

# Interactions insectes-plantes



ORSTOM ■ CIRAD

Actes des 5<sup>e</sup> journées du groupe de travail relations insectes-plantes

26-27 octobre 1995

Montpellier, France

≡

≡

#### Illustrations de couverture

Coupe transversale d'un apex de manioc, montrant un trajet intercellulaire et intracellulaire des stylets de cochenille du manioc  
Cliché : C. Nardon (INSA, CNRS, Villeurbanne, France), P.-A. Calatayud (LIN, ORSTOM, Montpellier, France)

Chenille de *Chilo suppressalis* dans une tige de riz  
Cliché : B. Vercambre (CIRAD, Montpellier, France)

# Interactions insectes-plantes

Paul-André CALATAYUD et Bernard VERCAMBRE  
éditeurs

**Actes des 5<sup>e</sup> journées du groupe de travail relations insectes-plantes**  
26-27 octobre 1995, Montpellier, France

---

P.-A. CALATAYUD, B. VERCAMBRE (édit.), 1996.

Interactions insectes-plantes.

Actes des 5<sup>e</sup> journées du groupe de travail relations insectes-plantes  
26-27 octobre 1995, Montpellier, France. Collection Colloques, CIRAD,  
Montpellier, France, 96 p.

---

## Remerciements

Les organisateurs tiennent à remercier les personnes suivantes qui, par leurs soutiens financier et logistique, ont permis la mise en œuvre de cet atelier, l'élaboration de ces actes et la diffusion de ce document :

- Monsieur G. MATHERON (président du centre de Montpellier, CIRAD) ;
- Messieurs J.-L. NOTTEGHEM (MIDEC), J.-C. FOLLIN (directeur scientifique, CIRAD-CA), M. VAISSAYRE (unité de recherche entomologie appliquée, CIRAD-CA) ;
- Monsieur G. FABRES (unité de recherche relations plantes parasites ravageurs, ORSTOM) ;
- Monsieur G. RIBA (département de zoologie, INRA) ;
- Madame F. FERRON (INRA) ;
- Mesdames J. SALIN et C. MORTIER (unité de recherche entomologie appliquée, CIRAD-CA), Messieurs J.-P. GILLES (présidence du centre de Montpellier, CIRAD) et P. GONDOT (unité de recherche entomologie appliquée, CIRAD-CA) ;
- Monsieur P. RONDEAU (service des éditions, ORSTOM) ainsi que le service des publications, de l'information et de la documentation du CIRAD-CA pour la coédition de ces actes.

## Avant-propos

Cet atelier existe depuis 1990 et réunit chaque année tous ceux qui travaillent en France sur les « interactions insectes-plantes ». Cette année, le thème choisi a porté sur les « modifications de la physiologie de la plante dans les relations insectes ravageurs-plantes et incidence de l'état physiologique ou phénologique de la plante sur la biologie des phytophages ». Comme chacun le sait, les facteurs environnementaux (sol, climat...) influencent la physiologie de la plante et, corrélativement, les interactions plantes-ravageurs. Ces observations nous ont conduits à réfléchir, au cours de ces journées, aux questions suivantes :

- 1) Comment l'état physiologique de la plante (stade phénologique...) peut-il influencer le comportement et le développement des insectes ravageurs ?
- 2) Comment les stress abiotiques (stress hydrique...) peuvent-ils modifier la résistance des plantes aux ravageurs ?
- 3) Comment valider une étude faite en laboratoire dans le milieu naturel et inversement ?

A titre de comparaison et d'introduction, des communications sur les modifications de la physiologie de la plante lors de stress abiotiques (stress hydrique...), lors de stress biotiques (interactions plantes micro-organismes) et sur l'importance du phylloplan et de sa physiologie dans les relations plantes-insectes ont été proposées.

Ce document est scindé en deux parties : la première rassemblant les communications d'introduction et la deuxième exposant celles relatives aux trois questions mentionnées ci-dessus. A l'issue de chaque communication, et selon les possibilités, des questions-réponses et des discussions sont présentées.

Voici quelques-unes des réflexions qui nous sont parvenues avant le déroulement de ces journées.

Guy RIBA (INRA)

« Je tiens à vous témoigner l'importance que j'accorde à ce type de rencontres qui sont à l'origine de bilans actualisés, d'échanges sur de nouvelles méthodes ou techniques, de réflexions sur des perspectives. »

Yves GILLON (ORSTOM)

« Thème très prometteur, même s'il n'est pas nouveau. »

François LIEUTIER (INRA)

« Une comparaison entre des modifications de la plante dues au stress hydrique (ou autre stress abiotique) et des modifications dues aux stress biotiques est, certes, intéressante. Mais il est plus intéressant d'examiner les modifications causées par les stress abiotiques dans les relations insectes-plantes. Je citerais par exemple : les conséquences du stress hydrique, ou de l'enrichissement en CO<sub>2</sub>, ou de l'enrichissement en ozone, sur les mécanismes de résistance ; lesquels peuvent être soit stimulés, soit freinés, selon les ravageurs et l'intensité du stress. »

Claude WELCKER (INRA)

« Notre programme a pour objectif d'identifier de nouvelles sources de résistance à *Spodoptera frugiperda* (noctuelle défoliatrice), et de les utiliser en sélection pour l'amélioration du rendement et de la stabilité du rendement dans la région caraïbe. Bien que nos méthodes aient fortement évolué en quelques années, notamment avec la prise en compte des effets d'interaction génotype-milieu pour l'évaluation de la résistance, un certain nombre de questions demeure au sujet de la dynamique de réalisation des dégâts selon les conditions de croissance et de développement des plantes (et des insectes), sur l'interaction avec la vigueur (induite ou hybride par exemple)... »

---



# Sommaire

## Première partie

|  |    |
|--|----|
| Résistance des plantes à la sécheresse : mécanismes physiologiques<br>T. LAMAZE, D. TOUSCH, X. SARDA, C. GRIGNON, D. DEPIGNY-THIS, P. MONNEVEUX .....  | 9  |
| Contribution de la cytologie à l'étude des mécanismes de défense aux attaques parasitaires<br>M. NICOLE, B. BOHER, C. VALETTE, C. MARTINEZ, P.-A. CALATAYUD, K. KPEMOUA, C. DAAYF, J.-F. DANIEL,<br>E. BRESSON, J.-L. SARAH, C. ANDARY, J.-P. GEIGER ..... | 19 |
| Influence des conditions de milieu sur la prédisposition des plantes aux maladies : synthèse sur le cas<br>des bactérioses des arbres fruitiers à noyau<br>A. VIGOUROUX .....  | 29 |
| Les relations insectes-plantes vues sous l'angle de la physiologie végétale sur l'exemple<br>de la pyrale du maïs<br>F. FERRON .....   | 39 |
| Informations biochimiques présentes à la surface des feuilles. Implications dans la sélection<br>de la plante hôte par un insecte<br>S. DERRIDJ, B.R. WU .....   | 43 |

## Deuxième partie

|   |    |
|---|----|
| Phénologie du fruit du caféier en relation avec l'infestation de <i>Hypothenemus hampei</i> Ferr.<br>B. DECAZY .....  | 55 |
| Relation entre la phénologie du cacaoyer et l'apparition de races physiologiques chez <i>Earias biplaga</i><br>(Wlk) <i>Noctuidae</i><br>J. NGUYEN-BAN .....  | 57 |
| Comportement de sélection de la plante hôte par la cochenille farineuse du manioc <i>P. manihoti</i> :<br>rôle des composés biochimiques<br>S. RENARD, B. LE RÜ, P.-A. CALATAYUD, G. LOGNAY, C. GASPAR .....                  | 59 |
| Réaction du pin sylvestre aux agressions par les scolytes et leurs champignons associés :<br>action des composés phénoliques sur les agresseurs<br>E. BOIS, F. LEUTIER, A. YART .....   | 63 |
| Influence de la plante sur les caractéristiques démographiques d' <i>Epidinocarsis lopezi</i> , parasitoïde<br>de la cochenille farineuse du manioc<br>R. SOUISSI, P.-A. CALATAYUD, B. LE RÜ .....                            | 65 |
| Influence de la présence des fourmis ou des <i>Phycitinae</i> sur la production de corps nourriciers<br>par <i>Cecropia obtusa</i> Trecul. ( <i>Cecropiaceae</i> ) en Guyane française<br>P. SOLANO, M. BELIN-DEPOUX .....    | 68 |
| Résistance du pin sylvestre au champignon <i>Ophiostoma ips</i> (naturellement associé au scolyticide<br><i>Ips sexdentatus</i> ), effets de diverses modalités de stress hydriques<br>L. CROISÉ, F. LEUTIER, E. DREYER ..... | 70 |
| Influence du statut hydrique de jeunes pommiers en pots sur l'abondance de l'araignée rouge<br><i>Panonychus ulmi</i><br>M.-H. SAUGE, G. FAUVEL .....   | 72 |

|   |           |
|---|-----------|
| Composition biochimique de la sève phloémienne de la luzerne et performances du puceron du pois :<br>effet d'un déficit hydrique<br>C. GIROUSSE .....                           | 75        |
| Influence de l'état physiologique du colza sur le potentiel reproducteur de deux charançons phytophages<br>J. LERIN .....   | 78        |
| La vigueur accroît la sensibilité du pin maritime à la pyrale du tronc, <i>Dioryctria sylvestrella</i><br>H. JACTEL, P. MENASSIEU, M. KLEINHENTZ .....                          | 82        |
| Nouvelle technique de sélection des cacoyers tolérants aux mirides. Relation entre les résultats<br>de microtests et les données d'observations en champ<br>J. NGUYEN-BAN ..... | 85        |
| La résistance des caféiers à la chenille mineuse des feuilles, <i>Perileucoptera coffeella</i> Guérin-Méneville.<br>Validation des tests précoces<br>B. DECAZY .....            | 86        |
| Etude du comportement du riz vis-à-vis de <i>Chilo suppressalis</i><br>B. VERCAMBRE, M. BETBÉDER-MATIBET(†), M. RENAND .....  | 88        |
| Resistance de <i>Cucumis melo</i> L. à <i>Liriomyza trifolii</i> (Burgess), <i>Diptera : Agromyzidae</i><br>D. BORDAT, M. PITRAT, C. DOGIMONT, C. PAGÈS .....                   | 90        |
| Effets sur le manioc de la défoliation artificielle et naturelle par le criquet puant ( <i>Zonocerus variegatus</i> L.)<br>P. LE GALL, Y.-R. SOUZA .....                        | 92        |
| <b>Liste des participants</b> .....   | <b>95</b> |



# **P**remière partie



CALATAYUD P.-A., VERCAMBRE B. (édit.), 1996.  
Interactions insectes-plantes.  
Actes des 5<sup>e</sup> journées du groupe de travail relations insectes-plantes,  
26-27 octobre 1995, Montpellier, France.  
Colloques, CIRAD-CA, Montpellier, France, 96 p.

# Résistance des plantes à la sécheresse : mécanismes physiologiques

T. LAMAZE<sup>(1)</sup>, D. TOUSCH<sup>(1)</sup>, X. SARDA<sup>(1)</sup>, C. GRIGNON<sup>(1)</sup>, D. DEPIGNY-THIS<sup>(2)</sup>,  
P. MONNEVEUX<sup>(2)</sup>

(1) INRA-ENSA-CNRS, URA 573/UMII, Biochimie et physiologie végétales,  
34060 Montpellier Cedex 1, France.

(2) ENSA-INRA, Génétique et amélioration des plantes, 34060 Montpellier Cedex 1, France.

## Introduction

Les propriétés chimiques et physiques de l'eau expliquent pourquoi la vie lui est intimement liée. Les molécules d'eau sont capables d'établir entre elles des forces d'attraction (liaisons de type hydrogène) relativement fortes. Il résulte de ces liaisons que l'eau est liquide à température ambiante contrairement aux autres composés de même masse moléculaire (NH<sub>3</sub>, CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> par exemple). Sa faible viscosité lui permet de migrer facilement à travers les tissus et dans les vaisseaux conducteurs. Mais les forces cohésives entre molécules sont suffisamment importantes pour que la traction exercée sur la colonne liquide par l'évaporation dans les feuilles se répercute jusqu'à la racine. Ainsi la sève peut gagner les parties aériennes les plus hautes. L'eau est essentielle à l'équilibre thermique de la plante. En effet, sa chaleur spécifique élevée lui permet d'absorber ou de perdre d'importantes quantités d'énergie en minimisant les variations de la température cellulaire. De plus, sa forte chaleur latente de vaporisation permet un refroidissement efficace des feuilles par la transpiration. A cause de sa constante diélectrique très élevée, l'eau est un excellent solvant pour les électrolytes, et la plupart des molécules du protoplasme lui doivent leur activité chimique spécifique ou leur conformation. Enfin, si l'eau est chimiquement relativement inerte, elle intervient dans la photosynthèse comme donneur d'électrons et source de protons.

La plupart des fonctions physiologiques dépendent de l'eau et des substances qui y sont dissoutes. Or, les végétaux terrestres, à de rares exceptions près, ne

possèdent pas de réserve interne d'eau et vivent dans un environnement où les quantités disponibles de ce composé sont éminemment variables. Dans cet article, nous décrivons les répercussions sur la physiologie du végétal d'une baisse de la disponibilité de l'eau dans le milieu. Nous considérons les répercussions à l'échelle de l'individu, de l'organe ou du tissu et au plan cellulaire ou moléculaire. Nous présentons le caractère adaptatif de certaines réponses pour tenter de les distinguer de celles de type purement pathologique.

