accumulation of Wheat dwarf virus. *Plant Protection Science* **54 (2018)**, 222–233.

Gibbs A, 1976. Viruses and plasmodesmata. In: Gunning BES,, Robards AW, eds. *Intercellular Communication in Plants: Studies on Plasmodesmata*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 149–164.

Gilabert A, Gauffre B, Parisey N *et al.*, 2017. Influence of the surrounding landscape on the colonization rate of cereal aphids and phytovirus transmission in autumn. *Journal of Pest Science* **90**, 447–457.

Gildow FE, 1983. Influence of Barley yellow dwarf virus-infected oats and barley on morphology of aphid vectors. *Phytopathology* **73**, 1196.

Gildow FE, 1985. Transcellular transport of Barley yellow dwarf virus into the hemocoel of the aphid vector, Rhopalosiphum padi. *Phytopathology (USA)*.

Gildow FE, Rochow WF, 1980a. Transmission interference between two isolates of barley yellow dwarf virus in Macrosiphum avenae. *Phytopathology* **70**, 122–126.

Gildow FE, Rochow WF, 1980b. Role of accessory salivary glands in aphid transmission of barley yellow dwarf virus. *Virology* **104**, 97–108.

González-Jara P, Tenllado F, Martínez-García B *et al.*, 2004. Host-dependent differences during synergistic infection by Potyviruses with potato virus X. *Molecular Plant Pathology* **5**, 29–35.

Gray SM, 1991. Aphid transmission of Barley yellow dwarf virus: acquisition access periods and virus concentration requirements. *Phytopathology* **81**, 539.

Gray SM, 1993. Barley yellow dwarf virus isolate-specific resistance in spring oats reduced virus accumulation and aphid transmission. *Phytopathology* **83**, 716.

Gray SM, Banerjee N, 1999. Mechanisms of arthropod transmission of plant and animal viruses. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* **63**, 128–148.

Gray S, Gildow FE, 2003. Luteovirus-aphid interactions. *Annual Review of Phytopathology* **41**, 539–566.

Gray SM, Power AG, Smith DM, Seaman AJ, Altman NS, 1991. Aphid transmission of Barley yellow dwarf virus: acquisition access periods and virus concentration requirements. *Phytopathology (USA)*.

Gray SM, Smith DM, Barbierri L, Burd J, 2002. Virus transmission phenotype is correlated with host adaptation among genetically diverse populations of the aphid Schizaphis graminum. *Phytopathology* **92**, 970–975.

Greenberg J, Guo A, Klessig D, Ausubel F, 1994. Programmed cell-death in plants - a pathogen-triggered response activated coordinately with multiple defense functions. *Cell* **77**, 551–563.

Griesbach JA, Steffenson BJ, Brown MP, Falk BW, Webster RK, 1990. Infection of grasses by Barley yellow dwarf viruses in California. *Crop Science* **30**, 1173–1177.

Grigoras I, Vetten H-J, Commandeur U, Ziebell H, Gronenborn B, Timchenko T, 2018. Nanovirus DNA-N encodes a protein mandatory for aphid transmission. *Virology* **522**, 281–291.

Guglielmino A, Virla E, 1997. Postembryonic development and biology of Psammotettix alienus (Dahlbom) (Homoptera Cicadellidae) under laboratory conditions. *Bollettino di Zoologia Agraria e di Bachicoltura* **29**, 65–80.

Gururani MA, Venkatesh J, Upadhyaya CP, Nookaraju A, Pandey SK, Park SW, 2012. Plant disease resistance genes: Current status and future directions. *Physiological and Molecular Plant Pathology* **78**, 51–65.

Gutiérrez S, Yvon M, Thébaud G, Monsion B, Michalakis Y, Blanc S, 2010. Dynamics of the multiplicity of cellular infection in a plant virus. *PLOS Pathogens* **6**, e1001113.

Guy PL, 1988. Pasture ecology of Barley yellow dwarf viruses at Sandford, Tasmania. *Plant Pathology* **37**, 546–550.

Guy PL, Johnstone GR, Duffus JE, 1986. Occurrence and identity of Barley yellow dwarf viruses in Tasmanian pasture grasses. *Australian Journal of Agricultural Research* **37**, 43–53.

Guy P, Johnstone G, Morris D, 1987. Barley yellow dwarf viruses in, and aphids on, grasses (including cereals) in Tasmania. *Australian Journal of Agricultural Research* **38**, 139–152.

Haack L, Courbon R, Riault G *et al.*, 1999. A plant and field study of BYDV-PAV and -MAV distribution on maize in France. *Zeitschrift Fur Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection* **106**, 297–303.

Habekuss A, Riedel C, Schliephake E, Ordon F, 2009. Breeding for resistance to insect-transmitted viruses in barley-an emerging challenge due to global warming. *Journal für Kulturpflanzen* **61**, 53–61.

Halbert SE, Connelly BJ, Bishop GW, Blackmer JL, 1992. Transmission of Barley yellow dwarf virus by field collected aphids (Homoptera: Aphididae) and their relative importance in barley yellow dwarf epidemiology in southwestern Idaho. *Annals of Applied Biology* **121**, 105–121.

Halbert SE, Pike KS, 1985. Spread of barley yellow dwarf virus and relative importance of local aphid vectors in central Washington. *Annals of Applied Biology* **107**, 387–395.

Harrison BD, 1981. Plant virus ecology: ingredients, interactions and environmental influences. *Annals of Applied Biology* **99**, 195–209.

Hashiba T, Miwasa T, 1970. Studies on the mechanism of aphid transmission of stylet-borne virus. (III) On the adherence of the virus to the stylet. *Tohoku journal of agricultural research* **20**, 159–171.

Haydon DT, Cleaveland S, Taylor LH, Laurenson MK, 2002. Identifying reservoirs of infection: a conceptual and practical challenge. *Emerging Infectious Diseases* **8**, 1468–1473.

Henry M, Dedryver CA, 1989. Fluctuations in cereal aphid populations on maize (Zea mays) in western France in relation to the epidemiology of Barley yellow dwarf virus (BYDV). *Journal of Applied Entomology* **107**, 401–410.

Henry M, Dedryver CA, 1991. Occurrence of Barley yellow dwarf virus in pastures of western France. *Plant Pathology* **40**, 93–99.

Heydarnejad J, Izadpanah K, Hunter FR, Gooding MJ, 2007. Transmission properties of Iranian Wheat stripe virus. *Australasian Plant Pathology* **36**, 354–357.

Hibino H, Roechan M, Sudarisman S, 1978. Association of two types of virus particles with penyakit habang (tungro disease) of rice in Indonesia. *Phytopathology* **68**, 1412–1416.

Hill MO, 1973. Diversity and Evenness: A Unifying Notation and Its Consequences. *Ecology* **54**, 427–432.

Hill DS, 2008. *Pests of crops in warmer climates and their control*. Springer Science & Business Media.

Hipper C, Brault V, Ziegler-Graff V, Revers F, 2013. Viral and Cellular Factors Involved in Phloem Transport of Plant Viruses. *Frontiers in Plant Science* **4**.

Hofer JM, Dekker EL, Reynolds HV, Woolston CJ, Cox BS, Mullineaux PM, 1992. Coordinate regulation of replication and virion sense gene expression in wheat dwarf virus. *The Plant Cell Online* **4**, 213–223.

Hogenhout SA, Ammar E-D, Whitfield AE, Redinbaugh MG, 2008. Insect vector interactions with persistently transmitted viruses. *Annual Review of Phytopathology* **46**, 327–359.

Hohn T, Richert-Pöggeler KR, Staginnus C *et al.*, 2008. Evolution of integrated plant viruses. In: Roossinck MJ, ed. *Plant Virus Evolution*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 53–81.

den Hollander PW, Kieper SN, Borst JW, van Lent JWM, 2016. The role of plasmodesma-located proteins in tubule-guided virus transport is limited to the plasmodesmata. *Archives of Virology* **161**, 2431–2440.

Holmes FO, 1939. Handbook of phytopathogenic viruses. *Handbook of Phytopathogenic Viruses.*

Honek A, Martinkova Z, Saska P, Dixon AFG, 2018. Aphids (Homoptera: Aphididae) on Winter Wheat: Predicting Maximum Abundance of Metopolophium dirhodum. *Journal of Economic Entomology*.

Hull R, 2014. *Plant Virology*. Elsevier.

Hurlbert SH, 1971. The nonconcept of species diversity: a critique and alternative parameters. *Ecology* **52**, 577–586.

Ighil ET-A, Dedryver C-A, Hullé M, Chaubet B, 2011. *Les pucerons des grandes cultures: cycles biologiques et activités de vol*. Editions Quae.

Ingwell LL, Eigenbrode SD, Bosque-Perez NA, 2012. Plant viruses alter insect behavior to enhance their spread. *Scientific Reports* **2**, 578.

Ingwell LL, Lacroix C, Rhoades PR, Karasev AV, Bosque-Pérez NA, 2017. Agroecological and environmental factors influence Barley yellow dwarf viruses in grasslands in the US Pacific Northwest. *Virus Research* **241**, 185–195.

Institute of Medicine (US) Committee on Emerging Microbial Threats to Health, 1992. *Emerging Infections: Microbial Threats to Health in the United States* (J Lederberg, RE Shope, SC Oaks, Eds,). Washington (DC): National Academies Press (US).

