

**AFPP – 6^e CONFÉRENCE SUR LES MOYENS ALTERNATIFS DE PROTECTION
POUR UNE PRODUCTION INTÉGRÉE
LILLE – 21, 22 ET 23 MARS 2017**

**PERSPECTIVE DE LUTTE CONTRE LES INSECTES MONOPHAGES
DU PAYSAGE CHIMIQUE À LA PROTECTION DES PLANTES**

E. LEPIK ⁽¹⁾, C. PINIER ⁽¹⁾, C. ROBERT ⁽²⁾, V. BIARNES ⁽²⁾, P. TAUPIN ⁽⁴⁾, J.-B. THIBORD ⁽³⁾ et B. FRÉROT ⁽¹⁾

⁽¹⁾ INRA DE VERSAILLES, UMR 1392, IEES-PARIS, RD 10, ROUTE DE SAINT-CYR, 78000 VERSAILLES
CEDEX, FRANCE, brigitte.frerot@inra.fr

⁽²⁾ TERRES INOVIA, AVENUE LUCIEN BRETIGNIERES, 78850 THIVERVAL GRIGNON, FRANCE

⁽³⁾ ARVALIS - INSTITUT DU VEGETAL, AGROSITE DE PAU-MONTARDON, CHEMIN DE PAU, 64121
MONTARDON, FRANCE

⁽⁴⁾ ARVALIS - INSTITUT DU VEGETAL, SERVICE GENETIQUE ET PROTECTION DES PLANTES, STATION
EXPERIMENTALE, 91720 BOIGNEVILLE, FRANCE

RÉSUMÉ

Les insectes utilisent les signaux chimiques pour localiser la plante-hôte, s'alimenter, se reproduire. Au travers de la co-évolution insecte-plante, les ravageurs monophages ont développé une sensibilité aiguë vis-à-vis des composés organiques volatils (COV) émis par leurs plantes-hôtes. Chaque agro-biocénose émet un signal chimique spécifique et chaque ravageur perçoit une information spécifique produite par l'hôte. Le couplage entre les études de la biologie des ravageurs, les identifications des COV d'intérêt ont permis d'ouvrir de nouvelles perspectives en matière de lutte contre les ravageurs de grandes cultures.

Mots-clés : leurre, composés organiques volatils, plante-hôte, bruche de la féverole, SPME, GC-MS, paysage chimique.

ABSTRACT

Insects use chemical signals to locate their host plants and reproduce. Through insect-plant co-evolution, the monophagous pests have developed an acute sensitivity to volatile organic compounds (VOCs) emitted by their host plants. Each agro-biocenosis releases a specific chemical profile and each insect pest receives specific information from the host-plant. Combination of the studies on pest biology and VOC identification opens new perspectives for pest management.

Keywords: lure, volatile organic compound, host plant, Faba bean weevil, SPME, GC-MS, odorscape, mass trapping, insect monitoring.

INTRODUCTION

La plupart des plantes vasculaires émettent des cocktails d'odeurs à base de composés organiques volatils (COV), qui sont des métabolites secondaires, principalement des terpènes, des composés benzénoïques, des alcools et aldéhydes (Atkinson *et al.* 2003; Dudareva *et al.* 2006). Les COV sont très réactifs dans l'atmosphère, avec une durée de vie relativement courte (Atkinson *et al.* 2003). Un champ de lavande, une forêt de résineux et une parcelle de colza en fleur ont pour le nez de l'homme des senteurs différentes et nous sommes capables, les yeux fermés de les nommer et de les distinguer. Chaque biotope, chaque parcelle cultivée émet un mélange de COV spécifiques constituant un paysage chimique original (Leppik *et al.* 2014a).

Le paysage chimique d'une agro-biocénose est composé de dizaines des COV (Leppik *et al.* 2014a) pour la plupart communs à plus de 50 % des familles botaniques (Knudsen *et al.* 2006). La spécificité du signal n'est pas assurée par la présence de certains produits rares même dans le cas de relations très spécialisées entre l'insecte et sa plante-hôte mais par la qualité et le ratio des COV (Bruce *et al.* 2005). L'émission des COV par les plantes dépend des conditions biotiques : métabolisme de la plante, stade de développement de la plante, présence des bio agresseurs *etc.*, et des facteurs abiotiques : les conditions climatiques, le cycle circadien, la nature du sol, le déficit hydrique, la pollution, *etc.*) (Holopainen *et al.* 2010a; Jakobsen *et al.* 1994; Loreto *et al.* 2010).