## Le stress hydrique : définition et conséquences physiologiques

Le stress hydrique a été défini comme une baisse de la disponibilité de l'eau, se traduisant par une réduction de la croissance de la plante ou de sa reproduction par rapport au potentiel du génotype. La contrainte hydrique est le facteur ou l'ensemble de facteurs ayant pour conséquence le stress. D'autres auteurs limitent la définition du stress aux seules conditions correspondant à une hydratation suboptimale des tissus (PUGNAIRE *et al.*, 1993). D'un point de vue physique, le stress hydrique résulte d'un abaissement du potentiel hydrique dans l'air ou dans le sol en dessous d'une certaine valeur, dépendante du génotype, du phénotype et des caractéristiques du milieu (type de sol, température, vent, etc.). Au champ, la contrainte hydrique est caractérisée par son type (humidité relative de l'air, disponibilité de

l'eau dans le sol, présence ou absence de sels, etc.), son intensité et sa durée. Au laboratoire, les stress appliqués sont généralement plus rapides et plus sévères que dans les conditions naturelles. La multiplicité de tous ces facteurs, la difficulté d'en établir la hiérarchie à cause des interactions existant entre eux, et la diversité des modèles expérimentaux (plante entière à divers stades de développement, organes ou tissus excisés, cellules isolées ou protoplastes) expliquent probablement les observations contradictoires, décrites dans la littérature à la suite d'un stress hydrique. Néanmoins, on observe classiquement une diminution de la vitesse d'élongation cellulaire, puis si le stress s'accroît, de la conductance stomatique. La balance hormonale est fréquemment altérée, et l'activité de nombreuses enzymes est changée, ainsi que l'expression du génome. À terme, on peut détecter un ajustement osmotique des cellules, et éventuellement des modifications morphologiques, anatomiques, physiologiques et du développement de la plante.

## Les effets précoces

### Balance hormonale

Les modifications de la balance hormonale touchent aussi bien l'auxine, les gibberellines et les cytokinines, que les médiateurs classiques de la réponse aux stress, l'acide abscissique (ABA), l'éthylène et le jasmonate. L'effet le plus notable est l'augmentation de la synthèse d'ABA et la réduction de celle de cytokinine. Le rôle exact des perturbations de l'équilibre hormonal, dans la succession des réactions responsable de la réponse complexe et graduelle de la plante au stress hydrique, n'est pas encore élucidé. Néanmoins, il est évident que ce rôle est central et considérable. Les modifications de l'expression des gènes, des activités enzymatiques et de la balance hormonale interagissent : une augmentation de la teneur en ABA des tissus engendre un ensemble de réponses aux plans moléculaire (gènes induits par l'ABA), cellulaire (extension, métabolisme) et du développement (croissance et modifications anatomiques). Cet ensemble de réponses à une augmentation de l'ABA est proche de celui observé lors de l'application d'un stress hydrique. Cette observation, confortée par l'analyse du comportement de mutants incapables de synthétiser l'ABA, ou de répondre à cette hormone, suggère que l'une des premières étapes de la réponse au stress hydrique implique un accroissement du niveau d'ABA. Même si ce phénomène peut résulter en partie d'une redistribution de l'ABA préexistant, il est probable qu'il traduit aussi une modification de l'expression des gènes de la voie

de synthèse de ce composé. Actuellement, un intérêt considérable est porté sur ces aspects.

### Protéines et activité enzymatique

L'analyse des gels d'électrophorèses bidimensionnelles montre que le stress hydrique inhibe la synthèse de la plupart des protéines, tandis que celle d'un ensemble restreint de protéines — dites de stress — est induite. Simultanément, la protéolyse est favorisée. Ce schéma est commun dans ses grandes lignes à différents types de stress. Beaucoup de protéines de stress ont un faible poids moléculaire et, pour la plupart, leur fonction est inconnue. L'hypothèse souvent émise est que les protéines de stress jouent un rôle dans l'adaptation de la plante, aussi, de nombreux chercheurs étudient-ils la résistance au stress d'après l'isolement et l'étude de ces molécules. Alors que l'activité de certaines enzymes diminue lors d'un stress hydrique (par exemple, RuBisCo et PEPcase), celle d'autres enzymes augmente. C'est le cas des enzymes hydrolytiques comme l' $\alpha$ -amylase et les protéinases, ou d'enzymes catalysant la synthèse des composés de type « osmolyte compatible » (voir ci-dessous) et de glucides. Le stress provoque aussi l'activation ou l'inhibition de très nombreuses autres enzymes.

Dans le cas très particulier de certaines plantes grasses soumises à un stress hydrique ou salin, des bouleversements métaboliques s'opèrent avec l'abandon par la plante de la photosynthèse de type C3 au profit de celle de type CAM (*Crassulacean Acid Metabolism*). En photosynthèse de type CAM, le prélèvement et la réduction du CO<sub>2</sub> sont séparés temporellement. Le prélèvement s'effectue la nuit alors que le déficit de vapeur d'eau de l'air est plus faible, ce qui réduit la transpiration. L'activité d'une quinzaine d'enzymes impliquées dans le métabolisme du carbone est activée par le stress hydrique. La protéine la plus étudiée est la PEPcase, spécifique des plantes de type CAM, responsable de la fixation nocturne du CO<sub>2</sub> (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Le caractère CAM est acquis lentement après l'application du stress (5 à 10 jours). Néanmoins, des changements dans l'expression de plusieurs gènes codant des enzymes de la voie CAM s'observent bien avant. L'ARN<sub>m</sub> correspondant à la PEPcase CAM s'accumule dans des feuilles excisées après seulement quelques heures de stress.

### Expression des gènes

Ces dernières années, de nombreux travaux se sont focalisés sur la recherche de gènes induits dans les organes végétatifs durant un stress hydrique. Dans la plupart des cas, la fonction des protéines correspondantes n'est pas démontrée, mais prédite d'après la séquence en acides aminés, déduite de la séquence du gène. Les gènes inductibles par le stress sont supposés jouer un rôle dans l'adaptation du végétal au

déficit hydrique. L'expression d'un grand nombre de ces gènes est aussi amplifiée dans la graine lors de la dessiccation naturelle qui accompagne leur maturation. Il en est ainsi des gènes *lea* (*Late Embryogenesis Abundant*) exprimés au moment où l'embryon devient tolérant à la dessiccation, mais dont certains sont aussi impliqués dans la réponse au stress hydrique environnemental, parfois sous la dépendance de l'ABA (gènes *rab*). Dans la graine, leurs produits d'expression exerceraient au moins quatre types de fonctions protectrices des structures cellulaires : les unes empêcheraient la cristallisation des ions dans le cytoplasme en les séquestrant, d'autres stabiliseraient les membranes, d'autres encore (*Em*) lieraient l'eau. Ces protéines faciliteraient l'apparition de la structure de type vitreux caractéristique du cytosol des embryons de graines sèches. Un autre groupe de *lea*, auquel appartient la déhydrine, préserverait la conformation des protéines au cours de la déshydratation (fonction d'une classe de protéines appelées chaperons). D'autres gènes sont impliqués dans l'ajustement osmotique des cellules. Ce phénomène nécessite l'accumulation de solutés organiques hydrophiles, appelés osmolytes. C'est le cas de gènes codant pour des enzymes des étapes de la synthèse d'osmolytes comme la proline, la glycine bêtaïne, le saccharose, des sucres-alcools, etc. C'est aussi le cas de gènes impliqués dans la compartimentation de solutés et codant des  $H^+$ -ATPases du plasmalemme ou du tonoplaste, et pour des transporteurs du tonoplaste. D'autres fonctions, comme la protection contre les pathogènes (osmotine et autres inhibiteurs de protéases, et protéines de transfert de lipides) ou la dégradation de protéines (ubiquitine et protéases), sont attribuées à des gènes induits par le stress hydrique. Enfin, de tels gènes sont aussi impliqués dans des mécanismes de régulation enzymatique et de l'expression d'autres gènes ainsi que dans la transmission de signaux (BRAY, 1993). L'utilisation de mutants déficients en ABA (tomate, maïs, *Arabidopsis*) et l'apport d'ABA exogène ou d'inhibiteurs de la synthèse de cette hormone ont permis de montrer que l'expression de certains des gènes inductibles par le déficit hydrique dépend strictement d'une élévation importante de la teneur en ABA des tissus. D'autres gènes ne sont pas directement dépendants d'une telle élévation, bien qu'ils soient induits par cette hormone. Enfin, certains gènes inductibles par le stress hydrique ne répondent pas à une élévation artificielle de la concentration en ABA des tissus. L'expression de nombreux gènes est vraisemblablement diminuée sous une contrainte hydrique, mais seulement quelques-uns d'entre eux ont été identifiés. C'est le cas de ceux codant la petite sous-unité de la RuBisCo (gènes *rbcS*) et les protéines qui s'associent aux chlorophylles a et b (gènes *cab*).

## L'élongation cellulaire

La croissance des tissus foliaires est l'un des processus physiologiques les plus sensibles au stress hydrique. La croissance est due à l'absorption d'eau par les cellules. Cette absorption est liée à la différence de potentiel hydrique,  $\Psi_w$ , entre le xylème et les tissus en élongation et à la conductance des tissus pour l'eau ( $L_p$ ) selon  $G = -L_p \times \Psi_w$ . Elle se produit lorsque l'entrée d'eau dans la cellule élève la pression de turgescence des cellules ( $P$ ) au-dessus d'un seuil critique ( $y$ ) dit seuil de déformation des parois. Dans cette condition, la vitesse d'augmentation du volume cellulaire est décrite par  $G = m \times (P - y)$ , où  $m$  est un coefficient traduisant la plasticité des parois. Ce type de modélisation montre que la baisse de croissance en condition de stress hydrique peut résulter d'une baisse de la turgescence ( $P$ ), d'une diminution de l'extensibilité des parois ( $m$ ), d'une réduction de la conductibilité hydraulique ( $L_p$ ), ou d'une augmentation de leur seuil de déformation ( $Y$ ). En fait, les données expérimentales sont très variables selon les méthodes de mesure utilisées pour estimer les différents paramètres. Ainsi,  $P$  et  $Y$  ont été décrits comme pouvant augmenter, rester inchangés ou diminuer (PASSIOURA et FRY, 1992) pendant le stress hydrique. Cependant, la baisse de croissance est rarement imputable à ces paramètres, c'est-à-dire à la force mécanique qui s'exerce sur les parois. Concernant  $L_p$ , l'idée qui prévaut (à quelques exceptions près) est que la conductivité hydraulique des tissus est diminuée en condition de sécheresse. L'impact de cette diminution est néanmoins discutable, puisque ce paramètre n'est pas ou est peu limitant pour la croissance. Depuis quelques années, une hypothèse émerge selon laquelle l'extensibilité des parois est déterminante pour la croissance dans un grand nombre de situations. Elle serait déterminée par des protéines pariétales endogènes. Certaines de ces protéines ont été isolées (expansines) ; elles ont la capacité d'induire l'extension de parois isolées (COSGROVE, 1993). D'une façon générale, l'ABA et d'autres hormones sont impliqués dans les processus aboutissant à l'inhibition de la croissance des feuilles par le stress, mais les mécanismes en jeu ne sont pas clairement identifiés. Le développement des racines est beaucoup moins sensible à l'ABA que celui des feuilles. Dans certaines situations, il est même stimulé par cette hormone.

## La conductance stomatique

La conductance stomatique des feuilles est rapidement affectée par le stress hydrique. La fermeture des stomates peut résulter en partie d'un mécanisme intrinsèque de l'épiderme, répondant au déficit de vapeur d'eau de l'air ou au flux élevé de transpiration en atmosphère très sèche et agitée. Néanmoins, lors de l'établissement d'un déficit hydrique progressif

dans le sol, la fermeture des stomates s'observe souvent avant que les paramètres hydriques foliaires ne soient affectés par le stress. La fermeture des stomates semble induite principalement par une augmentation de la teneur en ABA au voisinage des cellules de garde. L'hormone est libérée par les racines subissant le déficit hydrique et transportée par le flux de sève ascendant. Elle constitue un « signal racinaire d'alerte », qui limite la transpiration lorsque la disponibilité de l'eau dans le sol diminue (DAVIES et ZHANG, 1991).

La sécheresse du sol et celle de l'atmosphère peuvent conduire à une déshydratation de la feuille si la demande de transpiration excède la capacité des vaisseaux conducteurs à alimenter la feuille en eau. Dans ce cas, la fermeture des stomates résulte de processus foliaires comme la redistribution de l'ABA endogène entre les différents compartiments cellulaires, ou la synthèse nette de ce composé dans la feuille, et l'élévation de la sensibilité des récepteurs à l'ABA.

A cause de la résistance à la diffusion des gaz et en raison des pressions partielles de vapeur d'eau et de  $\text{CO}_2$  dans l'atmosphère et dans les chambres sous-stomatiques, le flux de molécules d'eau quittant la feuille est plusieurs centaines de fois supérieur à celui des molécules de  $\text{CO}_2$  prélevées. Les conséquences d'une diminution de la conductance stomatique sur la transpiration sont beaucoup plus prononcées que sur la photosynthèse. Cela est dû à la résistance à la diffusion du  $\text{CO}_2$  qui est supérieure à celle de la vapeur d'eau. Dès lors, toute augmentation de la résistance d'une étape commune de la voie de diffusion des deux gaz augmente l'efficacité d'utilisation de l'eau même si la photosynthèse est elle aussi diminuée. La fermeture des stomates est probablement la cause principale de la baisse de la photosynthèse chez les plantes modérément stressées (KAISER, 1987). En effet, la capacité photosynthétique (à saturation de  $\text{CO}_2$ ) des feuilles n'est pas affectée, tant que les tissus ne sont pas fortement déshydratés. Plusieurs mécanismes, différents selon les plantes et les conditions de stress, participent à la diminution de la photosynthèse en cas de sécheresse accentuée et prolongée. Ce sont par exemple la baisse d'activité des enzymes photosynthétiques, et, pour les stress les plus sévères, l'inhibition des photosystèmes. Dans d'autres cas, la diminution de la demande des organes puits aboutit à une rétro-inhibition de l'assimilation du  $\text{CO}_2$  par l'accumulation des produits terminaux de la photosynthèse.