Irwin ME, Thresh JM, 1990. Epidemiology of barley yellow dwarf: a study in ecological complexity. *Annual Review of Phytopathology* **28**, 393–424.

Ivanovic D, Levic J, Ivanovic M, Pencic V, 1992. Barley yellow dwarf virus in maize in Yugoslavia. *Maydica* **37**, 287–292.

Jaccard P, 1908. Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bull. Soc. Vaud. Sci. Nat.* **44**, 223–270.

Janssen J a. M, Tjallingii WF, Lenteren JC van, 1989. Electrical recording and ultrastructure of stylet penetration by the greenhouse whitefly. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **52**, 69–81.

Jaouannet M, Rodriguez PA, Thorpe P *et al.*, 2014. Plant immunity in plant–aphid interactions. *Frontiers in Plant Science* **5**.

Jarošová J, Ripl J, Fousek J, Kundu JK, 2018. TaqMan multiplex real-time qPCR assays for the detection and quantification of Barley yellow dwarf virus, Wheat dwarf virus and Wheat streak mosaic virus and the study of their interactions. *Crop and Pasture Science* **69**, 765.

Jones RAC, 2004. Using epidemiological information to develop effective integrated virus disease management strategies. *Virus Research* **100**, 5–30.

Jones R a. c., 2014. Plant virus ecology and epidemiology: historical perspectives, recent progress and future prospects. *Annals of Applied Biology* **164**, 320–347.

Kaliciak A, Syller J, 2009. New hosts of Potato virus Y (PVY) among common wild plants in Europe. *European Journal of Plant Pathology* **124**, 707–713.

Kammann M, Schalk H-J, Matzeit V, Schaefer S, Schell J, Gronenborn B, 1991. DNA replication of Wheat dwarf virus, a Geminivirus, requires two cis-acting signals. *Virology* **184**, 786–790.

Keesing F, Holt RD, Ostfeld RS, 2006. Effects of species diversity on disease risk. *Ecology Letters* **9**, 485–498.

Kennedy JS, 1951. Benefits to aphids from feeding on galled and virus-infected leaves. *Nature* **168**, 825–826.

Kettles GJ, Drurey C, Schoonbeek H, Maule AJ, Hogenhout SA, 2013. Resistance of Arabidopsis thaliana to the green peach aphid, Myzus persicae, involves camalexin and is regulated by microRNAs. *The New Phytologist* **198**, 1178–1190.

Kieckhefer R, Stoner W, Thysell J, 1976. Preferences of flight-active Barley yellow dwarf virus vectors for healthy or diseased leaves. *Plant Disease Reporter* **60**, 939–941.

King AM, Lefkowitz E, Adams MJ, Carstens EB, 2011. *Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Elsevier.

King AMQ, Lefkowitz EJ, Mushegian AR *et al.*, 2018. Changes to taxonomy and the International Code of Virus Classification and Nomenclature ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses (2018). *Archives of Virology* **163**, 2601–2631.

Kirchner SM, Döring TF, Hiltunen LH, Virtanen E, Valkonen JPT, 2011. Information-theory-based model selection for determining the main vector and period of transmission of Potato virus Y. *Annals of Applied Biology* **159**, 414–427.

Kis A, Hamar E, Tholt G, Ban R, Havelda Z, 2019. Creating highly efficient resistance against wheat dwarf virus in barley by employing CRISPR/Cas9 system. *Plant Biotechnology Journal* **17**, 1004–1006.

Koklu G, 2004. Occurrence of cereal viruses on wheat in Tekirdag, Turkey. *Phytoprotection* **85**, 19–25.

Köklü G, Ramsell JNE, Kvarnheden A, 2007. The complete genome sequence for a Turkish isolate of Wheat dwarf virus (WDV) from barley confirms the presence of two distinct WDV strains. *Virus Genes* **34**, 359–366.

Konate G, Traore O, 1992. Hosts of the Maize Streak Virus in the Sudan and the Sahel - Identification and Spatiotemporal Distribution. *Phytoprotection* **73**, 111–117.

Kring JB, 1972. Flight Behavior of Aphids. *Annual Review of Entomology* **17**, 461–492.

Kulkarni HY, 1973. Comparison and characterization of maize stripe and maize line viruses. *Annals of Applied Biology* **75**, 205–216.

Kundu JK, Gadiou S, Červená G, 2009. Discrimination and genetic diversity of Wheat dwarf virus in the Czech Republic. *Virus Genes* **38**, 468–474.

Kvarnheden A, Lindblad M, Lindsten K, Valkonen JPT, 2002. Genetic diversity of Wheat dwarf virus. *Archives of Virology* **147**, 205–216.

Lacroix C, Seabloom EW, Borer ET, 2017. Environmental nutrient supply directly alters plant traits but indirectly determines virus growth rate. *Frontiers in Microbiology* **8**, 2116.

Lakatos L, Szittya G, Silhavy D, Burgyán J, 2004. Molecular mechanism of RNA silencing suppression mediated by p19 protein of tombusviruses. *The EMBO Journal* **23**, 876–884.

Lamptey JNL, Plumb RT, Shaw MW, 2003. Interactions between the grasses Phalaris arundinacea, Miscanthus sinensis and Echinochloa crus-galli, and Barley and Cereal yellow dwarf viruses. *Journal of Phytopathology* **151**, 463–468.

Lapierre H, Signoret P-A, 2004. *Viruses and virus diseases of Poaceae (Gramineae)*. Editions Quae.

Latch GCM, 1977. Incidence of Barley yellow dwarf virus in ryegrass pastures in New Zealand. *New Zealand Journal of Agricultural Research* **20**, 87–89.

Leather SR, 1993. Overwintering in six arable aphid pests: a review with particular relevance to pest management. *Journal of Applied Entomology* **116**, 217–233.

Leclercq-Le Quillec F, Plantegenest M, Riault G, Dedryver CA, 2000. Analyzing and modeling temporal disease progress of Barley yellow dwarf virus serotypes in barley fields. *Phytopathology* **90**, 860–866.

Legendre P, Cáceres MD, 2013. Beta diversity as the variance of community data: dissimilarity coefficients and partitioning. *Ecology Letters* **16**, 951–963.

Lei H, Tjallingii WF, Lenteren JC van, 1998. Probing and feeding characteristics of the greenhouse whitefly in association with host-plant acceptance and whitefly strains. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **88**, 73–80.

Leisner SM, 1992. Long distance movement of Cauliflower mosaic virus in infected turnip plants. *Molecular Plant-Microbe Interactions* **5**, 41.

Lett J-M, Granier M, Grondin M *et al.*, 2001. Electrical penetration graphs from Cicadulina mbila on maize, the fine structure of its stylet pathways and consequences for virus transmission efficiency. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **101**, 93–109.

Lett J-M, Granier M, Hippolyte I *et al.*, 2002. Spatial and temporal distribution of geminiviruses in leafhoppers of the genus cicadulina monitored by conventional and quantitative polymerase chain reaction. *Phytopathology* **92**, 65–74.

Li S, Wang S, Wang X *et al.*, 2015. Rice stripe virus affects the viability of its vector offspring by changing developmental gene expression in embryos. *Scientific Reports* **5**.

Li S, Wang H, Zhou G, 2014. Synergism between Southern rice black-streaked dwarf virus and Rice ragged stunt virus enhances their insect vector acquisition. *Phytopathology* **104**, 794–799.

Lindblad M, Areno P, 2002. Temporal and spatial population dynamics of Psammotettix alienus, a vector of Wheat dwarf virus. *International Journal of Pest Management* **48**, 233–238.

Lindblad M, Sigvald R, 2004. Temporal spread of Wheat dwarf virus and mature plant resistance in winter wheat. *Crop Protection* **23**, 229–234.

Lindblad M, Waern P, 2002. Correlation of wheat dwarf incidence to winter wheat cultivation practices. *Agriculture Ecosystems & Environment* **92**, 115–122.

Lindbo JA, Dougherty WG, 2005. Plant pathology and RNAi: a brief history. *Annual Review of Phytopathology* **43**, 191–204.

Lindsten K, Lindsten B, 1999. Wheat dwarf - an old disease with new outbreaks in Sweden. *Zeitschrift Fur Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection* **106**, 325–332.

Lindsten K, Vacke J, 1991. A possible barley adapted strain of Wheat dwarf virus (WDV). *Acta Phytopathologica Et Entomologica Hungarica* **26**, 175–180.

Llácer G, 2006. Hosts and symptoms of Plum pox virus: Herbaceous hosts. *EPPO Bulletin* **36**, 227–228.

Loebenstein G, Berger PH, Brunt AA, Lawson RH (Eds.), 2001. *Virus and virus-like diseases of potatoes and production of seed-potatoes*. Springer Netherlands.

Lohr JN, Yin M, Wolinska J, 2010. Prior residency does not always pay off--co-infections in Daphnia. *Parasitology* **137**, 1493–1500.

Lowe AD, 1967. Avoid yellow dwarf virus by late sowing. *New Zealand Wheat Review* **10**, 59–63.

Luo K, Thieme T, Hu Z, Hu X, Zhang G, Zhao H, 2016. Previous infestation with Psammotettix alienus on spring wheat seedlings decreased the fitness of Sitobion avenae in a subsequent infestation. *Agricultural and Forest Entomology* **18**, 76–81.