Les insectes comptent principalement sur leur odorat pour localiser la plante hôte et effectuer le choix final (Beyaert *et al.* 2014; Holopainen 2004). Leur système olfactif est extrêmement sensible au moindre changement du profil odorant de leur environnement chimique ; la connexion avec le signal de la plante-hôte s'est affinée au fil de la coévolution (Bruce *et al.* 2011). Les insectes naviguent dans une soupe odorante où ils font la différence entre les plantes-hôtes et non-hôtes. D'un point de vue évolutif, la relation étroite entre l'insecte et sa plante-hôte est un gage de sécurité pour l'insecte et sa descendance. Cette grande spécialisation à la plante-hôte est un atout majeur pour lutter contre ces insectes monophages. La connaissance des signaux chimiques et de l'olfaction chez l'insecte peut nous permettre d'imiter les signaux chimiques sur lesquels reposent les grandes étapes de la vie de l'insecte spécialiste et de les utiliser comme agent de contrôle des populations. Combinée aux autres méthodes de lutte, cette idée présente beaucoup d'avantages par rapport aux méthodes classiques qui font recours aux insecticides.

- 1) Les insectes spécialistes ne deviennent pas « résistants » aux odeurs de leur plante-hôte.
- 2) Les odeurs sous leurs formes de synthèse ne sont pas toxiques pour l'environnement.
- 3) Les attractifs sont spécifiques à chaque espèce spécialisée d'où un risque minimum pour la biodiversité et les insectes auxiliaires.

L'utilisation des odeurs des plantes pour contrôler les populations des ravageurs est un domaine qui présente une forte potentialité dans le contexte actuel où de plus en plus de molécules insecticides efficaces sont retirées du marché pour des raisons de toxicité ou d'environnement.

Dans la littérature, il existe beaucoup d'informations sur les COV émis par des plantes dans les conditions contrôlées du laboratoire qui sont soit coupées, soit en pot. Ces conditions expérimentales présentent l'avantage de ne pas être soumises aux aléas des conditions extérieures et aux difficultés de déplacer certains matériels de prélèvement sur le terrain. Les avancées techniques des dernières décennies dans le domaine des instruments d'analyses, nous ont permis de franchir les murs du laboratoire et d'effectuer les prélèvements directement dans le champ. Miniaturisation des pompes, standardisation des résines d'absorption (Tholl *et al.* 2006) et surtout l'arrivée des fibres SPME (Solide Phase Micro Extraction) (Pawliszyn 1997) ont grandement facilité les prélèvements des odeurs hors des conditions contrôlées de laboratoire (Cornu *et al.* 2015; Leppik *et al.* 2014a).

L'étude présentée démontre que pour aboutir à une utilisation agronomique des signaux chimiques issus de la plante-hôte, et en amont de l'identification des COV, il faut tout d'abord étudier la biologie de l'insecte, ses cycles physiologiques et son comportement (Tholl *et al.* 2006). Le signal émis par la plante est dynamique et change au cours du développement de la plante (Leppik *et al.*

2014b), au cours des saisons (Holopainen *et al.* 2010b) et au cours du cycle circadien (Leppik *et al.* 2014c). Il faut associer cette dynamique d'émission à la biologie et au comportement de l'insecte. La bruche de la féverole (*Bruchus rufimanus* (Boheman) (Coleoptera, Bruchidae) servira à illustrer notre propos. La bruche de la féverole est le principal ravageur de la féverole dans l'hémisphère nord et en France (Huignard 2011). Les dégâts provoqués par les larves de la bruche sont très préjudiciables à la qualité des graines destinées à l'alimentation humaine ou à la production de semence. La maîtrise des populations de bruche est indispensable pour la filière de la féverole. Les perspectives d'utilisation des COV pour maîtriser les populations des ravageurs sont présentées et discutées.

MATERIEL ET METHODES

PRELEVEMENT DES ODEURS

Site d'échantillonnage des COV de la féverole et des expérimentations de terrain

Les COV sont prélevés in situ dans un champ de féverole de 15 ha (Villiers le Bâcle, Yvelines, France) (48°44'11.5"N 2°06'44.3"E) planté avec la variété Espresso. Les COV sont prélevés dans un espace de tête statique, au stade fleur (n=6) et gousse (n=6), pendant la période d'activité des insectes. Les fibres SPME sont introduites dans l'espace de tête formé par un sac en téflon de 30x30 cm, pendant 5 heures. A la fin du prélèvement, les fibres sont enveloppées dans une feuille d'aluminium et placées dans des tubes en verre et sont stockées au congélateur avant les analyses en GC-MS.