Il semble que le métabolisme photosynthétique soit peu sensible aux variations de potentiel hydrique cellulaire mais qu'il soit rapidement inhibé par la diminution du volume des cellules et des chloroplastes. Dans le cas d'un déficit hydrique modéré, la réduction de la photosynthèse globale du végétal résulte principalement d'une réduction de la surface totale

des feuilles. La teneur en glucides des plantes subissant un déficit hydrique est souvent supérieure à celle de plantes bénéficiant d'une alimentation hydrique optimale. Cela suggère que la photosynthèse n'est pas limitante pour la croissance. Néanmoins, une élévation de la pression partielle de  $\text{CO}_2$  induit un gain de croissance et peut permettre la survie de plantes dans des conditions de stress normalement létales. Cette observation est à rapprocher du fait qu'une élévation de  $\text{CO}_2$  entraîne une diminution de la densité des stomates et de la conductance stomatique ainsi qu'une augmentation du rapport racines/feuilles.

### **Les effets à moyen terme : l'ajustement osmotique**

L'ajustement osmotique a été défini comme un abaissement du potentiel osmotique par l'accumulation de solutés dans les cellules en réponse à un stress salin ou hydrique. Néanmoins, un abaissement passif du potentiel osmotique résultant d'une diminution du volume cellulaire correspond aussi à une forme d'ajustement osmotique. Les solutés accumulés sont très variés et appartiennent à diverses familles biochimiques comme les acides aminés (proline, arginine, citrulline, ornithine, etc.), les amides (glutamine et asparagine), les polyamines, les acides organiques (citrate, malate, lactate, etc.), les sucres (saccharose, pinitol, sorbitol, mannitol, glycerol, etc.), les amines quaternaires (glycine-bétaine) et les sels minéraux ( $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ).

Le coût énergétique en équivalent-photons de l'accumulation d'une mole d'ions ( $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ) est de 2 à 4 photons. Il est de 70 à 100 photons pour une mole de sorbitol ou de mannitol, de proline, ou de glycine-bétaine. Pour mémoire, il faut une dizaine de photons pour réduire une mole de  $\text{CO}_2$ .

### **Les effets à plus long terme**

Beaucoup d'études sur le stress hydrique portent sur des temps relativement courts. Elles concernent alors les processus cellulaires, le fonctionnement d'organes excisés et le comportement de jeunes plantes. En revanche, les études portant sur des stress de longue durée ont souvent trait aux rendements et à l'utilisation de l'eau par les cultures. Il existe peu d'études correspondant à une approche intégrée à l'échelle de l'individu sur des pas de temps longs (SCHULZE, 1986). Des changements physiologiques et anatomiques classiques ont tout de même été rapportés pour de telles conditions. Ils comprennent principalement une baisse du volume des nouvelles cellules, une réduction de la surface des feuilles et une augmentation de leur épaisseur, un vieillissement prématuré

des feuilles matures, une élévation du rapport racine/feuille en terme de biomasse et, dans le cas d'un stress dépassant la capacité de résistance de la plante, la dessiccation et la mort de celle-ci.

La sécheresse affecte aussi la nutrition minérale via divers facteurs. Elle entraîne des modifications de la concentration des éléments dans la solution du sol, l'installation de manchons gazeux autour des racines qui perdent ainsi la capacité à prélever les ions et des effets souvent dépressifs sur les vitesses d'absorption et de transfert vers les parties aériennes. Les résultats relatifs à la teneur des tissus en potassium sont contradictoires. On note souvent une accumulation de composés azotés (proline, etc.) et une diminution des teneurs en phosphore.

Finalement, l'exploration de la diversité des adaptations au stress hydrique, résultant de la sélection naturelle dans les écosystèmes arides, est une autre stratégie pour identifier des réponses à la sécheresse fondées sur des modifications du développement telles que le raccourcissement du cycle reproductif, ou la flexibilité du développement végétatif.

## Le syndrome de stress

Les symptômes développés par les plantes soumises à un stress hydrique se retrouvent pour d'autres formes de stress (nutritionnel, thermique) et ont été regroupés sous le terme de syndrome de stress environnementaux ou abiotiques (CHAPIN, 1991). Ce syndrome comprend essentiellement une baisse de la croissance et une réduction de l'acquisition de toutes les autres ressources qui ne sont pas limitantes (par exemple  $\text{CO}_2$ , éléments minéraux, lumière). Cette caractéristique participe vraisemblablement au maintien d'un équilibre entre l'élément limitant et les autres. Les relations source-puits jouent un rôle dans ce comportement, notamment par un mécanisme fondé sur les équilibres hormonaux (ABA, cytokinines), qui intègre les réponses des différents organes. Il existerait une réponse générale des plantes aux stress, car sous l'effet d'une contrainte environnementale, les divers signaux emprunteraient la même voie pour déclencher la réponse physiologique. A cet ensemble de réponse générale, s'ajoutent les réponses spécifiques de chaque stress et éventuellement de chaque tissu.

## Mécanismes de résistance à la sécheresse

La résistance à la sécheresse est un terme générique qui comprend plusieurs processus. On en

distingue classiquement quatre : l'échappement, la restauration, la tolérance à la déshydratation, et l'évitement.

L'échappement correspond à la capacité de la plante à achever son cycle pendant la période où l'eau est disponible, ainsi la plante n'est pas véritablement confrontée au déficit hydrique. C'est une stratégie largement développée par les plantes des milieux désertiques.

La restauration est la capacité de la plante à rétablir un métabolisme normal après une période de déficit hydrique. Elle concerne principalement les mousses, les lichens, les bryophytes et les algues (végétaux poikilohydriques). Ce mécanisme de résistance lié à la restauration des structures et des fonctions cellulaires n'est pas utilisé par les angiospermes tolérantes, qui mettent en jeu plutôt des processus de protection.

La tolérance à la déshydratation correspond à la capacité des tissus végétatifs à supporter des potentiels hydriques très négatifs. C'est un caractère cellulaire qui nécessite une certaine acclimatation. La tolérance à la déshydratation des tissus végétatifs va de -1,2 MPa, pour les plantes aquatiques, à -10 MPa, pour les plantes xérophytiques. A l'extrême, on connaît plusieurs dizaines d'espèces de plantes supérieures capables de survivre après avoir été desséchées. Les mécanismes de cette tolérance sont mal connus. La déshydratation des cellules engendre des troubles nombreux comme la désorganisation des membranes, des organites et du cytosol, la dénaturation des protéines et l'inhibition des activités enzymatiques, l'apparition d'espèces actives d'oxygène (peroxyde, superoxyde, radical hydroxyde), et des dommages du matériel génétique. Les mécanismes de résistance correspondent aux processus capables de protéger et de réparer les fonctions et les structures cellulaires. Il s'agit par exemple de l'élévation de la viscosité du cytoplasme, de la protection des enzymes et des membranes par certains « osmoprotectants » et antioxydants, de la modification de la composition phospholipidique de ces membranes (PUGNAIRE *et al.*, 1993).

L'évitement correspond à la capacité de la plante à éviter la déshydratation des tissus, d'une part, en continuant de prélever l'eau du milieu, et d'autre part, en conservant l'eau présente dans les cellules. L'ajustement osmotique, comme il est dit précédemment, est l'un des mécanismes fondamentaux participant à l'évitement. En effet, la conservation de l'eau dans les cellules et l'expansion cellulaire nécessitent une accumulation de solutés pour abaisser le potentiel hydrique des cellules en dessous de celui du milieu. Certains des solutés accumulés (proline, glycine-bétaine, sucres-alcools) sont qualifiés d'osmolytes compatibles et d'« osmoprotectants » car, d'une part, ils peuvent être présents à des niveaux très élevés dans les cellules sans en perturber

le métabolisme et, d'autre part, ils semblent protéger les structures cellulaires et les enzymes des effets de la déshydratation et de la présence d'espèces chimiques toxiques. Les mécanismes moléculaires de cette osmoprotection ne sont pas vraiment identifiés. De nombreux arguments suggèrent que les osmolytes compatibles sont accumulés préférentiellement dans le cytoplasme des cellules alors que les solutés — toxiques aux concentrations élevées (sels minéraux, certains sucres) — assureraient de manière privilégiée l'osmorégulation de la vacuole.

Chez des plantes subissant un déficit hydrique, une accumulation de proline de 100 fois supérieure à celle de plantes non stressées peut être fréquemment observée. Cette accumulation résulte à la fois d'une augmentation de synthèse liée à un contrôle de la transcription des deux étapes catalysées entre le glutamate et la proline, et de la levée de la rétro-inhibition que la proline exerce sur sa propre voie de synthèse. La diminution de la dégradation de la proline, et de son incorporation dans les protéines favorise aussi l'augmentation de son niveau d'accumulation. L'accumulation de proline dans les tissus peut être positivement corrélée à l'intensité du déficit hydrique subi par le végétal. La proline est donc souvent considérée comme un marqueur de stress (DELAUNAY et VERMA, 1993). Certains auteurs la considèrent comme une conséquence pathologique. Bien qu'il n'y ait pas toujours de corrélation entre la quantité de proline accumulée dans la plante et la tolérance de cette dernière à la sécheresse, l'accumulation de proline pourrait avoir de nombreux avantages. Certains auteurs considèrent que cette molécule représente une forme de stockage de carbone et d'azote. Elle aurait un rôle de protection des protéines et des membranes cellulaires. La synthèse de la proline interviendrait dans la stabilisation du pH du cytosol et permettrait de régénérer le NAD(P)<sup>+</sup> nécessaire au maintien de la respiration cellulaire et de la photosynthèse, en condition d'excès de pouvoir réducteur lié au stress. L'effet bénéfique d'une accumulation de proline dans les cellules n'est pas admis par tous les auteurs — chez certaines halophytes, la proline ne s'accumule que lorsque la teneur en sel du milieu atteint des valeurs élevées qui deviennent toxiques. Mais d'autres molécules organiques, telles que les polyols ou les bétaines semblent jouer des rôles analogues à ceux de la proline. Chaque espèce végétale capable d'ajustement osmotique utilise préférentiellement (mais rarement exclusivement) un osmoticum particulier.

L'ajustement osmotique joue un rôle important dans la protection des apex et des feuilles en croissance. En effet, il maintient la turgescence et entretient donc l'ensemble des processus dépendant de cette dernière comme la conservation du volume du protoplasme et des organites (chloroplastes notamment) et l'ouver-

ture des stomates permettant la photosynthèse (PREMACHANDRA *et al.*, 1992). En outre, associé à des modifications de l'extensibilité des parois, l'ajustement osmotique permet la croissance cellulaire.

Les végétaux sont plus tolérants au déficit hydrique si celui-ci s'est installé lors d'un stress progressif ou en conditions de teneur élevée de CO<sub>2</sub> dans l'air (CONROY *et al.*, 1988). Ces conditions permettent l'acclimatation de la plante, et favorisent l'ajustement osmotique. Néanmoins, le rôle central tenu par l'ajustement osmotique dans l'adaptation à la sécheresse a été mis en doute par certains auteurs qui ont pu montrer qu'il n'y a pas toujours de relation directe entre le potentiel de turgescence, la croissance cellulaire, la conductance stomatique et la photosynthèse. Il est effectivement surprenant de trouver — dans la littérature et parfois dans un même article — l'idée que l'ajustement osmotique qui permet l'ouverture des stomates est un mécanisme majeur de résistance, alors que la sensibilité des stomates aux processus entraînant leur fermeture est aussi présentée comme participant d'un tel mécanisme. L'explication de cette contradiction est vraisemblablement liée aux types multiples de stress hydrique et donc de résistance. Un mécanisme comme l'ajustement osmotique, qui permet au végétal de maintenir sa photosynthèse et sa transpiration à un niveau élevé pour une large gamme de potentiel hydrique du sol, est probablement un avantage dans les régions et durant les époques où la disponibilité de l'eau est très variable mais jamais nulle. Au contraire, une plus grande sensibilité des stomates peut être un atout déterminant dans des régions où les plantes ne disposent que d'une quantité donnée et limitante d'eau (PREMACHANDRA *et al.*, 1992).

Parallèlement à l'ajustement osmotique, le prélèvement d'eau en situation de stress hydrique est favorisé par diverses adaptations structurales de l'appareil racinaire. Les racines constituent vraisemblablement la barrière de résistance principale aux mouvements d'eau dans la plante. Au sein de la racine elle-même, c'est la conduction radiale — de la solution du sol à la lumière des vaisseaux — qui présente la résistance la plus élevée (PETERSON *et al.*, 1993). Le système racinaire de plantes adaptées à la sécheresse a une biomasse accrue (soit en valeur absolue, soit en valeur relative par rapport à celle des parties aériennes). Il peut représenter 60 à 90 % de la biomasse du végétal chez les plantes tolérantes soumises à un déficit hydrique. Il descend profondément dans le sol et présente des racines épaisses. Il peut ainsi explorer un plus grand volume de sol et s'installer dans des horizons où la disponibilité de l'eau est plus grande. Le système racinaire semble jouer un rôle considérable dans la résistance des végétaux à la sécheresse. En ce qui concerne le pois, des expériences de greffage entre génotypes résistants ou sensibles à la sécheresse



ont montré que les racines, et non les parties aériennes, déterminent certains paramètres hydriques des feuilles et le rendement en grain (SANDERS et MARKHART, 1992). Enfin, le rôle de la symbiose mycorhizienne pour faciliter la nutrition minérale et la collecte de l'eau ne doit pas être sous-estimé.