Lwoff A, 1953. LYSOGENY1. *Bacteriological Reviews* **17**, 269–337.

MacDonald SG, Martin RR, Bristow PR, 1991. Characterization of an Ilarvirus associated with a necrotic shock reaction in blueberry. *Phytopathology (USA)*.

MacDowell SW, Macdonald H, Hamilton WDO, Coutts RHA, Buck KW, 1985. The nucleotide sequence of cloned wheat dwarf virus DNA. *The EMBO Journal* **4**, 2173–2180.

Madden LV, Hughes G, Bosch F van den, 2007. The study of plant disease epidemics. *The study of plant disease epidemics.*

Magurran AE, 2013. *Measuring Biological Diversity*. John Wiley & Sons.

Makkouk KM, Comeau A, 1994. Evaluation of various methods for the detection of Barley yellow dwarf virus by the tissue-blot immunoassay and its use for virus detection in cereals inoculated at different growth stages. *European Journal of Plant Pathology* **100**, 71–80.

Malmstrom CM, Alexander HM, 2016. Effects of crop viruses on wild plants. *Current Opinion in Virology* **19**, 30–36.

Malmstrom CM, Hughes CC, Newton LA, Stoner CJ, 2005a. Virus infection in remnant native bunchgrasses from invaded California grasslands. *New Phytologist* **168**, 217–230.

Malmstrom CM, McCullough AJ, Johnson HA, Newton LA, Borer ET, 2005b. Invasive annual grasses indirectly increase virus incidence in California native perennial bunchgrasses. *Oecologia* **145**, 153–164.

Mandadi KK, Scholthof K-BG, 2013. Plant immune responses against viruses: how does a virus cause disease? *The Plant Cell* **25**, 1489–1505.

Manurung B, Witsack W, Mehner S, Gruntzig M, Fuchs E, 2005. Studies on biology and population dynamics of the leafhopper Psammotettix alienus Dahlb. (Homoptera : Auchenorrhyncha) as vector of Wheat dwarf virus (WDV) in Saxony-Anhalt, Germany. *Zeitschrift Fur Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection* **112**, 497–507.

Maramorosch K, Harris KF, 1981. *Plant Diseases and Vectors: Ecology and Epidemiology*. Elsevier.

Marchetto KM, Power AG, 2018. Coinfection timing drives host population dynamics through changes in virulence. *American Naturalist* **191**, 173–183.

Maréchal P-Y, Henriet F, Vancutsem F, Bodson B, 2012. Ecological review of black-grass (Alopecurus myosuroides Huds.) propagation abilities in relationship with herbicide resistance. *BASE*.

Marrou J, Quiot J, Duteil M, Labonne G, Leclant F, Renoust M, 1979. Ecology and epidemiology of Cucumber mosaic-virus. *Annales De Phytopathologie* **11**, 375–392.

Martin DP, Shepherd DN, 2009. The epidemiology, economic impact and control of Maize streak disease. *Food Security* **1**, 305–315.

Martiniere A, Bak A, Macia J-L *et al.*, 2013. A virus responds instantly to the presence of the vector on the host and forms transmission morphs. *Elife* **2**, e00183.

Mauck KE, De Moraes CM, Mescher MC, 2010. Deceptive chemical signals induced by a plant virus attract insect vectors to inferior hosts. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **107**, 3600–3605.

McKirdy SJ, Jones R a. C, Nutter FW, 2002. Quantification of yield losses caused by barley yellow dwarf virus in wheat and oats. *Plant Disease* **86**, 769–773.

Mehle N, Ravnikar M, 2012. Plant viruses in aqueous environment – survival, water mediated transmission and detection. *Water Research* **46**, 4902–4917.

Mehner S, Manurung B, Gruntzig M, Habekuss A, Witsack W, Fuchs E, 2003. Investigations into the ecology of the Wheat dwarf virus (WDV) in Saxony-Anhalt, Germany. *Zeitschrift Fur Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection* **110**, 313–323.

Mellor HE, Bellingham J, Anderson M, 1997. Spectral efficiency of the glasshouse whitefly Trialeurodes vaporariorum and Encarsia formosa its hymenopteran parasitoid. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **83**, 11–20.

Meng B, Martelli GP, Golino DA, Fuchs M, 2017. *Grapevine Viruses: Molecular Biology, Diagnostics and Management*. Springer.

Mesfin T, Bosque-Perez NA, 1998. Feeding behaviour of Cicadulina storeyi China (Homoptera: Cicadellidae) on maize varieties susceptible or resistant to Maize streak virus. *African entomology* **6**, 185–191.

Miller JW, Coon BF, 1964. The effect of Barley yellow dwarf virus on the biology of its vector the english grain aphid, Macrosiphum granarium. *Journal of Economic Entomology* **57**, 970–974.

Miller WA, Koev G, Mohan BR, 1997. Are there risks associated with transgenic resistance to luteoviruses? *Plant Disease* **81**, 700–710.

Miller WA, Waterhouse PM, Gerlach WL, 1988. Sequence and organization of Barley yellow dwarf virus genomic RNA. *Nucleic Acids Research* **16**, 6097–6111.

Morales FJ, Singh SP, 1991. Genetics of resistance to Bean golden mosaic virus in Phaseolus vulgaris L. *Euphytica* **52**, 113–117.

Mordecai EA, Gross K, Mitchell CE, 2015a. Within-host niche differences and fitness trade-offs promote coexistence of plant viruses. *The American Naturalist* **187**, E13–E26.

Mordecai EA, Hindenlang M, Mitchell CE, 2015b. Differential impacts of virus diversity on biomass production of a native and an exotic grass host. *PLoS ONE* **10**.

Moreno A, Garzo E, Fernandez-Mata G, Kassem M, Aranda MA, Fereres A, 2011. Aphids secrete watery saliva into plant tissues from the onset of stylet penetration. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **139**, 145–153.

Moreno-Delafuente A, Garzo E, Moreno A, Fereres A, 2013. A plant virus manipulates the behavior of its whitefly vector to enhance its transmission efficiency and spread. *Plos One* **8**, e61543.

Morris EK, Caruso T, Buscot F *et al.*, 2014. Choosing and using diversity indices: insights for ecological applications from the German Biodiversity Exploratories. *Ecology and Evolution* **4**, 3514–3524.

Muhire B, Martin DP, Brown JK *et al.*, 2013. A genome-wide pairwise-identity-based proposal for the classification of viruses in the genus Mastrevirus (family Geminiviridae). *Archives of Virology* **158**, 1411–1424.

Mullineaux PM, Guerineau F, Accotto G-P, 1990. Processing of complementary sense RNAs of Digitaria streak virus in its host and in transgenic tobacco. *Nucleic Acids Research* **18**, 7259–7265.

Muniyappa V, Venkatesh HM, Ramappa HK *et al.*, 2000. Tomato leaf curl virus from Bangalore (ToLCV-Ban4): sequence comparison with Indian ToLCV isolates, detection in plants and insects, and vector relationships. *Archives of Virology* **145**, 1583–1598.

Naidu RA, Bottenberg H, Subrahmanyam P, Kimmins FM, Robinson DJ, Thresh JM, 1998. Epidemiology of groundnut rosette virus disease: current status and future research needs. *Annals of Applied Biology* **132**, 525–548.

Najar A, Makkouk KM, Kumari SG, 2000. First Record of Barley yellow striate mosaic virus, Barley stripe mosaic virus, and Wheat dwarf virus Infecting Cereal Crops in Tunisia. *Plant Disease* **84**, 1045–1045.

Nancarrow N, Aftab M, Freeman A, Rodoni B, Hollaway G, Trebicki P, 2018. Prevalence and incidence of yellow dwarf viruses across a climatic gradient: a four-year field study in southeastern Australia. *Plant Disease* **102**, 2465–2472.

Nault LR, 1997. Arthropod Transmission of Plant Viruses: a New Synthesis | Annals of the Entomological Society of America | Oxford Academic. *ANNALS OF THE ENTOMOLOGICAL SOCIETY OF AMERICA* **90**, 521–541.

Ng JCK, Falk BW, 2006. Virus-vector interactions mediating nonpersistent and semipersistent transmission of plant viruses. *Annual Review of Phytopathology* **44**, 183–212.

Nottingham SF, Hardie J, Dawson GW *et al.*, 1991. Behavioral and electrophysiological responses of Aphids to host and nonhost plant volatiles. *Journal of Chemical Ecology* **17**, 1231–1242.

Nygren J, Shad N, Kvarnheden A, Westerbergh A, 2015. Variation in Susceptibility to Wheat dwarf virus among Wild and Domesticated Wheat. *PLoS ONE* **10**.

Oerke E-C, 2006. Crop losses to pests. *The Journal of Agricultural Science* **144**, 31–43.

Oswald JW, Houston BR, 1951. A new virus disease of cereals, transmissible by aphids. *Plant Disease Reporter* **11**, 471–475.

Oswald JW, Houston BE, 1953. The yellow-dwarf virus disease of cereal crops. *Phytopathology* **43**, 128–136.

Özder N, 2002. Development and fecundity ofSitobion avenae on some wheat cultivars under laboratory conditions. *Phytoparasitica* **30**, 434–436.

Paliwal YC, 1982. Role of perennial grasses, winter wheat, and aphid vectors in the disease cycle and epidemiology of barley yellow dwarf virus. *Canadian Journal of Plant Pathology* **4**, 367–374.