Prélèvements des COV du maïs

Les COV sont prélevés dans l'espace de tête d'un maïs cultivé au champ, au stade 4 feuilles (Grignon, Yvelines, France) (48° 85 'N, 1,9° 68' E) sur la variété Troubadour. Les fibres SPME sont exposées dans l'espace de tête (50 x 30 cm) pendant 2 heures pendant le jour et en début de nuit (13 :00-15 :00 et 22 :00-00 :00).

Prélèvements des COV des paysages chimiques des cultures

Les paysages chimiques des différentes cultures : colza, luzerne, maïs, vigne sont prélevés avec des fibres SPME qui sont exposées directement dans la culture pendant 3 à 6 heures durant la journée.

ANALYSE DES COV

Les fibres SPME

Les fibres SPME utilisées sont des Divinylbenzene/Carboxen/Polydiméthylsiloxane (DVB/CAR/PDMS-50/30 µm. Supelco).

Les analyses chimiques des COV

Les fibres sont désorbées dans l'injecteur d'un chromatographe en phase gazeuses (Sciex 436) couplé au détecteur masse simple quad SQ™ (Bruker). Les COV sont séparés sur une colonne Rxi-5ms (Restek, France) 30 m x 0,32 mm I.D., épaisseur de film 0,5 µm. Le four de la colonne est programmé de 50°C à 300°C-par pas de 8°C/minute. Hélium est utilisé comme gaz vecteur. Les spectres de masse sont obtenus en mode impact électronique (70 eV) avec la chambre d'ionisation chauffée à 250°C.

Les COV élués des fibres SPME sont identifiés grâce à leurs spectres de masse et leur indice de rétention (RI). Les RI sont calculés en utilisant les n-alcane C₁₀ à C₂₄, élués dans les mêmes conditions que les échantillons. Les spectres des composés élués et les RI sont comparés à ceux des authentiques du laboratoire et de la bibliothèque de NIST 2011 par le biais de AMDIS32.

FORMULATIONS ET TESTS DES ATTRACTIFS POUR LA BRUCHE

Deux formulations candidates : « Fleur A » et « Fleur B », reproduisant l'odeur de la fleur et contenant six à huit composés pertinents pour l'insecte ont été testées à trois différentes doses (notées : 1, 5 et 10) dans les conditions du champ. Chaque formulation est contenue dans un diffuseur associé à un piège. Chaque formulation, y compris le contrôle, est répétée quatre fois. Les pièges sont espacés d'au moins dix mètres et ont été relevés chaque semaine.

Suivi du statut physiologique des bruches

Pour connaître l'état physiologique des bruches dont le comportement est observé sur le terrain ou au laboratoire, l'appareil génital des femelles est disséqué chaque semaine sous la loupe binoculaire. Les ovarioles sont colorés au bleu de méthylène pour une meilleure visualisation de leur développement et de la présence des oeufs. Le statut de femelles accouplées est établi par l'observation au microscope de la spermathèque.

RESULTATS

Paysage chimique des grandes cultures

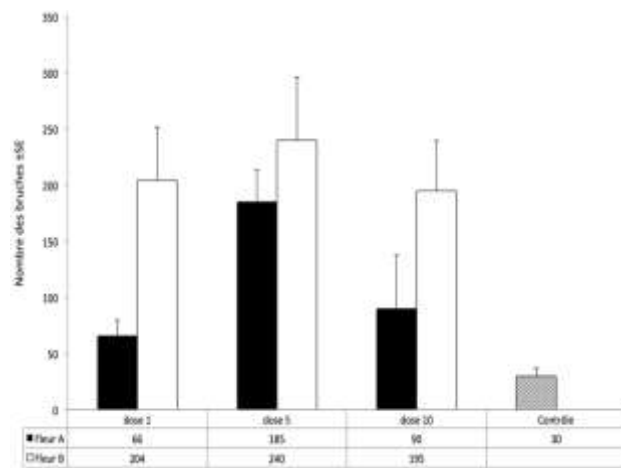
La signature chimique d'une grande culture est complexe et composé de COV majoritaires et minoritaires. Chaque culture possède son propre profil odorant bien que certaines partagent les mêmes constituants volatils (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**). Les COV sont émis par les plantes dans des ratios spécifiques pour chaque espèce. La spécificité du paysage chimique est liée à un assemblage original de molécules peu spécifiques des groupes botaniques, présentes dans des ratios bien précis.