Les végétaux ont développé plusieurs stratégies pour retenir l'eau dans leurs tissus. Les pertes peuvent être minimisées pour les racines par un mécanisme de « rectification des mouvements d'eau », défini comme la capacité de prélever rapidement l'eau d'un sol humide, alors que les fuites d'eau vers le milieu seront limitées dans un sol sec grâce à des changements touchant l'hypoderme. Néanmoins, la plupart des adaptations visent à réduire les pertes d'eau par la transpiration. Les unes restreignent la surface évaporante (chute des vieilles feuilles, diminution de la vitesse d'émergence des feuilles, réduction de la surface et épaissement des nouvelles feuilles). Les autres augmentent la résistance des stomates et de la cuticule à la diffusion des gaz (fermeture stomatique, stomates regroupés dans des dépressions de l'épiderme, dépôt de cire et épaissement des parois qui s'imprègnent de substances diverses). D'autres enfin augmentent la réflectance, diminuent la température foliaire et maintiennent une couche d'air humide à la surface des feuilles par le développement d'une pilosité caractéristique des plantes de milieux arides. Dans le cas particulier des plantes grasses, un changement fondamental du métabolisme photosynthétique — décrit précédemment — permet d'économiser l'eau.

## Amélioration de la résistance des plantes à la sécheresse : les outils apportés par la physiologie

L'amélioration de la résistance à la sécheresse peut relever de deux types de démarche. La première est une démarche classique de sélection avec des essais effectués dans différentes conditions environnementales pouvant utiliser des indicateurs physiologiques et des marqueurs moléculaires de résistance. La seconde démarche est une approche ciblée sur un ou plusieurs gènes impliqués dans la résistance, qui sont introduits (gènes étrangers) ou surexprimés (endogènes) dans des plantes.

### Les indicateurs physiologiques et les marqueurs moléculaires

Des indicateurs physiologiques et des marqueurs moléculaires utilisables pour la démarche classique de sélection existent déjà (potentiel osmotique, composition biochimique, fluorescence, discrimination isotopique du carbone, etc.). Néanmoins,

l'obtention d'indicateurs et de marqueurs plus nombreux et plus efficaces nécessite une meilleure connaissance de la réponse adaptative des plantes aux stress. Dans leur ensemble, les caractères morphophysiologiques participant à la résistance sont assez bien identifiés. Cependant, ils sont le résultat de l'intégration complexe de nombreux processus qui ne sont pas bien caractérisés en termes mécanistiques et moléculaires. Ainsi, à l'échelle de la cellule, de nombreuses interrogations subsistent concernant les mécanismes intimes de l'osmoprotection, du métabolisme des osmolytes organiques, des systèmes de transport responsables de la compartimentation des solutés, et de la croissance cellulaire. En outre, de nombreuses questions se posent sur la façon dont les tissus ressentent le déficit hydrique. Les variables pertinentes à prendre en compte sont-elles les potentiels hydrique, osmotique ou la pression de turgescence, ou bien les contenus en eau, ou en volume cellulaire ? Depuis la transformation d'une cause physique (baisse du potentiel hydrique ou perte d'eau) en un premier effet biochimique, puis en une succession de réponses intégrées, une longue chaîne d'événements encore mal caractérisés est pressentie. Mais nos connaissances sur la génération et la transmission à l'échelle cellulaire ou tissulaire des signaux de stress restent fragmentaires. Enfin, les valeurs adaptatives des divers processus induits par le stress restent souvent hypothétiques, ce qui limite notre aptitude à déterminer la pertinence des critères pour l'analyse de la tolérance au stress.

Les interrogations listées ci-dessus portent sur des processus qui peuvent être abordés à une échelle relativement simple puisqu'ils dépendent de caractéristiques essentiellement cellulaires. Les processus qui participent à la réponse intégrée de la plante (contrôle de la conductance stomatique, adaptations anatomiques et morphologiques, relations source-puits) sont encore plus complexes et leur déterminisme est souvent très mal connu. A l'évidence, de nombreuses recherches sont encore nécessaires pour comprendre, et parfois même simplement identifier, les processus qui permettent la résistance à la sécheresse et leur coordination au sein de l'organisme.

Les approches de la physiologie classique ont permis d'identifier de nombreux caractères associés à la résistance à la sécheresse. La physiologie moléculaire permettra une meilleure compréhension des mécanismes en jeu et de leur déterminisme génétique. L'approche moléculaire facilitera aussi la détermination de l'implication exacte de ces caractères dans la résistance à la sécheresse. Il est probable que dans un futur proche, les physiologistes pourront fournir des indicateurs physiologiques et des marqueurs moléculaires plus puissants pour la recherche des caractères morphophysiologiques d'adaptation et pour la sélection.

## La création de plantes transgéniques

La possibilité de créer des plantes transgéniques suscite de grands espoirs pour guider l'amélioration de la résistance à la sécheresse des plantes cultivées. Afin d'identifier des gènes ayant un rôle effectif dans la résistance, de nombreux chercheurs étudient les modifications de l'expression du génome induites par le stress. L'amplification de l'expression d'un gène lors d'un stress n'est pas un fait suffisant pour conclure que la protéine correspondante est spécifiquement impliquée dans la résistance de la plante à ce stress. Mais, si des études complémentaires permettent de montrer une forte corrélation, à la fois temporelle et spatiale, entre l'apparition de la protéine et le caractère de résistance, une telle hypothèse peut alors être soutenue. L'obtention de mutants sous-exprimant ou surexprimant un gène spécifique est un atout puissant pour déterminer si le produit d'expression d'un gène est impliqué dans la tolérance. Les stress appliqués dans les laboratoires sont souvent très sévères, allant jusqu'à une déshydratation marquée des tissus. De nombreux gènes dont l'expression est augmentée sous l'effet de telles contraintes sont aussi induits au cours de la maturation de la graine (gènes *lea*). Ces gènes participent vraisemblablement à la protection des structures cellulaires lors de la déshydratation. Or, la tolérance à la déshydratation n'est probablement pas un des premiers critères à prendre en compte pour l'amélioration des espèces cultivées dans les pays développés, puisque ce caractère intervient quand le stress devient très sévère, bien après que la croissance de la plante n'ait été affectée et le rendement fortement diminué. Ceci pose l'importante question du type de résistance que l'on souhaite accroître, autrement dit de la fonction physiologique que l'on veut amplifier *via* la transgénèse.

Les végétaux naturellement adaptés aux milieux difficiles (pauvres en azote ou en phosphore ou en autres éléments minéraux, froids, arides, salins, etc.), placés dans des conditions optimales où aucun facteur n'est limitant, présentent néanmoins une croissance faible. Il semble donc que le caractère de résistance aux contraintes abiotiques soit lié à une capacité limitée à produire de la biomasse et à utiliser les ressources du milieu. Ainsi, les plantes résistantes à la sécheresse présentent une faible productivité en l'absence de contrainte hydrique et, par exemple, les plantes à métabolisme de type CAM, qui sont probablement les plus résistantes sont aussi celles présentant le taux le plus bas de production de biomasse. Ce syndrome (résistance associée à une capacité limitée de croissance) est une caractéristique écologique permettant la conservation de l'espèce en assurant la descendance dans des écosystèmes marqués par la sévérité

et la fréquence des stress. Elle n'intéresse probablement pas les agronomes des pays développés. Le raccourcissement du cycle de la plante peut permettre d'échapper au stress, mais c'est plutôt le développement d'une stratégie d'évitement qui constitue la voie principale d'amélioration de la tolérance des espèces cultivées aux stress modérés.

L'évitement est essentiellement fondé sur l'ajustement osmotique, le contrôle de la conductance stomatique, l'augmentation du rapport racine/feuille et les adaptations des appareils racinaire et aérien limitant les pertes d'eau. Le premier de ces caractères et, dans une moindre mesure, le second concernent des mécanismes plutôt cellulaires. Les autres caractères impliquent des mécanismes multiples et intégrés, et à déterminisme génétique complexe. Dans un futur proche, on peut penser que les premières tentatives d'amélioration de la tolérance des plantes à la sécheresse par le biais de la transgénèse porteront sur l'ajustement osmotique, car c'est une fonction théoriquement modifiable par l'introduction d'un ou de quelques gènes. Il a été montré récemment que la transformation d'un tabac avec un gène d'*E. coli* codant une mannitol-1-phosphate déshydrogénase se traduit par l'accumulation de mannitol dans les tissus et une croissance accrue de la plante en condition de stress salin (TARCZYNSKI *et al.*, 1993). Mais la plante transgénique stressée présente un développement considérablement réduit par rapport à celui des plantes témoins non stressées. Cela illustre bien ce que soupçonnent physiologistes et généticiens : une amélioration de la tolérance significative sur un plan agronomique ne peut guère être espérée en changeant l'activité d'un seul gène. Elle nécessitera l'ajustement simultané de plusieurs traits de la physiologie de la plante. Le déterminisme vraisemblablement polygénique de la tolérance au stress hydrique, comme aux autres stress abiotiques, fait que la production par voie transgénique de génotypes d'intérêt agronomique reste au-delà de notre horizon. Dans l'immédiat, les perspectives les plus attrayantes des approches transgéniques sont de permettre d'identifier les gènes qui participent à la tolérance, et éventuellement de peser leur contribution à la réponse globale de la plante au stress. Cette analyse souligne l'intérêt d'inscrire les études physiologiques des phénomènes, que nous avons évoqués, dans une démarche globale, intégrant les approches physiologiques et génétiques, et introduisant dans chacune d'elles les approches moléculaires (MONNEVEUX, 1991 ; MONNEVEUX et DEPIGNY-THIS, sous presse). La diversité disponible dans les ressources génétiques sera plus facilement utilisable que dans le passé, dès lors que l'association des approches permettra de connaître le rôle du gène introgressé et son effet sur la productivité.

## Références bibliographiques

- BRAY E.A., 1993. Molecular response to water deficit. *Plant Physiol.* 103 : 1 035-1 040.
- CHAPIN F.S., 1991. Integrated response of plants to stress. *Bioscience* 41 : 29-36.
- CONROY J.P., VIRGONA J.M., SMILLIE R.M., BARLOW E.W., 1988. Influence of drought acclimation and CO<sub>2</sub> enrichment on osmotic adjustment and chlorophyll, a fluorescence of sunflower during drought. *Plant Physiol.* 86 : 1 108-1 115.
- COSGROVE D.J., 1993. How do plant cell walls extend ? *Plant Physiol.* 102 : 1-6.
- DAVIES W.J., METCALFE J., LODGE T.A., DA COSTA A.R., 1986. Plant growth substance and the regulation of growth under drought. *Aust. J. Plant Physiol.* 13 : 105-125.
- DAVIES W.J., ZHANG J., 1991. Root signal and the regulation of growth and development of plant in drying soil. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 42 : 55-76.
- DELAUNAY A.J., VERMA D.P.S., 1993. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *Plant J.* 4 : 215-223.
- KAISER W.M., 1987. Effect of water deficit on photosynthetic capacity. *Physiol. Plant.* 71 : 142-149.
- MONNEVEUX P., 1991. Quelle stratégie pour l'amélioration génétique de la tolérance au déficit hydrique des céréales d'hiver ? *In* L'amélioration des plantes pour l'adaptation au milieu aride, N. CHALBI et Y. DEMARLY (éditeurs). AUPELF-UREF, Paris, France, p. 165-186.
- MONNEVEUX P., DEPIGNY-THIS D., sous presse. Intégration des approches physiologiques, génétiques et moléculaires pour l'amélioration de la tolérance à la sécheresse chez les céréales. Colloque « Quel avenir pour l'amélioration des plantes ? », Namur, Belgique, 18-21 novembre 1992. AUPELF-UREF, sous presse.
- PASSIOURA J.B., FRY S.C., 1992. Turgor and cell expansion : Beyond the Lockhart equation. *Aust. J. Plant Physiol.* 19 : 565-576.
- PETERSON C.A., MURRMANN M., STEUDLE E., 1993. Location of the major barriers to water and ion movement in young roots of *Zea mays*. *L. Planta* 190 : 127-136.
- PREMACHANDRA G.S., SANEOKA H., FUJITA K., OGATA S., 1992. Osmotic adjustment and stomatal response to water deficits in maize. *J. Exp. Bot.* 43 : 1 451-1 456.
- PUGNAIRE F., ENDOLZ L.S., PARDOS J., 1993. Constraints by water stress on plant growth. *In* Handbook of plant and crop stress. M. PESSARAKLI (Ed.). Marcel DEKKER Inc., Tucson, Arizona, Etats-Unis, p. 247-255.
- SANDERS P.L., MARKHART A.H., 1992. Interspecific grafts demonstrate root system control of leaf water status in water-stressed *Phaseolus*. *J. Exp. Bot.* 43 : 1 563-1 567.
- SCHULZE E.D., 1986. Whole-plant responses to drought. *Aust. J. Plant Physiol.* 13 : 127-141.
- TARCZYNSKI M.C., JENSEN R.G., BOHNERT H.J., 1993. Stress protection of transgenic tobacco by production of the osmolyte mannitol. *Science* 259 : 508-510.



# Contribution de la cytologie à l'étude des mécanismes de défense des plantes aux attaques parasitaires

M. NICOLE<sup>(1)</sup>, B. BOHER<sup>(1)</sup>, C. VALETTE<sup>(2)</sup>, C. MARTINEZ<sup>(1)</sup>, P.-A. CALATAYUD<sup>(3)</sup>, K. KPEMOUA<sup>(1)</sup>, C. DAAYF<sup>(4)</sup>, J.-F. DANIEL<sup>(1)</sup>, E. BRESSON<sup>(1)</sup>, J.-L. SARAH<sup>(2)</sup>, C. ANDARY<sup>(5)</sup>, J.-P. GEIGER<sup>(1)</sup>

(1) ORSTOM, laboratoire de phytopathologie, BP 5045, 34032 Montpellier, France.