Panayotou PC, 1982. Some aspects on barley yellow dwarf virus host range / Einlge Aspekte zum Wirtspflanzenkreis des Gelbverzwergungs-Virus der Gerste. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz / Journal of Plant Diseases and Protection* **89**, 595–603.

Parizipour MHG, Behjatnia S a. A, Afsharifar A, Izadpanah K, 2016. Natural hosts and efficiency of leafhopper vector in transmission of Wheat Dwarf Virus. *Journal of Plant Pathology* **98**, 483–492.

Parizipour MHG, Schubert J, Behjatnia SAA, Afsharifar A, Habekuß A, Wu B, 2017. Phylogenetic analysis of Wheat dwarf virus isolates from Iran. *Virus Genes* **53**, 266–274.

Parrella G, Gognalons P, Gebre-Selassiè K, Vovlas C, Marchoux G, 2003. An update of the host range of Tomato spotted wilt virus. *Journal of Plant Pathology* **85**, 227–264.

Perry KL, Kolb FL, Sammons B, Lawson C, Cisar G, Ohm H, 2000. Yield effects of Barley yellow dwarf virus in soft red winter wheat. *Phytopathology* **90**, 1043–1048.

Pettersson J, 1973. Olfactory reactions of Brevicoryne brassicae (L.) (Homoptera, Aphididae). *Swedish journal of agricultural research*.

Picó B, Díez MJ, Nuez F, 1996. Viral diseases causing the greatest economic losses to the tomato crop. II. The Tomato yellow leaf curl virus — a review. *Scientia Horticulturae* **67**, 151–196.

Pielou EC, 1966. Species-diversity and pattern-diversity in the study of ecological succession. *Journal of Theoretical Biology* **10**, 370–383.

Pinner MS, Markham PG, Markham RH, Dekker L, 1988. Characterization of Maize streak virus: description of strains; symptoms. *Plant Pathology* **37**, 74–87.

Pinner MS, Medina V, Plaskitt KA, Markham PG, 1993. Viral inclusions in monocotyledons infected by Maize streak and related geminiviruses. *Plant Pathology* **42**, 75–87.

Plantegenest M, Le May C, Fabre F, 2007. Landscape epidemiology of plant diseases. *Journal of the Royal Society Interface* **4**, 963–972.

Pleydell DRJ, Soubeyrand S, Dallot S *et al.*, 2018. Estimation of the dispersal distances of an aphid-borne virus in a patchy landscape. *PLOS Computational Biology* **14**, e1006085.

Plumb RT, 1986. A rational approach to the control of Barley yellow dwarf virus. *Journal of the Royal Agricultural Society of England* **147**, 162–71.

Powell G, Tosh CR, Hardie J, 2006. Host plant selection by aphids: behavioral, evolutionary, and applied perspectives. *Annual Review of Entomology* **51**, 309–330.

Power AG, 1996. Competition between viruses in a complex plant--pathogen system. *Ecology* **77**, 1004–1010.

Power AG, Flecker AS, 2003. Virus Specificity in Disease Systems: Are Species Redundant? In: Kareiva P,, Levin S, eds. *The importance of species. Perspectives on expendability and triage.* 330–351.

Power AG, Irwin ME, 1992. Patterns of virulence and benevolence in insect-borne pathogens of plants. *Critical Reviews in Plant Sciences* **11**, 351–372.

Power AG, Mitchell CE, 2004. Pathogen spillover in disease epidemics. *The American Naturalist* **164**, S79–S89.

Power A, Seaman A, Gray S, 1991. Aphid Transmission of Barley Yellow Dwarf Virus - Inoculation Access Periods and Epidemiologic Implications. *Phytopathology* **81**, 545–548.

Raatikainen M, Vasarainen A, 1973. Early- and high-summer flight periods of leafhoppers.

Ramsell JNE, Boulton MI, Martin DP, Valkonen JPT, Kvarnheden A, 2009. Studies on the host range of the barley strain of Wheat dwarf virus using an agroinfectious viral clone. *Plant Pathology* **58**, 1161–1169.

Randolph SE, Dobson ADM, 2012. Pangloss revisited: a critique of the dilution effect and the biodiversity-buffers-disease paradigm. *Parasitology* **139**, 847–863.

Rapp D, 2019. *Ice ages and interglacials: measurements, interpretation, and models*. Springer.

Read AF, Taylor LH, 2001. The ecology of genetically diverse infections. *Science* **292**, 1099–1102.

Remold SK, 2002. Unapparent virus infection and host fitness in three weedy grass species. *Journal of Ecology* **90**, 967–977.

Reynaud B, Peterschmitt M, 1992. A study of the mode of transmission of maize streak virus by Cicadulina mbila using an enzyme-linked immunosorbent assay. *Annals of Applied Biology* **121**, 85–94.

Riedel C, Habekuß A, Schliephake E, Niks R, Broer I, Ordon F, 2011. Pyramiding of Ryd2 and Ryd3 conferring tolerance to a German isolate of Barley yellow dwarf virus-PAV (BYDV-PAV-ASL-1) leads to quantitative resistance against this isolate. *Theoretical and Applied Genetics* **123**, 69.

Ripl J, Kundu JK, 2015. Cynosurus Cristatus, a new host of Wheat dwarf virus in the Czech Republic. *Journal of Plant Pathology* **97**, 547–547.

Rizzo DM, Garbelotto M, 2003. Sudden oak death: endangering California and Oregon forest ecosystems. *Frontiers in Ecology and the Environment* **1**, 197–204.

Rochow WF, 1959. Transmission of strains of Barley yellow dwarf virus by 2 aphid species. *Phytopathology* **49**, 744–748.

Rochow WF, 1961. The Barley Yellow Dwarf Virus Disease of Small Grains. In: Norman AG, ed. *Advances in Agronomy*. Academic Press, 217–248.

Rochow WF, 1969. Biological properties of four isolates of Barley yellow dwarf virus. *Phytopathology* **59**.

Rochow WF, 1970. Barley yellow dwarf virus: phenotypic mixing and vector specificity. *Science* **167**, 875–878.

Rochow WF, 1979. Field variants of Barley yellow dwarf virus: detection and fluctuation during twenty years. *Phytopathology* **69**, 655.

Rochow W, 1982. Dependent transmission by aphids of Barley yellow dwarf luteoviruses from mixed infections. *Phytopathology* **72**, 302–305.

Rochow WF, Gill CC, 1978. Dependent virus transmission by Rhopalosiphum padi from mixed infections of various isolates of Barley yellow dwarf virus. *Phytopathology* **68**, 451–456.

de Roode JC, Helinski MEH, Anwar MA, Read AF, 2005. Dynamics of multiple infection and within-host competition in genetically diverse malaria infections. *The American Naturalist* **166**, 531–542.

Roossinck MJ, 2010. Lifestyles of plant viruses. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **365**, 1899–1905.

Royer TA, Giles KL, Nyamanzi T *et al.*, 2005. Economic evaluation of the effects of planting date and application rate of imidacloprid for management of cereal aphids and Barley yellow dwarf in winter wheat. *Journal of Economic Entomology* **98**, 95–102.

Sadeghi E, Dedryver CA, Gauthier JP, 1997. Role of acquisition and inoculation time in the expression of clonal variation for BYDV-PAV transmission in the aphid species Rhopalosiphum padi. *Plant Pathology* **46**, 502–508.

Samuel G, 1934. The movement of Tobacco mosaic virus within the plant. *Annals of Applied Biology* **21**, 90–111.

Schalk HJ, Matzeit V, Schiller B, Schell J, Gronenborn B, 1989. Wheat dwarf virus, a geminivirus of graminaceous plants needs splicing for replication. *The EMBO Journal* **8**, 359–364.

Schneider IR, Worley JF, 1959. Rapid entry of infectious particles of southern bean mosaic virus into living cells following transport of the particles in the water stream. *Virology* **8**, 243–249.

Schoelz JE, Harries PA, Nelson RS, 2011. Intracellular transport of plant viruses: finding the door out of the cell. *Molecular Plant* **4**, 813–831.

Schubert J, Habekuß A, Kazmaier K, Jeske H, 2007. Surveying cereal-infecting geminiviruses in Germany—Diagnostics and direct sequencing using rolling circle amplification. *Virus Research* **127**, 61–70.

Schubert J, Habekuß A, Wu B, Thieme T, Wang X, 2013. Analysis of complete genomes of isolates of the Wheat dwarf virus from new geographical locations and descriptions of their defective forms. *Virus Genes* **48**, 133–139.

Seabloom EW, Borer ET, Lacroix C, Mitchell CE, Power AG, 2013. Richness and composition of niche-assembled viral pathogen communities. *PLOS ONE* **8**, e55675.

Seabloom EW, Borer ET, Mitchell CE, Power AG, 2010. Viral diversity and prevalence gradients in North American Pacific coast grasslands. *Ecology* **91**, 721–732.

Seabloom EW, Hosseini PR, Power AG, Borer ET, 2009. Diversity and composition of viral communities: coinfection of barley and cereal yellow dwarf viruses in California grasslands. *The American Naturalist* **173**, E79-98.

Selman IW, Brierley MR, Pegg GF, Hill TA, 1961. Changes in the free amino acids and amides in tomato plants inoculated with tomato spotted wilt virus. *Annals of Applied Biology* **49**, 601–615.