Paysage chimique du champ de maïs

Le paysage chimique d'un champ de maïs est relativement pauvre, composé d'une dizaine de COV. C'est un mélange à base d'odeurs vertes, de monoterpènes et de sesquiterpènes dont les ratios changent entre le jour et la nuit (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**). Les sesquiterpènes sont majoritairement émis pendant le jour tandis que les monoterpènes et certaines odeurs vertes comme cis-3-hexenyl acétate sont majoritairement émis pendant la nuit.

La signature chimique de la féverole

La signature chimique de la féverole est un bouquet d'une vingtaine de COV dont le taux d'émission et la composition changent au cours du temps, avec le développement de la plante (Figure 4. Etat physiologique des bruches en relation de leur comportement et le stade phénologique de la féverole. [Physiological stage of Broad Bean Weevil females in relation to behaviour and phenological stage of the Faba beans.]



). La féverole au stade de fleur, émet un mélange complexe de divers sesquiterpènes et des odeurs vertes. Par rapport au stade gousse, l'émission totale des sesquiterpènes est doublée en pleine floraison. La signature chimique des gousses est un bouquet constitué par les odeurs vertes et des monoterpènes.

État physiologique de la bruche en relation avec son comportement

L'état physiologique et le comportement de la bruche changent au cours de son cycle de vie (Figure 4). À la sortie de l'hibernation, les bruches sont sexuellement immatures et ne sont pas attirées par le champ de féverole au stade de feuille. Au début de la floraison, les bruches colonisent le champ pour s'y alimenter et s'accoupler. À ce stade, les femelles commencent à être sexuellement matures avec des ovarioles bien développés. Au stade de gousse, les femelles ont des oeufs dans les ovarioles, elles sont alors très attirées par les odeurs des gousses vertes où elles pondent des oeufs.

Piégeage des bruches avec les attractifs « fleurs »

Les bruches sont attirées par les deux formulations testées. Pour les trois concentrations testées (doses 1, 5 et 10), la formulation « Fleur B » a capturé toujours plus de bruches que la formulation « Fleur A » (Figure 5). Pour les deux formulations, la dose 5 est la plus efficace pour attirer les bruches. Avec la dose 5, la formulation « Fleur B » a capturé 1,3 fois plus de bruches que la formulation « Fleur A » (Figure 6) ce qui constitue une optimisation, avec en moyenne 240 bruches par piège par semaine pour 185 bruches avec l'attractif « Fleur A ».

Figure 1. Les profils chromatographiques des paysages chimiques des grandes cultures : le colza, la luzerne, le maïs et la vigne. [The GC traces of the chemical odorscapes of following crops: rapeseed, alfalfa, maize and vine.]

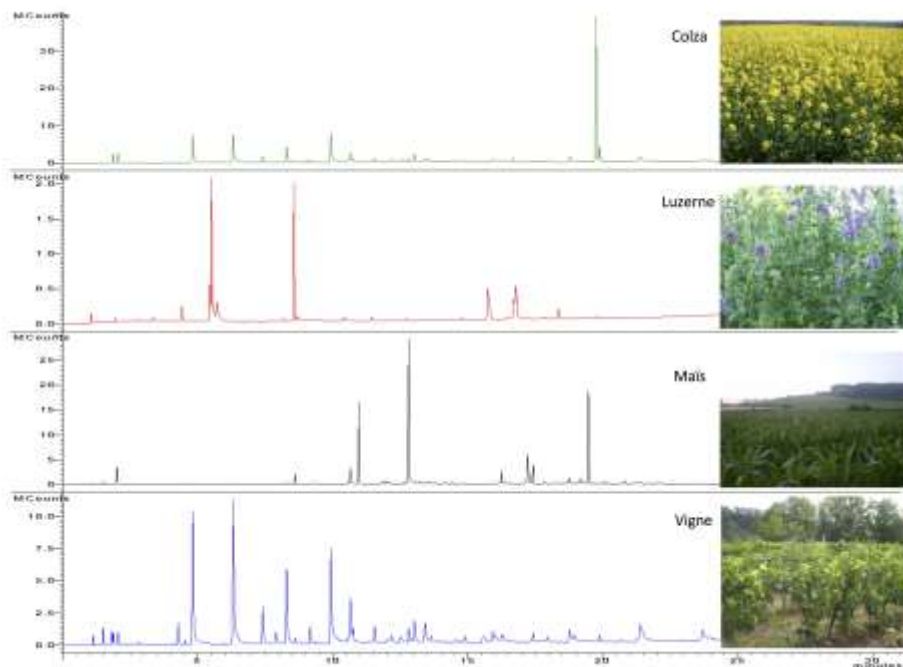


Figure 2. Les profils chromatographiques de l'espace de tête du maïs prélevé par SPME pendant le jour et la nuit *in situ* dans le champ de maïs. [The GC traces of maize headspaces sampled by SPME during the day and night *in situ* in the maize field.]