(2) CIRAD, laboratoire de nématologie, BP 5035, 34032 Montpellier, France.

(3) ORSTOM, laboratoire des insectes nuisibles (LIN), BP 5045, 34032 Montpellier, France.

(4) Centre de recherche en horticulture, université de Laval, GIK7P4, Québec, Canada.

(5) Faculté de pharmacie, université de Montpellier 1, laboratoire de botanique et phytochimie, 34060 Montpellier, France.

L'un des défis actuels de la pathologie végétale réside dans la maîtrise des techniques de transfert de gènes de résistance aux maladies dans la perspective de disposer de variétés de plantes susceptibles de mieux résister à la pression parasitaire ambiante. Si le concept de transgénose chez les plantes est largement développé au plan expérimental (BROGLIE *et al.*, 1991 ; SAUVION *et al.*, 1995), son application à grande échelle demeure, pour le moment, problématique par rapport aux perspectives envisagées (MICHELMORE, 1995). Dans ce contexte, il paraît nécessaire de conforter les recherches sur le fonctionnement de ces gènes de résistance et des gènes de défense des plantes, incluant l'étude des mécanismes de leur régulation et du rôle des protéines pour lesquelles ils codent (LINDSAY *et al.*, 1993). Les techniques de biologie moléculaire associées à celle de la biochimie ont largement favorisé la compréhension de certains mécanismes de défense des végétaux aux agressions biotiques. Mais les progrès récents de la microscopie permettent aux disciplines telles que l'histologie et la cytologie de contribuer efficacement à la connaissance des réponses des plantes aux maladies parasitaires (BENHAMOU, 1993 ; NICOLE et GIANINAZZI-PEARSON, 1996). C'est ainsi que la cytologie moléculaire facilite la localisation spatio-temporelle de molécules synthétisées par les plantes et impliquées dans leur stratégie de défense face aux attaques microbiennes.

Dans la présente synthèse, on se propose de montrer l'apport de l'histopathologie à la compréhension de ces mécanismes à la fois à l'échelle tissulaire, cellulaire et moléculaire. Les photographies rapportées dans ce chapitre ont été acquises sur la base de recherches réalisées sur les modèles suivants : Hévéa-champignon (*Rigidoporus lignosus*), manioc-bactérie (*Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*), manioc-cochenille, cotonnier-champignon (*Verticillium dahliae* et *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*), cotonnier-bactérie (*Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*) et bananier-nématode (*Radopholus similis*).

## L'examen microscopique à l'échelle tissulaire

L'observation au microscope photonique d'un matériel végétal infecté permet une analyse à l'échelle histologique d'une situation parasitaire donnée. Associé aux techniques conventionnelles de coloration des constituants cellulaires (JENSEN, 1962), un tel examen rend compte d'événements intéressants plusieurs compartiments tissulaires. Dans le cas des maladies racinaires d'essences ligneuses causées par

des champignons agents de pourridés, il n'est pas rare de constater la mise en place de tissus lignifiés, néodifférenciés résultant de la stimulation d'activités cambiales (NICOLE *et al.*, 1991 et 1992). Le cambium libéro-ligneux, de même que l'assise génératrice subéro-phellodermique, peut ainsi être sollicité au cours de ces mécanismes de différenciation cellulaire (RIOUX et BIGGS, 1992). Les phénomènes de néogenèse tissulaire impliquent une activation de la biosynthèse des composés pariétaux dont des polysaccharides, des protéines, la lignine et la subérine impliqués dans le renforcement des barrières préformées (PETRINI et OUELLETTE, 1994). Ce mécanisme contribue à la tolérance des arbres aux agressions par les champignons en compartimentant les zones tissulaires infectées, phénomène qui se traduit dans le cas des maladies racinaires par la mise en place d'un nouveau système racinaire (SHIGO, 1984).

Une analyse similaire a été réalisée chez le manioc infecté par *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*, chez lequel la mise en place d'assises cicatricielles n'a été observée que dans les variétés tolérantes au parasite (KPEMOUA *et al.*, 1996).

En cas d'infection, la stimulation de la production de composés phénoliques représente une réponse spécifique mais générale des plantes. L'accumulation de phénols peut néanmoins caractériser une interaction différentielle comme dans l'exemple de la bactériose du cotonnier causée par *X. campestris* pv. *malvacearum*. Pour ce modèle, au cours d'une interaction incompatible, les plantes résistantes produisent des composés de type flavonoïde détectés histochimiquement dans les portions de mésophylle contaminé par la bactérie (DAI *et al.*, 1996). En revanche, dans les plants sensibles, l'infection généralisée à l'ensemble de la feuille ne déclenche pas une telle accumulation. La recherche d'activités enzymatiques associées à la production de flavonoïdes a révélé une intense activité peroxydase dans les plants résistants, apparaissant plusieurs heures avant l'accumulation de composés phénoliques. La résistance du cotonnier est fortement liée à la synthèse de plusieurs types de molécules incluant les phénols, les peroxydases et les terpénoïdes (ESSENBERG et PIERCE, 1994), toutes détectables par des techniques simples d'histochimie. Après extraction de certains de ces composés, des tests de toxicité ont permis de leur attribuer *in vitro* une activité antimicrobienne, autorisant leur classement dans le groupe des phytoalexines.

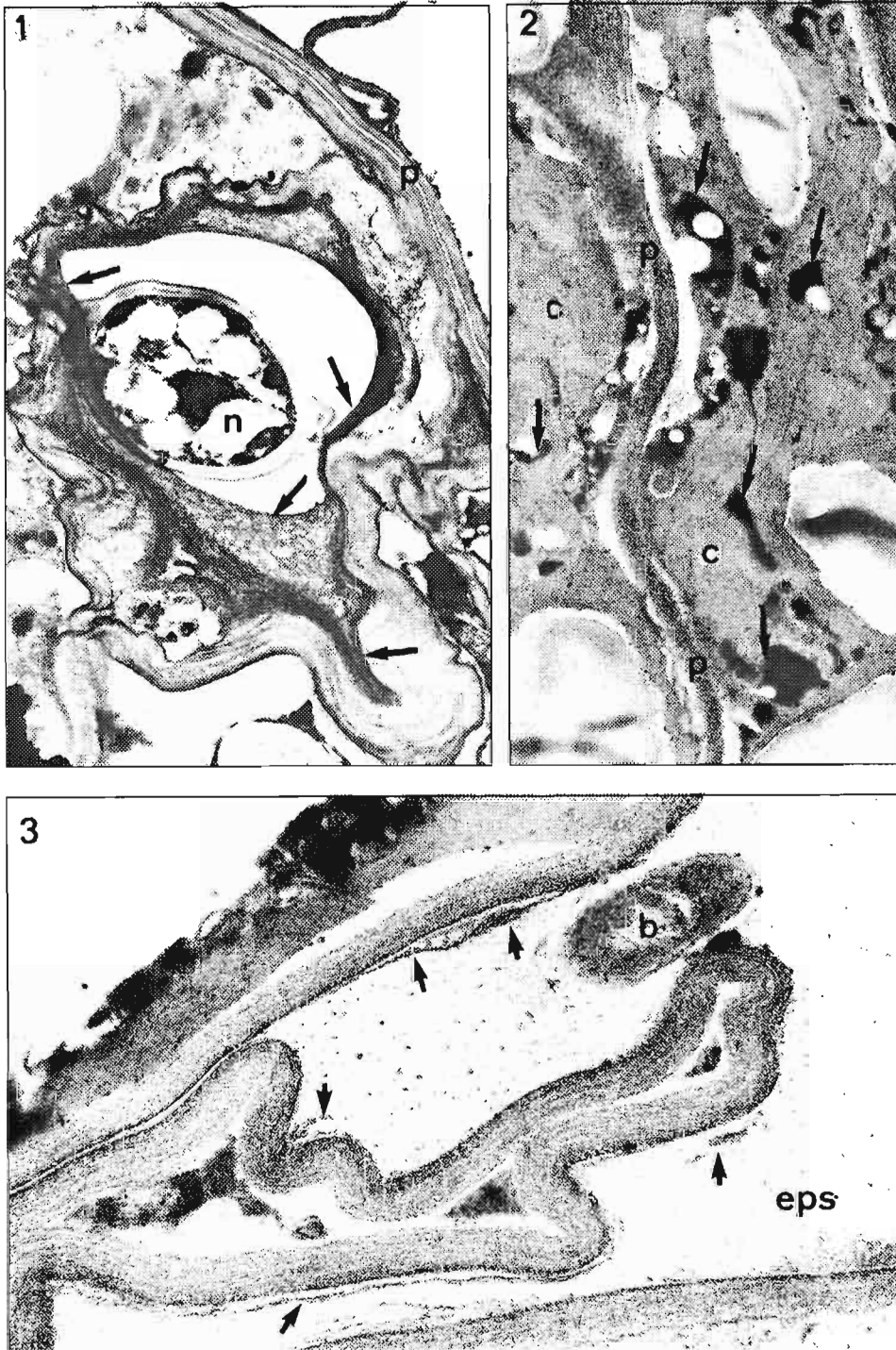
## L'examen microscopique à l'échelle cellulaire

Les réactions de défense des plantes se traduisent par des perturbations cellulaires importantes obser-

vables à l'échelle ultrastructurale. L'application des différentes techniques de microscopie électronique dans le domaine de la pathologie végétale permet ainsi d'affiner l'examen histologique en élargissant l'observation aux compartiments de la cellule (HALL et HAWES, 1991). Ainsi, la paroi constitue le siège privilégié de nombreuses réponses de la plante infectée, en ayant pour effet de renforcer cette barrière préexistante. Un enrichissement en protéines, en polysaccharides ou en polyphénols a ainsi été caractérisé dans les parois cellulaires de plantes contaminées. L'augmentation de la densité en électrons des parois des cellules de racines de bananier attaquées par le nématode migrateur *Radopholus similis* a pu être associée à l'imprégnation de ces parois par des flavonoïdes préalablement détectés par voie histo-chimique (VALETTE *et al.*, 1996) (figure 1). Dans les feuilles de cotonnier infectées par *X. campestris* pv. *malvacearum*, l'accumulation de flavonoïdes dans les cellules du mésophylle se caractérise sur le plan cytologique par la présence de globules denses aux électrons qui sont produits dans le cytoplasme (figure 2) avant de se concentrer dans les parois et dans la lamelle moyenne des cellules nécrotiques (figure 3) (DAI *et al.*, 1996). En raison des capacités des *Xanthomonas* à hydrolyser les pectines des lamelles moyennes (BOHER *et al.*, 1995), il est logique de suggérer que *X. campestris* pv. *malvacearum* se trouve confronté à des produits de dégradation de la pectine renfermant des molécules potentiellement bactéricides.

Dans le cas des maladies vasculaires, il est généralement admis que la colonisation de la plante repose sur le succès ou l'échec de l'expression de gènes de défense, d'une part, durant la colonisation des tissus corticaux et, d'autre part, durant l'installation et le développement du parasite dans le système vasculaire de la plante (BECKMAN, 1987). Au cours de la phase corticale, peu de parasites vasculaires fongiques ou bactériens sont freinés par les réactions différenciées par la plante pour les contrer, malgré l'efficacité potentielle de barrières structurales ou chimiques constitutives. C'est dans l'environnement des tissus vasculaires que le système défensif de la plante parvient à ralentir, voire à bloquer, la progression du parasite. Le transport des micro-organismes par les flux hydriques des vaisseaux accentue d'autant le risque de contamination systémique, imposant à la plante de réagir rapidement à la présence du parasite. C'est l'ensemble des parenchymes, paravasculaire et phloémique, qui est impliqué dans cette course contre la montre, qui va ainsi déterminer le niveau de résistance de l'hôte à la maladie.

Un groupe de molécules a été particulièrement étudié dans le cadre des mécanismes de résistance du cotonnier aux maladies vasculaires d'origine fongique. En effet, une étude histo-chimique et



**Figure 1.** *OI* de racines de bananier infectées par le nématode *Radopholus similis*. Le nématode (n) est localisé dans un espace intercellulaire du parenchyme cortical d'une racine d'une variété tolérante. La lamelle moyenne autour du parasite présente une densité importante aux électrons (flèches), révélant l'accumulation de composés osmiophiles et identifiés comme des flavonoïdes par les tests histochemiques, (p : paroi cellulaire de l'endoderme) (x 8 000).

**Figure 2.** Observation en microscopie électronique de cotylédons de cotonnier résistant infectés par *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*. Les cellules voisines de la nécrose typique de la réaction hypersensible contiennent

osmiophiles (flèches) identifiés par les techniques histochemiques comme des flavonoïdes, (p : paroi cellulaire), (x 28 000).