Shannon CE, 1948. A Mathematical Theory of Communication. *Bell System Technical Journal* **27**, 379–423.

Sharma HC, Gill BS, Uyemoto JK, 1984. High Levels of Resistance in Agropyron Species to Barley Yellow Dwarf and Wheat Streak Mosaic Viruses. *Journal of Phytopathology* **110**, 143–147.

Simon J, Blackman R, Legallic J, 1991. Local Variability in the Life-Cycle of the Bird Cherry-Oat Aphid, Rhopalosiphum-Padi (homoptera, Aphididae) in Western France. *Bulletin of Entomological Research* **81**, 315–322.

Simpson EH, 1949. Measurement of Diversity. *Nature* **163**, 688.

Smirnova E, Firth AE, Miller WA *et al.*, 2015. Discovery of a Small Non-AUG-Initiated ORF in Poleroviruses and Luteoviruses That Is Required for Long-Distance Movement. *PLOS Pathogens* **11**, e1004868.

Smith HC, 1955. Notes on new diseases in New Zealand. Commonw. *Phytopathol. News* **1**, 10–11.

Smith HC, 1963. Aphid species in relation to the transmission of barley yellow dwarf virus in Canada. *New Zealand Journal of Agricultural Research* **6**, 1–12.

Smyrnioudis IN, Harrington R, Hall M, Katis N, Clark SJ, 2001. The effect of temperature on variation in transmission of a BYDV PAV-like isolate by clones of Rhopalosiphum padi and Sitobion avenae. *European Journal of Plant Pathology* **107**, 167–173.

Sofonea MT, Alizon S, Michalakis Y, 2017. Exposing the diversity of multiple infection patterns. *Journal of Theoretical Biology* **419**, 278–289.

Soreng RJ, Peterson PM, Romaschenko K *et al.*, 2015. A worldwide phylogenetic classification of the Poaceae (Gramineae). *Journal of Systematics and Evolution* **53**, 117–137.

Soreng RJ, Peterson PM, Romaschenko K *et al.*, 2017. A worldwide phylogenetic classification of the Poaceae (Gramineae) II: An update and a comparison of two 2015 classifications. *Journal of Systematics and Evolution* **55**, 259–290.

Sørensen TA, 1948. A method of establishing groups of equal amplitude in plant sociology based on similarity of species content and its application to analyses of the vegetation on Danish commons. *Biol. Skar.* **5**, 1–34.

Sreejith K, Sebastian CD, 2015. Molecular phylogeny and genetic analysis of green leafhopper. *Indian Journal of Science and Technology* **8**, 61–64.

Stevenson WR, Hagedorn DJ, 1973. Further studies on seed transmission of pea seedborne mosaic virus in Pisum sativum. *Plant Disease Reporter* **57**, 248–252.

Stobbs LW, Van Driel L, Whybourne K, Carlson C, Tulloch M, Van Lier J, 2005. Distribution of plum pox virus in residential sites, commercial nurseries, and native plant species in the Niagara region, Ontario, Canada. *Plant Disease* **89**, 822–827.

Stoner WN, 1977. Barley Yellow Dwarf Virus Infection in Maize

Stubbs LL, Grogan RG, 1963. Necrotic yellows: a newly recognized virus disease of lettuce. *Australian Journal of Agricultural Research* **14**, 439–459.

Subr Z, Glasa M, 2013. Unfolding the secrets of Plum pox virus: from epidemiology to genomics. *Acta Virologica* **57**, 217–228.

Suffert F, Thompson RN, 2018. Some reasons why the latent period should not always be considered constant over the course of a plant disease epidemic. *Plant Pathology* **67**, 1831–1840.

Summers CG (University of C, Newton ASJ, Estrada D, 1996. Intraplant and interplant movement of Bemisia argentifolii (Homoptera: Aleyrodidae) crawlers. *Environmental entomology (USA)*.

Svanella-Dumas L, Candresse T, Hulle M, Marais A, 2013. Distribution of Barley yellow dwarf virus-PAV in the Sub-Antarctic Kerguelen islands and characterization of two new Luteovirus species. *Plos One* **8**, e67231.

Syller J, 2012. Facilitative and antagonistic interactions between plant viruses in mixed infections. *Molecular Plant Pathology* **13**, 204–216.

Syller J, Grupa A, 2016. Antagonistic within-host interactions between plant viruses: molecular basis and impact on viral and host fitness. *Molecular Plant Pathology* **17**, 769–782.

Sylvester ES, 1980. Circulative and Propagative Virus Transmission by Aphids. *Annual Review of Entomology* **25**, 257–286.

Tatchell G, Plumb R, Carter N, 1988. Migration of alate morphs of the bird cherry aphid (Rhopalosiphum-padi) and implications for the epidemiology of Barley yellow dwarf virus. *Annals of Applied Biology* **112**, 1–11.

Thackray DJ, Diggle AJ, Jones R a. C, 2009. BYDV PREDICTOR: a simulation model to predict aphid arrival, epidemics of Barley yellow dwarf virus and yield losses in wheat crops in a Mediterranean-type environment. *Plant Pathology* **58**, 186–202.

Tischendorf L, Fahrig L, 2000. On the usage and measurement of landscape connectivity. *Oikos* **90**, 7–19.

Tishechkin DY, 1999. The variability of acoustic signals and some morphological characters in Psammotettix striatus (Homoptera, Cicadellidae) from Russia and adjacent countries. *Zoologichesky Zhurnal* **78**.

Tjallingii WF, 1987. Stylet penetration activities by aphids: new correlations with electrical penetration graphs. In: *Insects-Plants, V. Labeyrie, G. Fabres & D. Lachaise (eds.). Proc. 6th Int. Symp. Insect-Plant relationships, Pau 1986. W. Junk, Dordrecht*. 301–306.

Tóbiás I, Kiss B, Bakardjieva N, Palkovics L, 2009. The nucleotide sequence of barley strain of Wheat dwarf virus isolated in Bulgaria. *ResearchGate* **37**, 237–242.

Tobias I, Shevchenko O, Kiss B *et al.*, 2011. Comparison of the Nucleotide Sequences of Wheat Dwarf Virus (WDV) isolates from Hungary and Ukraine. *Polish Journal of Microbiology* **60**, 125–131.

Todd JL, Phelan PL, Nault LR, 1990. Orientation of the leafhopper,Dalbulus maidis (Homoptera: Cicadellidae), to different wavelengths of reflected light. *Journal of Insect Behavior* **3**, 567–571.

Tofangsazi N, Kheradmand K, Shahrokhi S, Talebi AA, 2010. Temperature-dependent life history of Schizaphis graminum on barley. *Bulletin of Insectology* **63**, 79–84.

Toko HV, Bruehl GW, 1959. Some host and vector relationships of strains of the Barley yellow-dwarf virus. *Phytopathology* **49**, 343–347.

Traore O, Sorho F, Pinel A *et al.*, 2005. Processes of diversification and dispersion of Rice yellow mottle virus inferred from large-scale and high-resolution phylogeographical studies. *Molecular Ecology* **14**, 2097–2110.

Treshow M, Harper K, 1974. Longevity of perennial forbs and grasses. *Oikos* **25**, 93–96.

Tsai C-W, Chau J, Fernandez L, Bosco D, Daane KM, Almeida RPP, 2008. Transmission of Grapevine leafroll-associated virus 3 by the vine mealybug (Planococcus ficus). *Phytopathology* **98**, 1093–1098.

Turlings TCJ, Tumlinson JH, Lewis WJ, 1990. Exploitation of herbivore-induced plant odors by host-seeking parasitic wasps. *Science* **250**, 1251–1253.

Uppal BN, 1934. The movement of tobacco mosaic virus in leaves of Nicotiana sylvestris. *Indian J Agric Science* **4**, 865–873.

Vacke J, 1961. Wheat dwarf virus disease. *Biologia Plantarum* **3**, 228–233.

Vacke J, 1972. Host plants range and symptoms of Wheat dwarf virus. *Věd Pr Výz Ústavú Rostl Výroby Praha-Ruzyně* **17**, 151–162.

Vacke J, Cibulka R, 1999. Silky bent grass (Apera spica-venti [L.] Beauv.) - a new host and reservoir of wheat dwarf virus. *Plant Protection Science* **35**, 47–50.

Veech JA, Summerville KS, Crist TO, Gering JC, 2002. The additive partitioning of species diversity: recent revival of an old idea. *Oikos* **99**, 3–9.

Vialatte A, Dedryver C-A, Simon J-C, Galman M, Plantegenest M, 2005. Limited genetic exchanges between populations of an insect pest living on uncultivated and related cultivated host plants. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **272**, 1075–1082.

Voinnet O, Vain P, Angell S, Baulcombe DC, 1998. Systemic spread of sequence-specific transgene RNA degradation in plants is initiated by localized introduction of ectopic promoterless DNA. *Cell* **95**, 177–187.

Voller A, Bartlett A, Bidwell DE, Clark MF, Adams AN, 1976. The detection of viruses by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *The Journal of General Virology* **33**, 165–167.

Wang Y, Lee KC, Gaba V, Wong SM, Palukaitis P, Gal-On A, 2004. Breakage of resistance to Cucumber mosaic virus by co-infection with Zucchini yellow mosaic virus: enhancement of CMV accumulation independent of symptom expression. *Archives of Virology* **149**, 379–396.