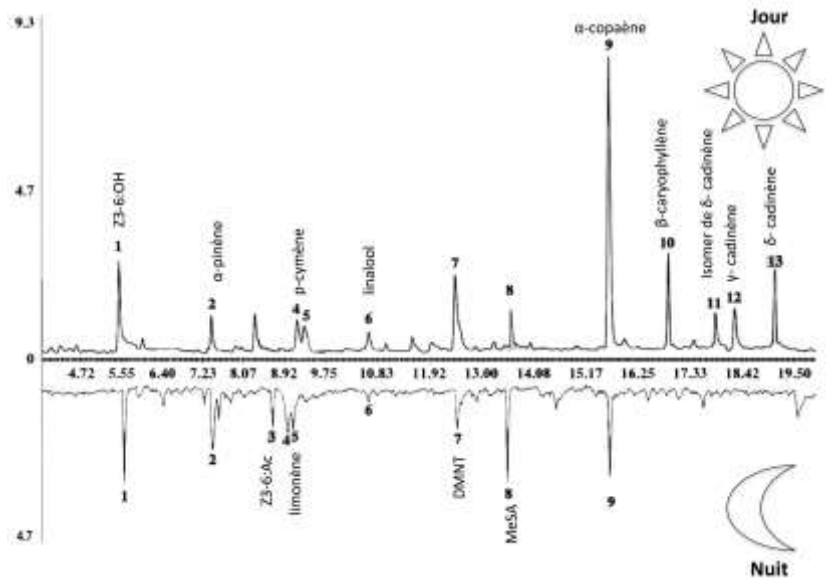


Figure 3. Les profils chromatographiques de l'espace de tête de la féverole prélevé par SPME aux stades, fleur et gousse, *in situ* dans le champ de féverole. [The GC traces of the Faber beans headspace sampled by SPME at the flower and pod stages *in situ* in the Faber bean field.]

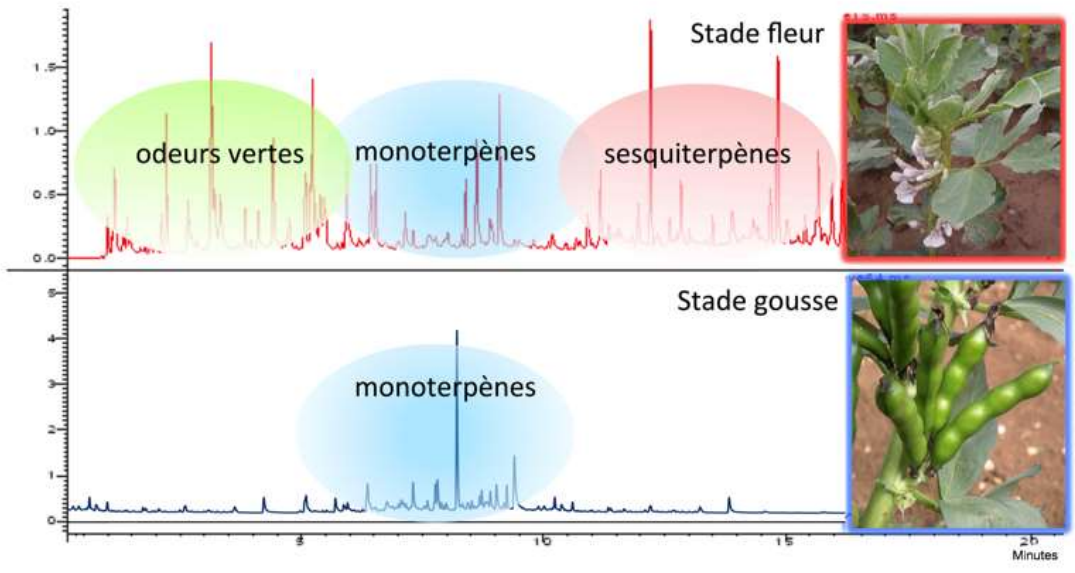


Figure 4. Etat physiologique des bruches en relation de leur comportement et le stade phénologique de la féverole. [Physiological stage of Broad Bean Weevil females in relation to behaviour and phenological stage of the Faber beans.]