**Figure 3.** Observation en microscopie électronique de cotylédons de cotonnier résistant infectés par *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*. La bactérie (b) localisée dans les espaces intercellulaires du mésophylle cotylédonnaire produit des exopolysaccharides en grande quantité (eps). Des composés de types flavonoïdes denses aux électrons sont localisés dans le cytoplasme coagulé des cellules parenchymateuses et dans la lamelle moyenne, dont des fragments se détachent et s'accumulent dans les eps bactériens (têtes de flèches), (x 43 500).



biochimique a démontré que certains métabolites secondaires appartenant aux terpénoïdes possédaient une activité antifongique à l'égard de *Verticillium dahliae*, agent de la verticilliose (BELL, 1992 ; MACE *et al.*, 1989). Une analyse similaire réalisée conjointement à l'observation ultrastructurale a montré que ces terpénoïdes sont produits dans les cellules parenchymateuses du phloème et du xylème puis excrétés dans l'espace paramural d'abord et les vaisseaux du xylème, ensuite (figure 4). Or, c'est dans ces vaisseaux que le champignon se développe pour coloniser la plante entière. Ainsi, dans les plantes tolérantes ou résistantes à la verticilliose, il a été observé que ces composés tapissaient la paroi du champignon dès les premiers jours de l'infection (figure 5). Un examen attentif révèle une désorganisation des systèmes endomembranaires des hyphes mycéliennes, traduisant un effet cytotoxique de ces molécules (DAAYF *et al.*, 1996) (figure 6).

Dans le modèle manioc-*X. campestris* pv. *manihotis*, des réactions identiques ont été observées, aussi bien dans les plantes de la variété sensible que dans celles de la variété résistante. Sur cette dernière cependant, elles apparaissent plus précocement que sur la plante sensible et avec une intensité supérieure. A cet égard, des comptages comparatifs de vaisseaux contaminés, de cordons bactériens intercellulaires, de cellules produisant des composés phénoliques et de thyllles dans les vaisseaux ont permis de mieux apprécier l'impact de ces réponses sur le développement bactérien. Durant la phase vasculaire, la description des réponses de la plante révèle l'existence de différences significatives pouvant expliquer certains aspects de la résistance du manioc à la bactériose (KPEMOUA *et al.*, 1996). Ces réactions intéressent entre autres les modifications cellulaires de certains thyllles. Le thyllle est un moyen de défense qui permet, dans certains cas, de contenir localement les micro-organismes dans les vaisseaux contaminés, même s'il contribue également à ralentir le transfert de l'eau dans la plante. Leur production a largement été démontrée dans le cas de trachéomycoses (OUELLETTE et RIOUX, 1992 ; RIOUX *et al.*, 1995) et leur participation à la résistance à ces maladies a été clairement établie sur le cotonnier infecté par *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (BECKMAN, 1987) et sur le bananier infecté par *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (VANDERMOLEN *et al.*, 1987). Dans le manioc infecté par *X. campestris* pv. *manihotis*, les observations ultrastructurales ont montré que certains des thyllles différenciés par la variété résistante subissaient une évolution morphologique non observée dans les plants infectés des variétés sensibles. En effet, ces thyllles prennent un aspect digité par comparaison à la forme globuleuse des thyllles produits dans les variétés sensibles contaminées (figure 7). Cette différenciation est associée à une désorganisation de leur contenu cellulaire. Avant le stade ultime du collapsus, le cytoplasme de

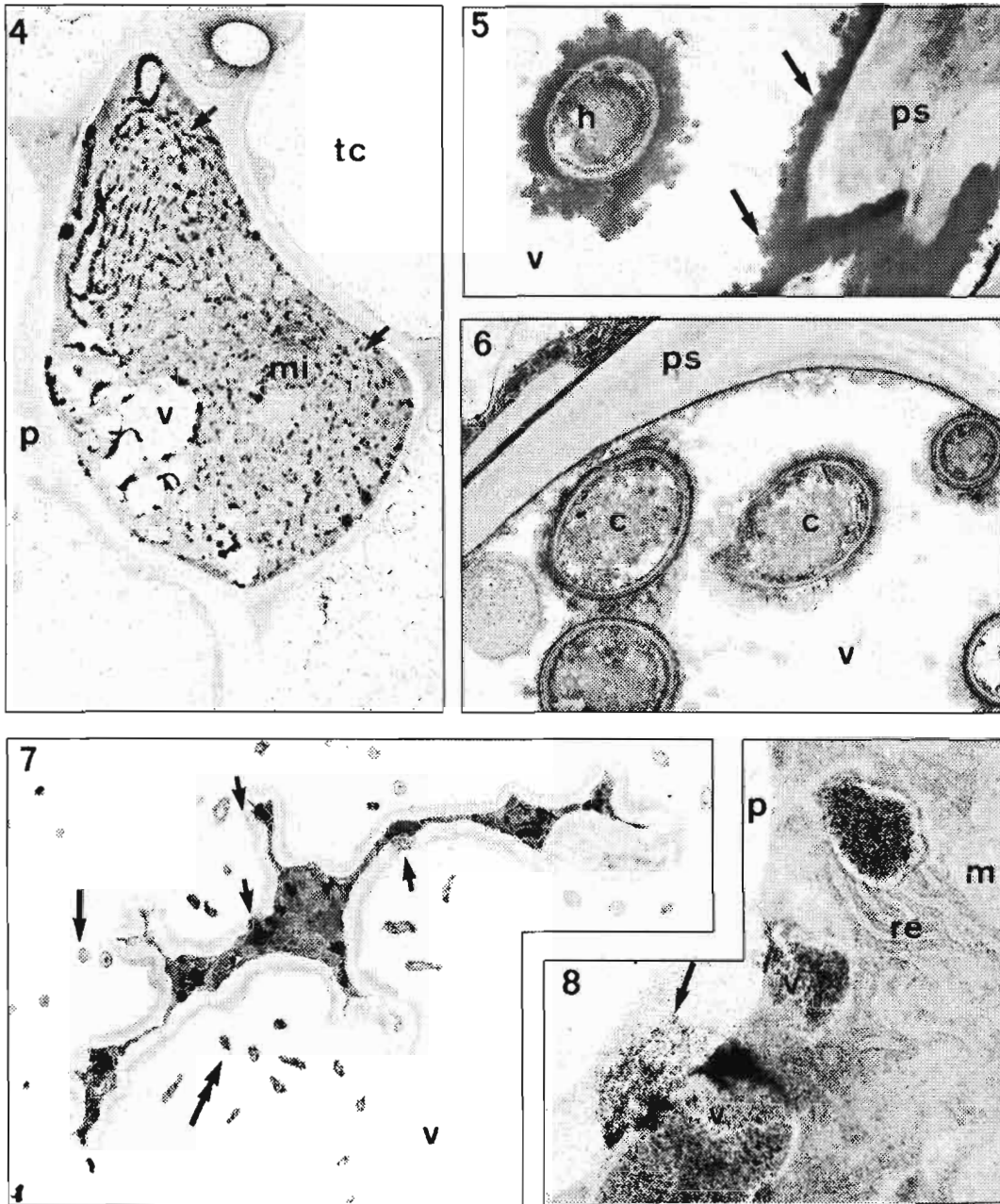
ces thyllles subit une modification profonde caractérisée par l'augmentation du nombre des organites, une augmentation de sa densité électronique et par l'apparition de vésicules dont le contenu, très osmophile, se déverse d'abord dans l'espace périplasmique, imprègne ensuite la paroi cellulosique et la lamelle moyenne et s'exclue enfin dans la lumière des vaisseaux (figure 8). Certaines des bactéries localisées au voisinage des zones de sécrétion de ces thyllles en phase de déstabilisation montrent des signes de dégradation (figure 7). Ce mécanisme s'apparente à celui d'une sécrétion de composés, de nature probablement phénolique, qui pourraient avoir un effet bactéricide. L'abondance d'organites dans les cellules compagnes et les thyllles tels que mitochondries, réticulum endoplasmique et appareil de Golgi conforte l'existence d'un processus de sécrétion très actif. En outre, la présence de composés phénoliques dans les thyllles est à relier à la densité particulière du cytoplasme des cellules parenchymateuses compagnes dont ils sont issus. L'organisation de ces cellules de la variété résistante est en effet très différente de celle des cellules compagnes des plantes sensibles, suggérant que les thyllles différenciés par les cellules parenchymateuses compagnes du xylème de la variété de manioc résistante à la bactériose possèdent les capacités métaboliques pour accumuler et sécréter des composés possédant des propriétés bactériostatiques (KPEMOUA *et al.*, 1996).

L'observation en microscopie électronique permet donc de caractériser un certain nombre de réponses de la plante soumise à un traumatisme parasitaire. Cette approche complète parfaitement l'analyse histochimique en précisant l'aspect ultrastructural et la cytolocalisation des composés identifiés par les techniques de coloration. En revanche, l'examen cytologique conventionnel reste souvent insuffisant pour la caractérisation chimique de structures néodifférenciées à l'échelle ultracellulaire. Le développement récent de la cytologie moléculaire a ouvert de nouvelles voies de recherche, qui approfondissent d'autant notre connaissance du rôle des produits des gènes de défense dans les stratégies élaborées par les plantes pour se protéger des infections.

## L'examen microscopique à l'échelle moléculaire

La cytologie moléculaire fait appel aux techniques de marquage des molécules à l'aide de sondes spécifiques. En raison de leur haute spécificité, elles sont considérées comme des outils particulièrement puissants, pour l'étude spatio-temporelle des produits des gènes. Ces sondes, couplées à des marqueurs





**Figure 4.** Observation en microscopie électronique de racines de cotonnier tolérant à la verticilliose. Dans le système vasculaire, des cellules parenchymateuses du phloème et du xylème produisent des substances denses aux électrons identifiées en histochimie comme des composés terpénoïdiques. Ces molécules sont localisées dans le réticulum endoplasmique (têtes de flèches), les vacuoles (v) et au voisinage des mitochondries (mi), (p : paroi cellulaire, tc : tube criblé du phloème), (x 11 000).

**Figure 5.** Observation en microscopie électronique de racines de cotonnier tolérant à la verticilliose. Les composés terpéniques denses aux électrons s'accumulent dans les vaisseaux (v), tapissant la paroi des hyphes fongiques (h) et la paroi secondaire des cellules (ps, flèches), (x 26 000).

**Figure 6.** Observation en microscopie électronique de racines de cotonnier tolérant à la verticilliose. L'impact des composés toxiques produits par les racines en réponse à

l'infection par *Verticillium* consiste en une désorganisation du cytoplasme des hyphes (c) qui se traduit par une dégradation des systèmes membranaires, (ps : paroi secondaire du vaisseau v), (x 21 000).

**Figure 7.** Observation en microscopie électronique de feuilles de manioc résistant infectées par *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*. Les thylles digités au cytoplasme, très dense aux électrons, renferment des vésicules qui sécrètent des composés (têtes de flèches) dans la lumière du vaisseau (v). Des bactéries vivantes (doubles flèches) et mortes (flèches) sont visibles près du thylle, (x 5 000).

**Figure 8.** Observation en microscopie électronique de feuilles de manioc résistant infectées par *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*. Agrandissement de la zone encadrée de la figure 7 montrant les vésicules (v) qui relarguent leur contenu osmiophile (flèches) dans la paroi (p) et la lumière du vaisseau (v). Remarquez le nombre important de mitochondries (m) et le réseau dense du réticulum (re), (x 40 000).

facilement détectables en microscopie tels que l'or colloïdal ou la fluorescéine, entre autres, permettent la cytolocalisation précise et fiable d'une très grande variété de molécules incluant des sucres, des polysaccharides, des protéines, des composés phénoliques, des lipides et des acides nucléiques (CHAMBERLAND, 1994).

Les anticorps, monoclonaux ou polyclonaux, représentent certainement le type de sonde le plus largement utilisé dans l'étude des réactions de défense des plantes (BENHAMOU, 1993), à condition d'assurer une préparation adéquate des tissus végétaux sans trop altérer les sites antigéniques recherchés. La distribution des HRGP (hydroxyproline-rich glycoprotein) a ainsi été suivie au cours de l'infection de racines de tomates par *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, démontrant une production supérieure et une localisation plus large de cette glycoprotéine dans les plantes résistantes (BENHAMOU *et al.*, 1990). Ces HRGP ont été visualisées dans les espaces intercellulaires et les parois primaires. Des protéines enzymatiques produites par la plante en réponse aux infections fongiques ont de même été immunocyto-localisées ; l'exemple le plus connu concerne les chitinases et les glucanases. Leur immunolocalisation *in planta* a démontré leur implication respective dans la dégradation de la chitine et des  $\beta$ -1,3 glucanes des parois fongiques (BENHAMOU et ASSELIN, 1992). Conjointement à l'immunocytochimie de protéines enzymatiques, la recherche d'activité enzymatique permet d'associer *in situ* la localisation d'une enzyme à son activité (HALL et HAWES, 1991).