Wang Y, Mao Q, Liu W *et al.*, 2014. Localization and distribution of *Wheat dwarf virus* in its vector leafhopper, *Psammotettix alienus*. *Phytopathology* **104**, 897–904.

Wang X, Wu B, Wang J, 2008. First report of Wheat dwarf virus infecting barley in Yunnan, China. *Journal of Plant Pathology* **90**, 397–400.

Watson MA, Mulligan T, 1957. Cereal yellow dwarf virus in Great Britain. *Plant Pathology* **6**, 12–14.

Watson MA, Mulligan TE, 1960a. Comparison of two Barley yellow dwarf viruses in glasshouse and field experiments. *Annals of Applied Biology* **48**, 559–574.

Watson MA, Mulligan T, 1960b. The manner of transmission of some Barley yellow dwarf viruses by different aphid species. *Annals of Applied Biology* **48**, 711–720.

Wen F, Lister RM, Fattouh FA, 1991. Cross-protection among strains of Barley yellow dwarf virus. *The Journal of General Virology* **72 (Pt 4)**, 791–799.

Wexler P, Anderson BD, Gad SC *et al.*, 2005. *Encyclopedia of Toxicology*. Academic Press.

Whittaker RH, 1960. Vegetation of the Siskiyou Mountains, Oregon and California. *Ecological Monographs* **30**, 279–338.

Whittaker RH, 1972. Evolution and Measurement of Species Diversity. *Taxon* **21**, 213–251.

Wintermantel WM, Cortez AA, Anchieta AG, Gulati-Sakhuja A, Hladky LL, 2008. Co-infection by two criniviruses alters accumulation of each virus in a host-specific manner and influences efficiency of virus transmission. *Phytopathology* **98**, 1340–1345.

Wintermantel WM, Kaffka SR, 2006. Sugar Beet Performance with Curly Top Is Related to Virus Accumulation and Age at Infection. *Plant disease* **90**, 657–662.

Wisler GC, Norris RF, 2005. Interactions between weeds and cultivated plants as related to management of plant pathogens. *Weed Science* **53**, 914–917.

Worley JF, 1965. Translocation of southern bean mosaic virus in phloem fibers. *Phytopathology* **55**, 1299.

Yamani ME, 1990. Identification and importance of Barley yellow dwarf virus in Morocco. *Plant Disease* **74**, 291.

Yamori W, Hikosaka K, Way DA, 2014. Temperature response of photosynthesis in C3, C4, and CAM plants: temperature acclimation and temperature adaptation. *Photosynthesis Research* **119**, 101–117.

Yu W, Xu Z, Francis F *et al.*, 2013. Variation in the transmission of Barley yellow dwarf virus-PAV by different Sitobion avenae clones in China. *Journal of Virological Methods* **194**, 1–6.

Zadoks JC, Chang TT, Konzak CF, 1974. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research* **14**, 415–421.

Zhang XS, Holt J, 2001. Mathematical models of cross protection in the epidemiology of plant-virus diseases. *Phytopathology* **91**, 924–934.

Zhou X, Carter N, 1992. Effects of temperature, feeding position and crop growth stage on the population dynamics of the rose grain aphid, Metopolophium dirhodum (Hemiptera: Aphididae). *Annals of Applied Biology* **121**, 27–37.

Zúniga E, 1990. *Biological control of cereal aphids in the Southern Cone of South America.*

Figures annexes

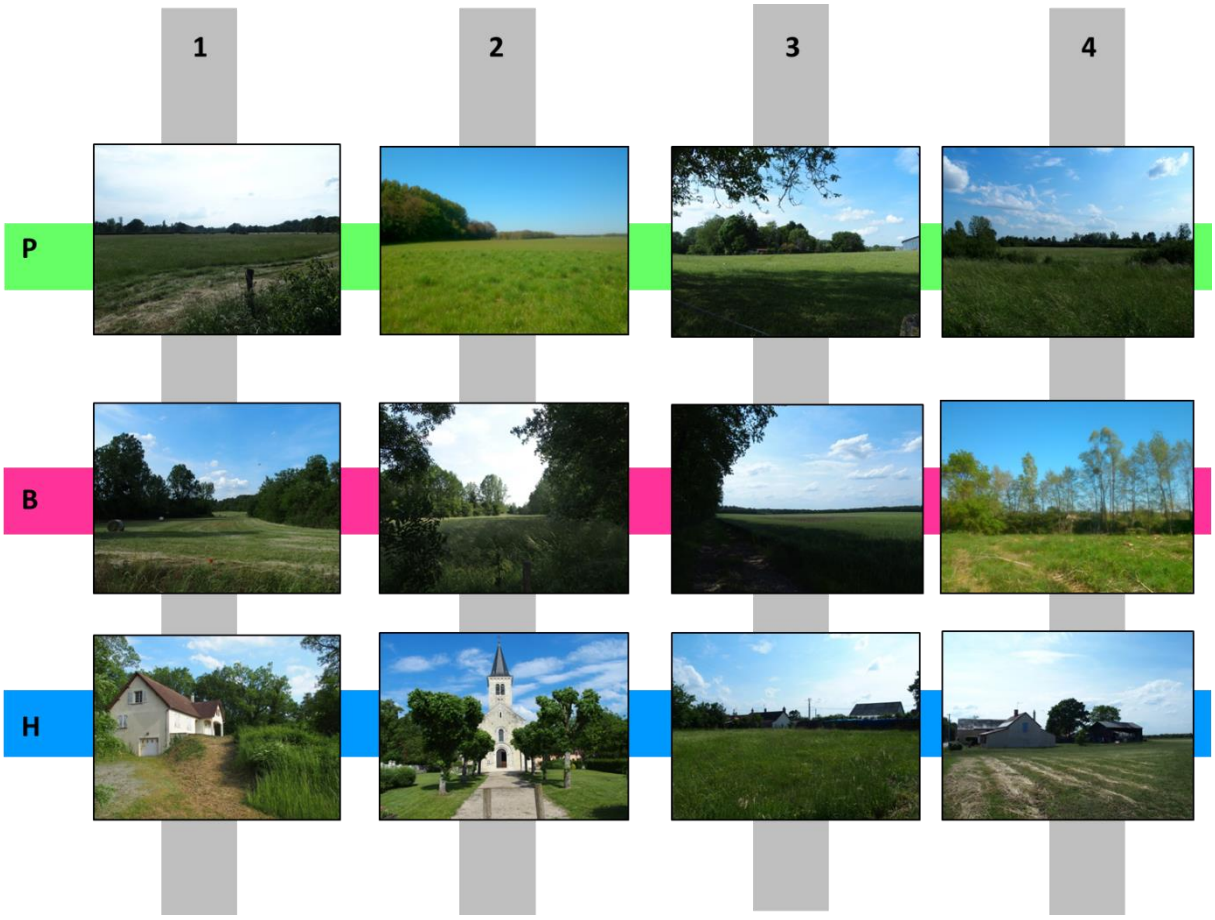


Figure annexe 1 : Photographies des différentes zones d'Annoix. P : zones de prairie, B : zones boisées, H : zones habitées. Pour chaque habitat, le numéro correspond à celui indiqué sur le plan. Les photos ont été prises en juin 2019, à l'exception de P2 et B4, prises en avril 2017.

Annexe 2

Figure annexe A2a: Représentation de la répartition des différentes OD405 en fonction du type d'échantillon concerné pour le BYDV-PAV en CCI. Blc : blanc, V : vide. Les différentes couleurs sont relatives aux différentes plaques testées. Les deux témoins manips au dessus de seuil sont en dessous de leur seuil spécifique.

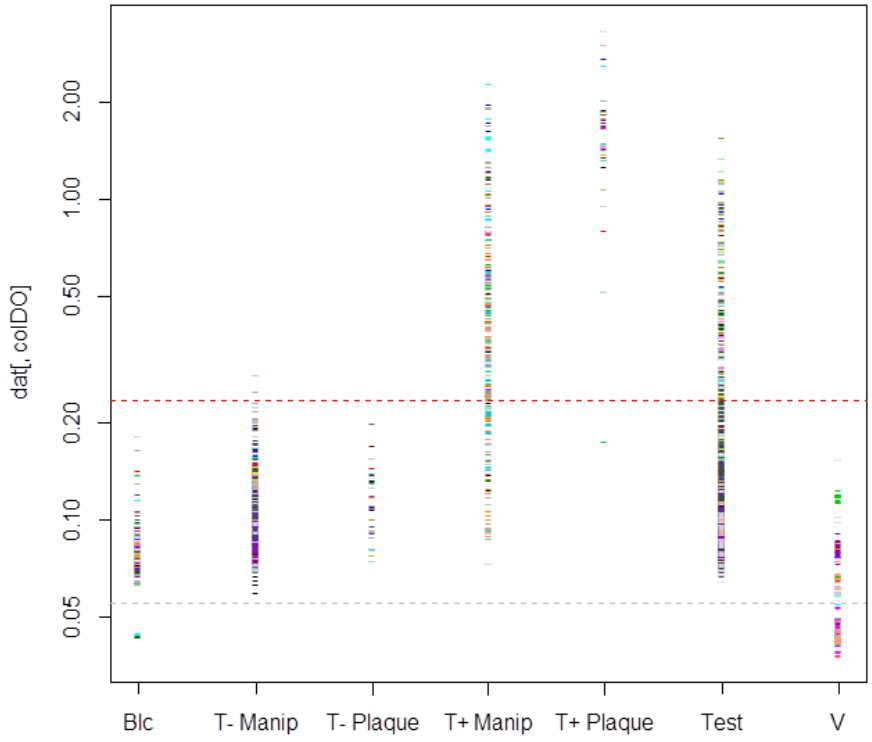


Figure annexe A2b: Représentation de la répartition des différentes OD405 en fonction de la plaque testée pour le BYDV-PAV. Les couleurs sont relatives aux différents types d'échantillons.