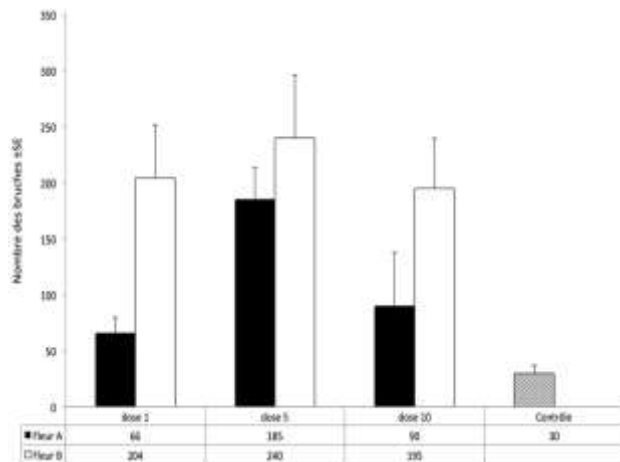
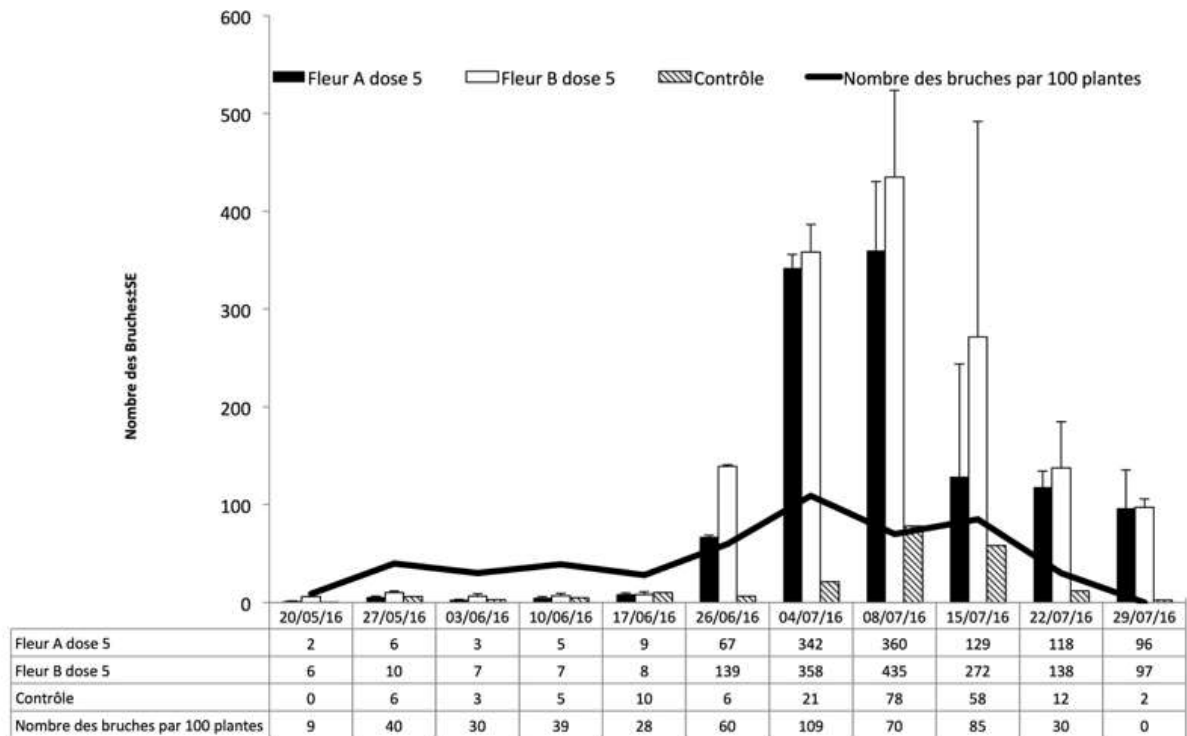


Figure 5. Nombre des captures des bruches (moyenne \pm SE) avec les attractifs « Fleur A » et « Fleur B » aux doses 1, 5 et 10. [Overall trap captures (mean \pm SE) of Faba bean weevil attracted to synthetic flower blends « Fleur A » et « Fleur B » at doses 1, 5 and 10.]