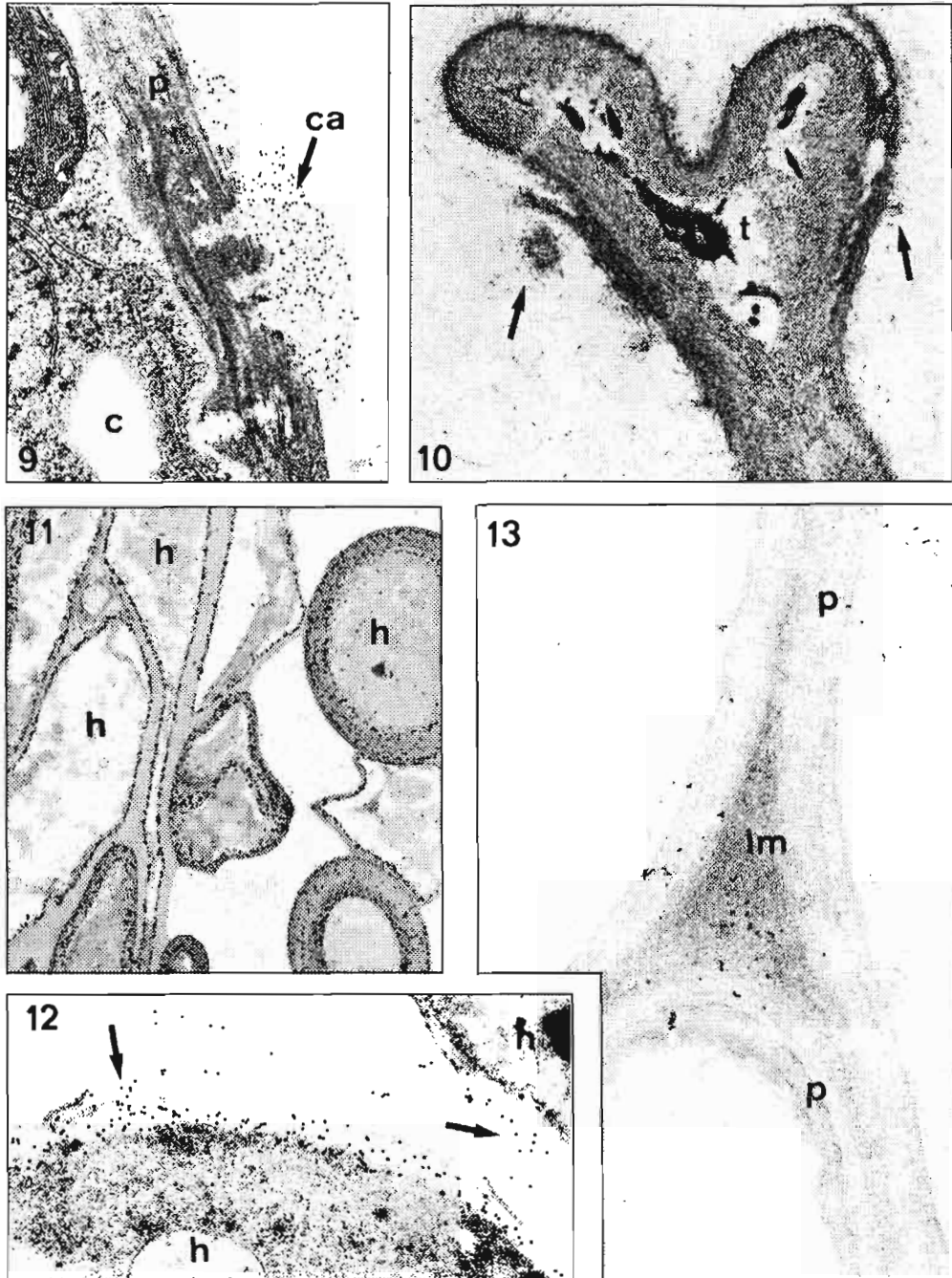
Les propriétés immunogènes des polysaccharides ont également été mises à profit pour confirmer le rôle de certains de ces polymères dans la résistance des plantes aux agressions microbiennes. L'activation de la synthèse de callose a ainsi été confirmée sur les plantes ayant subi une infection parasitaire. Si les dépôts de callose dans les cellules ne constituent pas en-soi une réaction de défense spécifique, ils interviennent néanmoins de manière systématique lors d'un traumatisme abiotique ou biotique. Ils ont pu être détectés dans le cas des maladies d'origine bactérienne (KPEMOUA *et al.*, 1996), fongique (DAAYF *et al.*, 1996), virale (PETERSCHMITT, non publié) ainsi que dans le cas d'attaques de nématodes (VALETTE *et al.*, 1996) et d'insectes (CALATAYUD *et al.*, 1996). Dans les tissus infectés, la callose est déposée dans les espaces intercellulaires, les papilles paramurales ou dans les parois cellulaires associées à une réorganisation de leur architecture (figure 9).

La production de pectine par les thylles durant leur différenciation en réponse aux infections par des maladies vasculaires a de même été immunocaractérisée dans les vaisseaux de manioc contaminés par *X. campestris* pv. *manihotis* (KPEMOUA *et al.*, 1996). Des fragments de composés pectiques se détachent

de la lamelle moyenne des thylles et s'accumulent dans la lumière des vaisseaux jusqu'à leur occlusion (figure 10). D'une manière générale, l'immunolocalisation des composés pectiques confirme les processus de dégradation des lamelles moyennes, qui conduit à la libération dans le compartiment apoplastique d'oligomères de pectine dont le rôle éliciteur des mécanismes de défense a déjà été décrit par ailleurs (RYAN et FARMER, 1991).

La cytolocalisation de mono- ou oligosaccharides peut être conduite en utilisant les lectines, glycoprotéines présentant une très forte affinité pour les sucres (BENHAMOU, 1989). La lectine de germe de blé (*WGA*, *Wheat germ agglutinin*) a ainsi été testée avec succès pour la localisation de la N-acétylglucosamine, monomère constitutif de la chitine des parois de champignons (figure 11) (NICOLE et BENHAMOU, 1991). Dans le cadre de l'étude des réactions de défense des racines de cotonnier infectées par *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, l'utilisation de cette lectine a montré que la paroi du champignon subissait de graves dommages dans les plantes plus tolérantes à l'infection suggérant l'intervention d'une chitinase dans le système défensif du cotonnier (figure 12). Une telle approche a par ailleurs confirmé la production de cette PR-protéine dans des plantes transgéniques pour le gène de la chitinase (BENHAMOU *et al.*, 1993).

L'application de la technique enzyme-or permet de localiser avec succès des substrats aussi diversifiés que les acides nucléiques, les lipides, les sucres ou les composés phénoliques (BENDAYAN, 1984 ; VIAN *et al.*, 1991). L'utilisation d'une laccase fongique, une ortho-diphénol oxydase, conjuguée à l'or colloïdal après purification de l'enzyme a permis de localiser la présence de composés phénoliques impliqués dans des réponses de plantes infectées, soit par des champignons (BENHAMOU *et al.*, 1994), soit par des bactéries (BOHER *et al.*, 1996). La stimulation du système défensif de tomates attaquées par *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* induit la formation et l'accumulation dans le parenchyme cortical racinaire de structures globulaires, dont certaines renferment des composés phénoliques indétectables par les techniques histo-chimiques conventionnelles (BENHAMOU *et al.*, 1994). Dans les parenchyms vasculaires de tiges de manioc résistant, le complexe laccase-or a confirmé l'imprégnation des espaces intercellulaires et des lamelles moyennes par des composés phénoliques (KPEMOUA *et al.*, 1996) (figure 13). De tels composés ont également été caractérisés dans des bactéries en dégénérescence au voisinage des thylles dans les vaisseaux contaminés du xylème. L'observation de ces tissus sous lumière ultra-violette confirme la présence de ces composés grâce à leur fluorescence naturelle.



**Figure 9.** Observation en microscopie électronique de racines de cotonnier tolérant à la verticilliose. Marquage de la callose après utilisation d'anticorps polyclonaux anti- $\beta$ -1,3-glucanes. Un dépôt de callose (ca) est visible dans l'espace paramural d'une cellule du phloème, (c : cellule phloémique ; p : paroi cellulaire), (x 27 000).

**Figure 10.** Observation en microscopie électronique de feuilles de manioc résistant infectées par *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*. Immunomarquage de la pectine avec des anticorps monoclonaux montrant la présence de fragments de lamelle moyenne (flèches) se détachant du thylle (t), (x 20 000).

**Figure 11.** Observation en microscopie électronique de racines d'*Hevea brasiliensis* infectées par le champignon *Rigidoporus lignosus*, agent de pourriture blanche. Marquage de la chitine fongique par la lectine de germe de blé conjuguée à l'or colloïdal.

Les particules d'or sont régulièrement distribuées sur la paroi des hyphes mycéliennes (h), (x 9 000).

**Figure 12.** Observation en microscopie électronique de racines de cotonnier infectées par le champignon *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. Marquage de la chitine fongique par la lectine de germe de blé conjuguée à l'or colloïdal. La présence de particules d'or (flèches) au voisinage de la paroi des filaments mycéliens (h) suggère une dégradation de la chitine pariétale avec libération d'oligomères de chitine, (x 26 000).

**Figure 13.** Observation en microscopie électronique de feuilles de manioc résistant infectées par *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*. Marquage des composés phénoliques par une enzyme (la laccase) conjuguée à l'or colloïdal. Les particules d'or sont localisées sur la lamelle moyenne (lm) et la paroi primaire (p), (x 24 000).

Si l'approche enzyme-or apparaît comme extrêmement séduisante, elle nécessite cependant un travail préalable et incontournable de purification de protéine, limitant *a priori* l'accessibilité à cette méthodologie.

Enfin, l'exposé de ces approches moléculaires ne saurait être complet si l'on n'évoquait les techniques d'hybridation *in situ*. Dans la problématique de l'identification des réactions de défense des plantes, elles apportent sans conteste des informations précieuses relatives à la cinétique de l'expression des gènes par la caractérisation des ARN messagers (BRANGEON, 1996), permettant ainsi d'affirmer les associations étroites pouvant exister entre les gènes de résistance et la présence plus ou moins précoce de certaines protéines. C'est le cas, notamment, des recherches portant sur les gènes impliqués dans la réaction hypersensible, manifestation cellulaire extrême de la résistance des plantes aux attaques microbiennes (GOODMAN et NOVACKY, 1994).

## Conclusion

Dans ce chapitre, nous nous sommes attachés à démontrer l'apport de la biologie cellulaire à la compréhension des mécanismes de résistance des plantes aux parasites. Les techniques modernes de la cytologie moléculaire permettent ainsi les opérations suivantes :

- suivre *in planta* le devenir d'une molécule au cours d'une interaction ;
- en préciser la distribution à l'échelle des tissus et de la cellule ;
- la visualiser par rapport aux sites d'infection et de localisation du parasite.

Aussi efficace que paraît cette approche, elle présente néanmoins un facteur limitant important qui réside dans la préservation du matériel végétal durant la préparation des échantillons pour l'observation microscopique. C'est particulièrement évident pour les étapes de fixation, pour lesquelles les techniques, fondées sur l'utilisation du froid (cryo-fixation) sous haute pression, évitent les artefacts possibles pouvant se produire lors de la fixation chimique.

Il faut, en outre, conserver à l'esprit que la microscopie génère l'information sous forme d'images qui, en elles-mêmes, ne constituent qu'un instantané d'une situation particulière. Dans une stratégie d'étude des interactions plante-parasite, elle occupe une place essentielle, à condition qu'elle s'insère dans un dispositif plus large comprenant des approches biochimiques, moléculaires, voire immunologiques. C'est vrai au plan fondamental pour une meilleure compréhension des mécanismes étudiés, c'est vrai aussi au plan technologique pour l'obten-

tion de ces outils performants que sont les sondes moléculaires.

## Références bibliographiques

- BECKMAN C.H., 1987. The nature of wilt diseases of plants. APS Press, St Paul, Etats-Unis, 175 p.
- BELL A.A., 1992. *Verticillium wilt*. In Cotton diseases. HILLOCKS J.H. (Ed.), CAB International, Wallingford, Grande-Bretagne, p. 87-126.
- BENDAYAN M., 1984. Enzymes-gold electron microscopic cytochemistry : a new affinity technique for the ultrastructural localization of macromolecules. Journal of Electron Microscopical Techniques 1 : 349-352.
- BENHAMOU N., 1989. Preparation and application of lectin-gold complexes. In Colloidal Gold. Principles, Methods, and Applications. HAYAT M.A. (Ed.), Academic Press, New York, Etats-Unis, p. 96-145.
- BENHAMOU N., 1993. Spatio-temporal regulation of defense genes : immunocytochemistry. In Mechanisms of Plant Defense Responses. FRITIG B. et LEGRAND M. (Eds), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Pays-Bas, p. 221-235.
- BENHAMOU N., ASSELIN A., 1992. *In situ* immunocytochemical localization of plant proteins. In Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology. THOMPSON J.E. and GLICK B.R. (Eds), CRC Press, Londres, Grande-Bretagne, p. 128-141.
- BENHAMOU N., BROGLIE K., CHET I., BROGLIE R., 1993. Cytology of infection of 35S-bean chitinase transgenic canola plants by *Rhizoctonia solani*: cytochemical aspects of chitin breakdown *in vivo*. The Plant Journal 4 : 295-305.
- BENHAMOU N., LAFONTAINE P.-J., NICOLE M., 1994. Seed treatment with chitosan enhanced resistance to *Fusarium* crown and root rot in tomato plants. Phytopathology 12 : 1 432-1 444.
- BENHAMOU N., MAZAU, D., ESQUERRE-TUGUAYE M.-T., 1990. Immunogold localization of hydroxyproline-rich glycoproteins in tomato root cells infected by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, study of a compatible interaction. Phytopathology 80 : 163-173.
- BOHER B., KPAMOUA K., NICOLE M., LUISETTI J., GEIGER J.-P., 1995. Ultrastructure of interactions between cassava and *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* : Cytochemistry of cellulose and pectin degradation in a susceptible cultivar. Phytopathology 85 : 777-788.
- BOHER B., BROWN I., NICOLE M., KPAMOUA K., BONAS U., GEIGER J.-P., MANSFIELD J., 1996. Histology and cytochemistry of interactions between plants and *Xanthomonas*. In Histology, Ultrastructure and