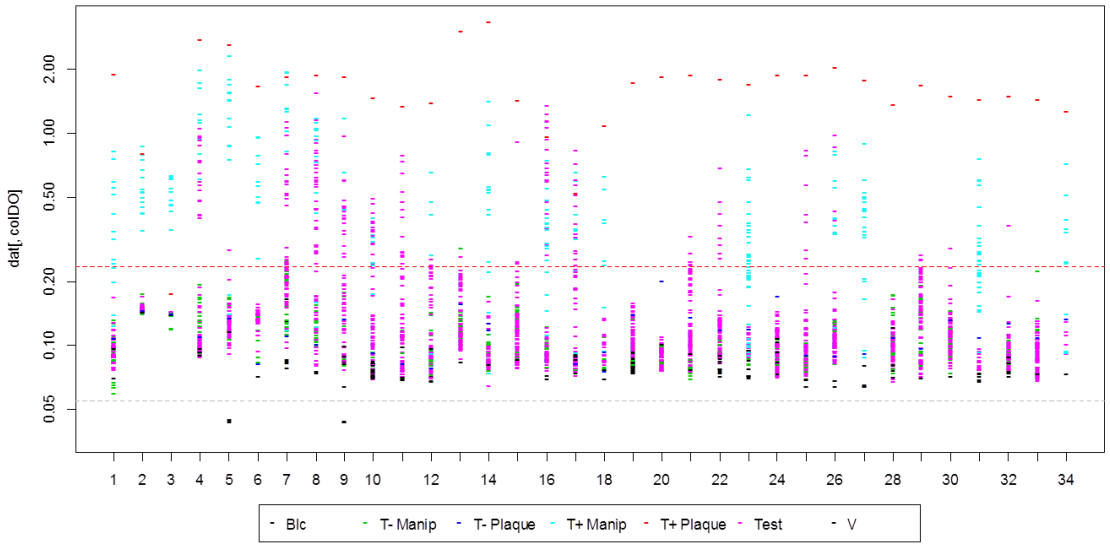


Figure annexe A2a: Représentation de la répartition des différentes OD405 en fonction du type d'échantillon concerné pour le WDV en CCI. Blc : blanc, V : vide. Les différentes couleurs sont relatives aux différentes plaques testées. Le témoin manip le plus bas est en dessous de son seuil de positivité spécifique.

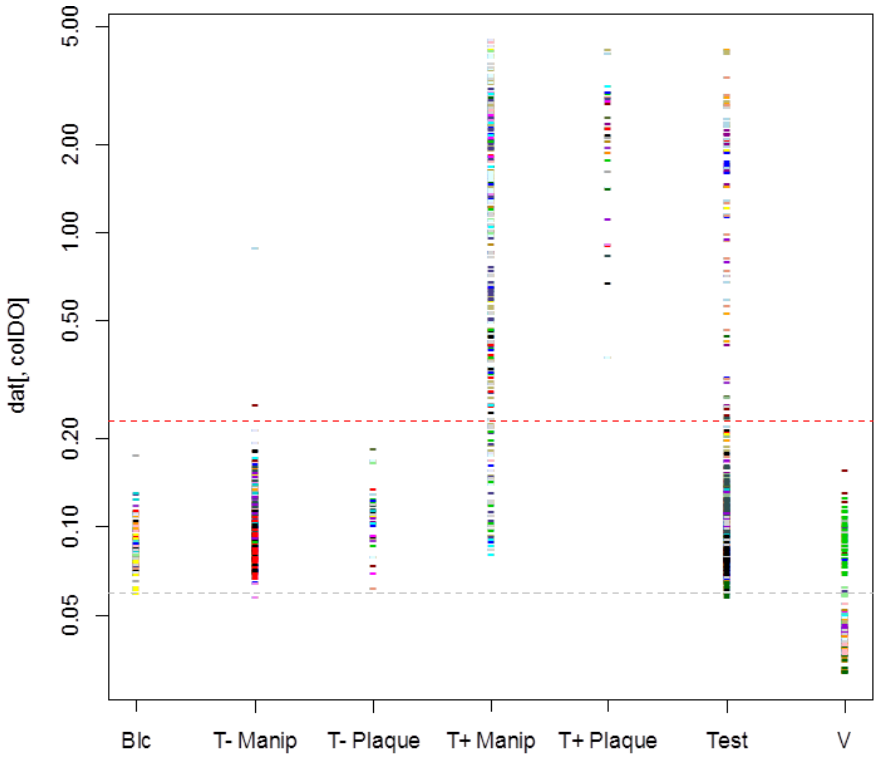
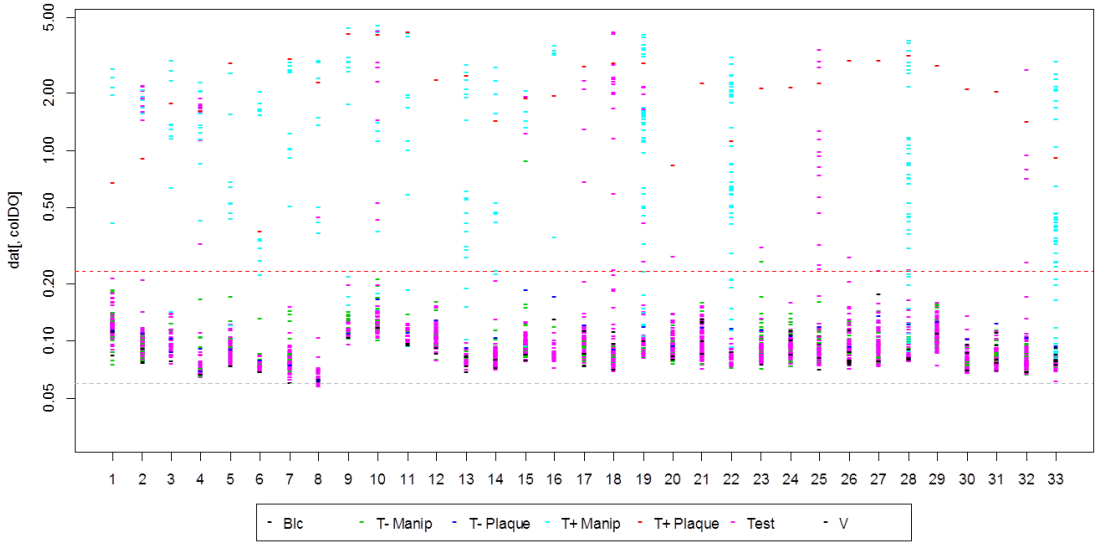


Figure annexe A2b: Représentation de la répartition des différentes OD405 en fonction de la plaque testée pour le WDV. Les couleurs sont relatives aux différents types d'échantillons.



Production scientifique

Articles dans des revues internationales à comité de lecture

PROPOSÉS

Gauthier K ., Souquet M., Dallot S., Thébaud G. and Jacquot E, Interactions between Barley yellow dwarf virus PAV and Wheat dwarf virus in co-inoculated barley plants

Mc Namara L., **Gauthier K.**, Walsh L., Thébaud G., Gaffney M. and Jacquot E. Control of aphid borne cereal viruses in a post-neonicotinoid agriculture

EN PREPARATION

Gauthier K ., Dallot S., Souquet M., de Keyzer A., Jacquot E. and Thébaud G, Barley/Cereal yellow dwarf viruses and *Wheat dwarf virus* infections in wild *Poaceae* hosts (en preparation)

Communications orales

COLLOQUES INTERNATIONAUX

Gauthier K., Souquet M., de Keyzer A ., Delebarre T., Dallot S., Thébaud G., and Jacquot E. Ecology of cereal dwarf viruses in an agricultural landscape. 14th International Plant Virus Symposium, Seoul, South Korea. May 2019.

Abt I., Souquet M., Derlink M., Angot G., **Gauthier K.**, Mabon R., Thébaud G., Virant-Doberlet M. and Jacquot E. Inoculation of *Wheat dwarf virus* strains to wheat and barley plants by *Psammotettix alienus.* 3rd Hemipterian-Plant Interaction Symposium, Madrid, Spain. April 2017.

COLLOQUES NATIONAUX

Gauthier K., Souquet M., de Keyzer A., Delebarre T., Dallot S., Thébaud G. and Jacquot E. Identification of new wild host species for *Barley/Cereal yellow dwarf virus* and *Wheat dwarf virus.* 17th Meeting of plant virology, Aussois, France. January 2019.

SÉMINAIRES EXTERNES

Gauthier K. Ecology of cereal dwaf viruses in an agricultural landscape. *E-SPACE meetings*. Montpellier, September 2019.

Gauthier K. Epidemiology of two viral complexes: WDV and B/CYDV. *E-SPACE meetings*. Montpellier, June 2017.