Etat physiologique de la bruche	Ovarioles pas ou peu développées	Ovarioles peu à très développées	Ovarioles très développées
			
Comportement de la bruche	Sortie d'hivernation, séjour sur les plantes-relais	Colonisation de la parcelle de féverole, accouplements	Oviposition
Culture de la féverole	Stade feuille	Stade fleur	Stade gousse

Figure 6. Nombre des captures des bruches (moyenne \pm SE) avec les attractifs « Fleur A » et « Fleur B » à la dose 5 et le nombre de bruches pour 100 plantes dans la parcelle de la féverole. [Overall trap captures (mean \pm SE) of Faba bean weevil attracted to synthetic flower blends "Fleur A" and "Fleur B" at dose and number of weevils per 100 plant controlled in the Faba bean field.]



DISCUSSION – CONCLUSION

Nos résultats montrent que chaque biotope, chaque culture, produit des signatures chimiques spécifiques. Le paysage chimique de grandes cultures est relativement pauvre par rapport à la diversité des COV détectés dans les espaces de tête d'une plante individuelle. Les COV décrivant le paysage chimique sont dilués dans l'air ambiant (Beck *et al.* 2011) et sont le reflet de la végétation environnante et des organismes présents dans ce biotope (Atema 1996). Dans cette « soupe aérienne » extrêmement diluée, les insectes sont capables de détecter et de distinguer le signal chimique de la plante-hôte, poussés par la nécessité de les localiser (Bruce *et al.* 2011). La plupart des études sur les COV des plantes sont faites en utilisant la méthode d'espace de tête où les COV émis par la plante ne sont pas dilués dans l'atmosphère, mais sont concentrés dans un espace fermé avant d'être prélevés et analysés. Cette méthode de collecte permet de détecter les composés émis par la plante en faible quantité, et qui peuvent passer inaperçus dans « la soupe aérienne » du fait des limites de détection des appareils. Les signatures chimiques d'une culture et d'une plante isolée sont des informations complémentaires pour reconstruire lors d'études comportementales le signal chimique utilisé par le ravageur dans la reconnaissance de sa plante-hôte.

Les paysages chimiques des cultures et des plantes produisent des informations communes et cohérentes pour un stade de développement, une espèce, et des conditions identiques de prélèvement. La spécificité du paysage chimique est le fait d'un mélange original de composés ubiquistes assemblés avec des ratios propres à chaque espèce végétale. Comme pour les phéromones sexuelles, il existe un effet très important de la combinaison de composés majoritaires avec d'autres très minoritaires. Notons aussi une autre similitude : l'effet de la dose totale de l'émission.

Les études montrent qu'au cours du cycle jour - nuit, la signature chimique de la plante change (Casado *et al.* 2008; Leppik *et al.* 2014c; Webster *et al.* 2010). La femelle de pyrale du maïs, qui pond en début de nuit, utilise les COV émis par le maïs pendant la nuit pour localiser la parcelle. La signature chimique varie en fonction du cycle jour - nuit avec la physiologie de la plante.

Les composés candidats sont validés par des expérimentations en plein champ, où l'attractif synthétique est en compétition avec les plantes cultivées et l'atmosphère générale du biotope. Il se

pose alors la question suivante: **comment une odeur synthétique peut être plus attractive alors qu'elle est en compétition avec une multitude de plantes qui émettent le signal chimique naturel.** Les résultats présentés ici sont parmi les premiers à démontrer qu'il est possible d'attirer les insectes spécifiques d'une culture au sein de celle-ci avec un attractif de synthèse. Pour la première fois nous montrons que la dose est un paramètre très important pour induire l'attraction et la localisation de la plante-hôte.

Les attractifs que nous avons reconstruits pour la bruche avec des composés organiques de synthèse sont spécifiques du ravageur ciblé. Ils présentent donc un avantage pour la préservation de la faune auxiliaire et la biodiversité. Ces attractifs offrent de nouvelles potentialités pour lutter contre les ravageurs des plantes cultivées ou ornementales et pourraient être utilisés en piégeage de masse, pour attirer l'insecte dans une zone piège traitée ou fauchée, etc...Les COV impliqués dans la reconnaissance de la plante-hôte peuvent aussi servir de marqueur pour détecter les variétés sensibles et être des outils pour orienter la sélection de variété résistante.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été effectué au cadre de collaborations entre Arvalis, Terres Inovia et l'INRA de Versailles. Nous remercions Arvalis pour la mise à disposition des parcelles de féveroles non traitées et Daniel Isaza pour son aide technique lors des expérimentations sur la bruche.

BIBLIOGRAPHIE

- Atema, J., 1996. Eddy chemotaxis and odor landscapes: exploration of nature with animal sensors. *Biological Bulletin* 191: 129-138
- Atkinson, R., Arey, J., 2003. Gas-phase tropospheric chemistry of biogenic volatile organic compounds: a review. *Atmospheric Environment* 37: 197-219 doi:10.1016/s1352-2310(03)00391-1
- Beck, J., Higbee, B., Gee, W., Dragull, K., 2011. Ambient orchard volatiles from California almonds. *Phytochemistry Letters* 4: 199–202 doi:10.1016/j.phytol.2011.03.005
- Beyaert, I., Hilker, M., 2014. Plant odour plumes as mediators of plant–insect interactions. *Biological Reviews* 89: 68-81
- Bruce, T. J., Pickett, J. A., 2011. Perception of plant volatile blends by herbivorous insects--finding the right mix. *Phytochemistry* 72: 1605-1611 doi:10.1016/j.phytochem.2011.04.011
- Bruce, T. J., Wadhams, L. J., Woodcock, C. M., 2005. Insect host location: a volatile situation. *Trends Plant Sci* 10: 269-274 doi:10.1016/j.tplants.2005.04.003
- Casado, D., Gemeno, C., Avilla, J., Riba, M., 2008. Diurnal variation of walnut tree volatiles and electrophysiological responses in *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae). *Pest Manag Sci* 64: 736-747 doi:10.1002/ps.1551
- Cornu, A., Farruggia, A., Leppik, E., Pinier, C., Fournier, F., Genoud, D., Frérot, B., 2015. Trapping the Pasture Odorscape Using Open-Air Solid-Phase Micro Extraction, a Tool to Assess Grassland Value. *PLoS One* 10: e0140600 doi:10.1371/journal.pone.0140600
- Dudareva, N., Negre, F., Nagegowda, D. A., Orlova, I., 2006. Plant Volatiles: Recent Advances and Future Perspectives. *Critical Reviews in Plant Sciences* 25: 417-440 doi:10.1080/07352680600899973
- Holopainen, J. K., 2004. Multiple functions of inducible plant volatiles. *Trends Plant Sci* 9: 529-533 doi:10.1016/j.tplants.2004.09.006
- Holopainen, J. K., Gershenzon, J., 2010a. Multiple stress factors and the emission of plant VOCs. *Trends Plant Sci* 15: 176-184
- Holopainen, J. K., Heijari, J., Oksanen, E., Alessio, G. A., 2010b. Leaf volatile emissions of *Betula pendula* during autumn coloration and leaf fall. *J Chem Ecol* 36: 1068-1075 doi:10.1007/s10886-010-9857-4
- Huignard, J., 2011. Insectes ravageurs des graines de légumineuses: biologie des Bruchinae et lutte raisonnée en Afrique. Éditions Quae, Versailles
- Jakobsen, H. B., Olsen, C. E., 1994. Influence of climatic factors on emission of flower volatiles in situ. *Planta* 192: 365-371

Knudsen, J. T., Eriksson, R., Gershenzon, J., Stahl, B., 2006. Diversity and Distribution of Floral Scent. *The Botanical Review* 72: 1-120

Leppik, E., Frérot, B., 2014a. Maize field odorscape during the oviposition flight of the European corn borer. *Chemoecology*: 1-8 doi:10.1007/s00049-014-0165-2

Leppik, E., Pinier, C., Frérot, B., 2014b. Paysage chimique d'une agrobiocénose : un exemple, la féverole et son ravageur spécialiste *Bruchus rufimanus*. AFPP – 10th International Conference on Pests in Agriculture. Montpellier, p. 585

Leppik, E., Tammaru, T., Frérot, B., 2014c. A View of Diel Variation of Maize Odorscape. *American Journal of Plant Sciences* 05: 811-820 doi:10.4236/ajps.2014.56095

Loreto, F., Schnitzler, J.-P., 2010. Abiotic stresses and induced BVOCs. *Trends Plant Sci* 15: 154-166

Pawliszyn, J., 1997. Solid phase microextraction: theory and practice. John Wiley & Sons,

Tholl, D., Boland, W., Hansel, A., Loreto, F., Rose, U. S., Schnitzler, J. P., 2006. Practical approaches to plant volatile analysis. *Plant J* 45: 540-560 doi:10.1111/j.1365-313X.2005.02612.x

Webster, B., Gezan, S., Bruce, T., Hardie, J., Pickett, J., 2010. Between plant and diurnal variation in quantities and ratios of volatile compounds emitted by *Vicia faba* plants. *Phytochemistry* 71: 81-89 doi:10.1016/j.phytochem.2009.09.029