Gauthier K., Abt I., Deshoux M., de Keyzer A., Letroublon M., Dallot S., Thébaud G. and Jacquot E. Study of virus flows between wild and cultivated *Poaceae*. *9ème Spring of Baillarguet.* Montpellier, May 2017.

SÉMINAIRES INTERNES

Gauthier K. Wild reservoirs for *Barley/Cereal yellow dwarf virus* and *Wheat dwarf virus*. *BGPI Meetings*. Montpellier, December 2018.

Gauthier K. Characterization of wild hosts for cereal dwarf viruses of *Poaceae*. *BGPI Meetings.* Montpellier, November 2017.

Posters

COLLOQUES INTERNATIONAUX

Gauthier K., Abt I., Deshoux M., Marchat S., Temple C., de Keyzer A., Letroublon M., Dallot S., Thébaud G. et Jacquot E. Epidemiology of barley yellow dwarf and wheat dwarf diseases. 3rd Hemipterian-Plant Interaction Symposium, Madrid, Spain. April 2017.

Abt I., Souquet M., Derlink M., Temple C., **Gauthier K.**, de Keyzer A., Letroublon M., Dallot S., Thébaud G., Virant-Doberlet M. et Jacquot E. *Psammotettix alienus*-mediated inoculation of barley and wheat strain of *Wheat dwarf virus* to wild gramineous species. 3rd Hemipterian-Plant Interaction Symposium, Madrid, Spain. April 2017.

COLLOQUES NATIONAUX

Gauthier K., Abt I., Deshoux M., Marchat S., Temple C., de Keyzer A., Letroublon M., Dallot S., Thébaud G. and Jacquot E. Study of virus flows between wild and cultivated *Poaceae.* 16th Meeting of plant virology, Aussois, France. January 2017

Abt I., Souquet M., Temple C., **Gauthier K.**, de Keyzer A., Letroublon M., Dallot S., Thébaud G. and Jacquot E. Characterization of the host range of barley and wheat strains of *Wheat dwarf virus.* 16th Meeting of plant virology, Aussois, France. January 2017

TRANSFERT/VULGARISATION

Gauthier K., Abt I., Deshoux M., Souquet M., de Keyzer A., Letroublon M., Dallot S., Thébaud G**.,** Jacquot E. (2017) Study of WDV and B/CYDV host ranges. *Crop protection technical meetings BayerCropScience*. Annoix, April 2017. (Poster)

Abt I., Plat V., **Gauthier K**., de Keyzer A., Letroublon M., Dallot S., Thébaud G**.,** Jacquot E. (2017) Key factors driving barley yellow dwarf epidemiology. *Crop protection technical meetings BayerCropScience*. Annoix, April 2017. (Poster)

Ecology of cereal dwarf viruses: wild reservoirs and interaction between viruses

Barley/Cereal yellow dwarf viruses (B/CYDV, *Luteoviridae* family*, Luteovirus* or *Polerovirus* genera) and *Wheat dwarf virus* (WDV, *Geminiviridae* family*, Mastrevirus* genus) are the causal agents of the main viral diseases of cereals. These viruses are exclusively transmitted in a persistent nonpropagative manner by several aphid species (B/CYDV) and a single leafhopper species (WDV). The host plants of these viruses belong to the *Poaceae* family. The control methods against these viruses mostly rely on the use of insecticides, especially from the neonicotinoids family. These molecules are efficient but generate indirect costs (especially environmental costs) which have caused their ban in Europe. Understanding the spread of B/CYDV and WDV is a mandatory step to propose alternative disease management strategies. The harvest of the small-grain cereal crops (beginning of summer) induces a gap in the epidemic dynamics by removing the cultivated infected hosts from the landscape. As the next growing period for small-grain winter cereals starts at the beginning of fall, the emergence of B/CYDV and WDV epidemics only seems possible in the presence of other infected viral reservoirs where the viruses are maintained at least between interculture and the sowing of the cereals. The identification of these reservoirs is an important element to explain the annual emergence of these diseases. Among the possible candidates, numerous wild gramineous species (150 for B/CYDV and 21 for WDV) are described to be host for these viruses. Field samplings and inoculations under controlled condition performed during my PhD showed that despite the presence of numerous host species in the landscape, global prevalence were low (B/CYDV) or even zero (WDV) in the landscape although these viruses are often detected in the neighboring crops. The presence of a potential wild B/CYDV reservoir is confirmed but an alternative reservoir might be required to explain the initiation of WDV epidemics. The low B/CYDV prevalence in this reservoir may be attributed to the low susceptibility of the species and/or to the low vector abundance. This prevalence, although limited, could be sufficient to allow the emergence of viral cereal epidemics during the new cultivation cycle. Once initiated, the epidemics of cereal diseases may spread within the fields. The factors driving the individual spread of the different viruses within the fields have been identified but few studies considered viral coinfections within a single plant. Some of the cereals (e.g. wheat and barley) host both BYDV-PAV and WDV. An interaction between these viruses may influence their spread in the fields. The second part of my PhD consisted in the study of interactions between these viruses and highlighted a drop in WDV infection rates when inoculated to a plant previously infected by BYDV-PAV (the reciprocal effect being false). If this phenomenon is effective in the field, it might alter the dispersal dynamics of WDV in barley fields infected by BYDV-PAV. Altogether, these results provide new insights into the role of the wild compartment in the annual emergence of B/CYDV and WDV epidemics, and indicate a potential interaction during their spread in cereal fields.

Keywords: Epidemiology, BYDV, CYDV, WDV, *Poaceae*, mixed infections

Ecologie de virus responsables de nanisme des céréales :
réservoirs sauvages et interactions entre virus

Le complexe des Barley/Cereal yellow dwarf viruses (B/CYDV, famille *Luteoviridae,* genres *Luteovirus* ou *Polerovirus*) et le *Wheat dwarf virus* (WDV, famille *Geminiviridae,* genre *Mastrevirus*) sont les agents responsables des principales maladies virales sur céréales. L'ensemble de ces virus est exclusivement transmis de manière persistante et non multipliante par plusieurs espèces de pucerons (B/CYDV) et une seule espèce de cicadelle (WDV). Toutes les plantes hôtes de ces virus appartiennent à la famille des *Poaceae.* La lutte contre ces virus repose généralement sur l'utilisation d'insecticides, notamment de la famille des néonicotinoïdes. Ces molécules, bien qu'efficaces, sont à l'origine de couts indirects élevés (notamment environnementaux) qui ont récemment entrainé leur interdiction en Europe. Pour proposer des stratégies alternatives de gestion des viroses des céréales, il est nécessaire d'enrichir les connaissances sur le fonctionnement des épidémies de B/CYDV et de WDV. La récolte des céréales à paille (début été) induit une rupture dans les dynamiques des épidémies en retirant du paysage les hôtes cultivés infectés. Le semis des céréales d'hiver ayant lieu en début d'automne, l'émergence des épidémies de B/CYDV et de WDV dans les cultures n'est possible qu'en présence de réservoirs viraux infectés où les virus sont maintenus durant l'interculture jusqu'à cette période. L'identification de ces réservoirs est un élément important pour expliquer l'émergence annuelle de ces épidémies. Parmi les candidats possibles, de nombreuses espèces de graminées sauvages (150 pour les B/CYDV et 21 pour le WDV) sont décrites comme hôtes de ces virus. Les prélèvements sur le terrain et les inoculations en conditions contrôlées réalisés au cours de ma thèse ont permis de montrer que malgré la présence de nombreuses espèces hôtes dans le paysage, les prévalences globales étaient faibles (B/CYDV) voire nulles (WDV) dans le compartiment sauvage alors que ces virus sont régulièrement détectés dans les cultures voisines. La présence d'un réservoir sauvage potentiel pour les B/CYDV est ainsi confirmée, mais un réservoir alternatif semble nécessaire pour expliquer l'initiation des épidémies de WDV en parcelles cultivées. La faible prévalence des B/CYDV dans le réservoir sauvage pourrait être due à une faible sensibilité aux infections des espèces hôtes présentes et/ou à une faible abondance de vecteurs. Bien que faible, cette prévalence pourrait suffire pour permettre l'émergence des épidémies de viroses des céréales lors d'un nouveau cycle de culture. Une fois initiées, les épidémies de viroses de céréales risquent de se propager dans les parcelles. Les facteurs favorisant la propagation individuelle des différents virus dans les cultures céréalières ont été identifiés mais peu d'études considèrent la co-infection d'une même plante par plusieurs virus. Certaines céréales (notamment le blé et l'orge) étant des hôtes communs au BYDV-PAV et au WDV, une interaction entre ces virus pourrait influencer leur dispersion dans les parcelles. La deuxième partie de ma thèse, ayant pour objectif d'étudier l'interaction entre ces virus, a permis de mettre en évidence une diminution du taux d'infection de l'orge par le WDV quand la plante hôte est préalablement infectée par le BYDV-PAV (la réciproque n'étant pas observée). Si ce phénomène est effectif au champ, il pourrait modifier la dynamique de dispersion du WDV dans les parcelles d'orge infectées par le BYDV-PAV. L'ensemble de ces résultats permet de mieux appréhender le rôle du compartiment sauvage dans l'émergence d'épidémies annuelles de B/CYDV et de WDV, et d'identifier une interaction potentielle entre ces virus lors de leur développement épidémique au champ.

Mots clés : Epidémiologie, BYDV, CYDV, WDV, *Poaceae*, infections multiples