- Molecular Cytology of Plant-Microorganism Interactions. NICOLE M. et GIANINAZI-PEARSON V. (Eds), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Pays-Bas, p. 193-210.
- BRANGEON J., 1996. *In situ* hybridization to RNA in plant biology. *In* Histology, Ultrastructure and Molecular Cytology of Plant-Microorganism Interactions. NICOLE M. and GIANINAZI-PEARSON V. (Eds), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Pays-Bas, p. 21-42.
- BROGLIE K., CHET I., HOLLIDAY M., CRESSMAN R., BIDDLE P., KNOWLTON S., MAUVALS C.J., BROGLIE R., 1991. Transgenic plants with enhanced resistance to the fungal pathogen *Rhizoctonia solani*. *Science* 254 : 1 194-1 197.
- CALATAYUD P.-A., BOHER B., NICOLE M., GEIGER J.-P., 1996. Interactions between cassava mealybug and cassava : cytochemical aspects of plant cell wall modifications. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, sous presse.
- CHAMBERLAND H., 1994. Gold labeling methods for the ultrastructural localization of host wall and pathogen components. *In* Host wall alterations by parasitic fungi. PETRINI O. and OUELLETTE G.B.O. (Eds), APS Press, St Paul, Etats-Unis, p. 1-12.
- DAAYF F., NICOLE M., BOHER B., PANDO A., GEIGER J.-P., 1996. Early defense reactions of cotton to *Verticillium dahliae*. *European Journal of Plant Pathology*, sous presse.
- DAI G.-H., NICOLE M., MARTINEZ C., BRESSON E., DANIEL J.-F., ANDARY C., GEIGER J.-P., sous presse. Histochemistry and ultrastructure of flavonoid accumulation during an incompatible interaction between *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* (race 18) and cotton. *Planta*, sous presse.
- ESSENBERG M., PIERCE M., 1994. Sesquiterpenoid phytoalexins synthesized in cotton leaves and cotyledons during the hypersensitive response to *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*. *In* Handbook of phytoalexin metabolism and action. DANIEL M. and PURKAYASTHA R.P. (Eds), Marcel DEKKER Inc., New York, Etats-Unis, p. 183-198.
- GOODMAN R.N., NOVACKY A.J., 1994. The hypersensitive reaction in plants to pathogens, a resistance phenomenon. APS Press, St Paul, Etats-Unis, 245 p.
- HALL J.L., HAWES C., 1991. Electron microscopy of plant cells. Academic Press, Londres, Grande-Bretagne, 466 p.
- JENSEN W.A., 1962. Botanical Histochemistry. Freeman and Company, San Francisco, Etats-Unis, 409 p.
- KPEMOUA K., BOHER B., NICOLE M., CALATAYUD P.-A., GEIGER J.-P., 1996. Cytochemistry of defense responses in cassava infected by *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*. *Canadian Journal of Microbiology*, sous presse.
- LINDSAY W.P., LAMB C.J., DIXON R.A., 1993. Microbial recognition and activation of plant defense systems. *Trends in Microbiology* 1 : 181-187.
- MACE M.E., STIPANOVIC R.D., BELL A.A., 1989. Histochemical localization of deoxyhemigossypol a phytoalexin in *Verticillium dahliae*-infected cotton stems. *New Phytologist* 111 : 229-232.
- MICHELMORE R., 1995. Molecular approaches to manipulation of disease resistance genes. *Annual Review of Phytopathology* 15 : 393-427.
- NICOLE M., BENHAMOU N., 1991. Ultrastructural localization of chitin in cell walls of *Rigidoporus lignosus*, the white root rot fungus of rubber trees. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 39 : 415-432.
- NICOLE M., GIANINAZI-PEARSON V., 1996. Histology, Ultrastructure and Molecular Cytology of Plant-Microorganism Interactions. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Pays-Bas, 270 p.
- NICOLE M., GEIGER J.-P., NANDRIS D., 1992. Defense mechanisms of angiosperm roots to fungal invasion. *In* Defense mechanisms of woody plants against fungi. BLANCHETTE R.A. and BIGGS A.R. (Eds), Springer Verlag, New York, Etats-Unis, Heidelberg, Allemagne, p. 181-206.
- NICOLE M., TOPPAN A., GEIGER J.-P., ROBY D., RIO B., NANDRIS D., 1991. Defense responses of *Hevea brasiliensis* to elicitors from root rot fungi. *Canadian Journal of Botany* 69 : 1 819-1 824.
- OUELLETTE G.B.O., RIOUX D., 1992. Anatomical and physiological aspects of resistance to Dutch elm disease. *In* Defense mechanisms of woody plants against fungi. BLANCHETTE R.A. et BIGGS A.R. (Eds), Springer Verlag, Berlin, Allemagne, p. 257-307.
- PETRINI O., OUELLETTE G.B.O., 1994. Host wall alterations by parasitic fungi. APS Press, St Paul, Etats-Unis, 159 p.
- RIOUX D., BIGGS A.R., 1994. Cell wall changes in host and non host systems : microscopic aspects. *In* Host wall alterations by parasitic fungi. PETRINI O. and OUELLETTE G.B.O. (Eds), APS Press, St Paul, Etats-Unis, p. 31-44.
- RIOUX D., CHAMBERLAND H., SIMARD M., OUELLETTE G.B., 1995. Suberized tyloses in trees : an ultrastructural and cytochemical study. *Planta* 196 : 125-140.
- RYAN C.A., FARMER E.E., 1991. Oligosaccharide signals in plants : a current assessment. *Annual Review of Physiological and Molecular Plant Biology* 42 : 651-674.
- SAUVION N., BONADE-BOTTINO M., JOUANIN L., RAHBE Y., 1995. Les plantes transgéniques résistantes aux insectes. INFO 2000, Bulletin d'information des zoologistes de l'INRA 10 : 3-13.
- SHIGO A.L., 1984. Compartmentalization : a conceptual framework for understanding how trees grow and defend themselves. *Annual Review of Phytopathology* 22 : 189-214.



VALETTE C., NICOLE M., SARAH J.-L., BOISSEAU M., BOHER B., FARGETTE M., GEIGER J.-P., 1996. Ultrastructure and cytochemistry of interactions between banana and the nematode *Radopholus similis*. *Fundamental and Applied Nematology*, sous presse.

VIAN B., NAIRN J., REID J., 1991. Enzyme-gold cytochemistry of seed xyloglucans using two xyloglucan specific hydrolases. Importance of prior deactivation of the enzymes. *Histochemical Journal* 23 : 116-124.

---

## Discussion

### Les flavonoïdes

Les flavonoïdes appartiennent au groupe des composés phénoliques. Certains sont constitutifs alors que d'autres sont induits après un traumatisme biotique ou abiotique. Parmi les fonctions multiples qu'elles occupent (reconnaissance, attractivité, stimulateurs de croissance), ces molécules peuvent également être impliquées dans le système défensif des végétaux comme signaux activateurs de gènes ou en tant que phytoalexines. Dans ce dernier cas, on a pu démontrer *in vitro* l'action antimicrobienne de certaines d'entre elles sur un grand nombre de micro-organismes (champignons, bactéries, nématodes...).

### Les sites de production des phytoalexines

Ils sont bien entendu synthétisés dans le cytoplasme des cellules de tissus infectés. Dans le cas du cotonnier infecté par les champignons vasculaires *Verticillium* ou *Fusarium*, ou par une bactérie foliaire, *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*, deux sites de production des terpénoides dérivés du gossypol ont été mis en évidence sur le plan cellulaire : les cellules parenchymateuses du phloème et celles associées aux vaisseaux du xylème.

### Mise en évidence d'anthocyanes

Dans les modèles décrits, aucune production d'anthocyanes n'a été caractérisée, même si ces molécules sont connues pour intervenir dans d'autres modèles plantes-parasites.

### Tolérance et résistance des végétaux

Ces deux notions diffèrent dans leur définition. La tolérance est une notion essentiellement agronomique reposant sur des variations dans le rendement en fonction du degré de maladie, mais les anglophones utilisent également le terme de tolérance dans le cadre des interactions plantes-micro-organismes.

La résistance a un fondement génétique qui repose sur le concept gène pour gène, pour lequel le(s) gène(s) de résistance de la plante s'oppose(nt) à un gène d'avirulence du parasite.

Dans le cas d'une interaction incompatible, la résistance résulte de l'expression d'un ou de quelques

gènes ; elle se traduit par une réaction de type hypersensible (exemple : la bactériose du cotonnier). Ces gènes gouvernent l'activation de signaux impliqués dans la mise en place de la réaction hypersensible ou le déclenchement des réactions de défense. Dans le cas d'une interaction compatible, l'absence de ces gènes de résistance de la plante conduit à des degrés d'infection variables résultant de la manifestation essentielle de gènes de défense. Parmi ces derniers, citons ceux qui codent pour la synthèse de molécules impliquées dans le renforcement des parois cellulaires : lignine, subérine, callose, HRGP. Alors que d'autres codent pour la synthèse de protéines reliées à la pathogénèse (PR-protéines), telles les chitinases ou les glucanases, ou pour la production de composés phénoliques comme les flavonoïdes ou les dérivés cathéchiques. L'efficacité des réactions de défense varie en fonction de l'environnement, du cultivar et, surtout, des micro-organismes pathogènes, dont certains ont la capacité de contourner ces réponses.

Une bonne connaissance des mécanismes de résistance des plantes associée à la maîtrise des techniques de transgénèse permet de disposer de plantes transgéniques dans lesquelles ont été introduits des gènes de résistance à certains microbes (bactérie et champignon).

### Quel est le coût énergétique des mécanismes de défense pour la plante ?

La différenciation de réactions de défense sollicite plusieurs métabolismes, souvent au détriment des fonctions physiologiques essentielles de la plante (croissance, photosynthèse, respiration, reproduction, stockage de substances de réserve). La synthèse *de novo* de molécules antimicrobiennes ou la mise en place de mécanismes de cicatrisation exige une consommation d'énergie plus ou moins importante. Bien que le métabolisme primaire ne puisse être fondamentalement altéré dans une situation d'incompatibilité entre la plante et son micro-organisme pathogène, il a été démontré des détournements de transfert de flux intéressant des éléments comme le carbone et l'azote. Cependant, la production de métabolites secondaires (composés phénoliques et terpéniques, hormones de croissance...), impliqués dans la réponse de la plante à l'agression parasitaire, peut se traduire par une diminution de la biomasse végétale, une réduction des substances de réserve ou une diminution de l'efficacité des processus physiologiques.

D'une manière générale, il est difficile de quantifier de telles perturbations physiologiques en termes de consommation d'énergie car la plante cherche, dans la mesure du possible, à établir la situation d'équilibre énergétique la plus favorable à son développement.

# Influence des conditions de milieu sur la prédisposition des plantes aux maladies : synthèse sur le cas des bactérioses des arbres fruitiers à noyau

A. VIGOUROUX

INRA, ENSA, UFR de biologie et pathologie végétales, 9 place Viala, 34060 Montpellier Cedex 1, France.

Les phytopathologistes se sont toujours intéressés à l'influence des conditions de milieu sur les maladies mais il s'agissait essentiellement de l'influence sur le développement du parasite : germination de spores, transport (se référer aux études sur les mildious, les tavelures, etc.). L'action du milieu sur l'hôte, pouvant modifier les réactions de la plante au parasite, a été nettement moins étudiée (SCHENWEISS, 1981), sinon, par exemple, pour souligner certains effets évidents comme les gerçures constituant des portes d'entrée, l'asphyxie ou certaines carences affaiblissant l'hôte et ses réactions de défense. Le cas des pourridiés à développement aggravé dans les zones de vergers à tendances asphyxiantes est typique de ce que l'on peut appeler des maladies de faiblesse.

Il est pourtant des situations assez fréquentes où ne se rencontrent ni lésions, ni modifications physiologiques de dépérissement, mais des changements d'état tout à fait normaux, souvent temporaires et peu marqués, permettant cependant l'installation de parasites que l'on peut alors qualifier d'opportunistes.

Même si des parasites divers peuvent prétendre profiter de ces opportunités, *a priori* ce sont les organismes à développement très rapide qui seront les mieux placés pour valoriser une situation favorable éphémère et peu marquée. En peu de temps, ils peuvent s'accroître considérablement, ou bien une faible variation de leur substrat ou de leur milieu nutritif peut leur permettre de passer un seuil au-dessus duquel cette croissance peut être rapidement considérable.

Les bactéries répondent à ces caractéristiques et ce type de comportement est apparu clairement durant

notre étude des bactérioses à *Pseudomonas* des arbres fruitiers à noyau. Ces maladies sont très difficiles à contrôler à moins de pulvériser généreusement les vergers d'antibiotiques, ce qui n'est évidemment pas envisageable. En revanche, en précisant ce qui concourt à créer les conditions particulières d'installation des germes, c'est-à-dire à prédisposer les arbres aux bactérioses, on peut espérer élaborer une démarche préventive de protection, pour l'inclure ensuite dans une stratégie globale de lutte intégrée. C'est l'objectif que nous avons poursuivi en étudiant les conditions de développement des *Pseudomonas* affectant les arbres fruitiers à noyau. Ces divers *Pseudomonas* relèvent tous de l'espèce *syringae* (des pathovars étant inféodés plus ou moins spécifiquement à chacune des espèces fruitières) et ont des comportements très voisins. Pour des raisons historiques et de commodité d'étude (nombreux rameaux identiques disponibles sur un même arbre), nous avons approfondi l'étude de la bactériose sur pêcher mais nous vérifions les possibilités de généralisation aux germes voisins.

## Etude des conditions de développement de la bactériose du pêcher

Maladie nouvelle apparue à la fin des années 60 dans les conditions écologiques très typées du plateau granitique du Moyen-Vivarais, cette affection

s'est rapidement montrée très influencée par plusieurs facteurs du milieu.

Elle consiste pour l'essentiel en des lésions nécrotiques d'étendue très variable provoquées par le développement du germe responsable, *Pseudomonas syringae* pv. *persicae* dans les tissus corticaux des rameaux et branches (LUSETTI *et al.*, 1985). Ces lésions commencent et s'étendent pendant l'hiver, et peuvent provoquer, au printemps, le dessèchement des parties situées au-dessus, lorsque l'arbre retrouve un développement végétatif actif.

L'importance des dégâts est en grande partie fonction du nombre et de l'étendue de ces lésions, éléments eux-mêmes directement liés à la facilité d'installation et de progression de la bactérie responsable dans les tissus. Or, à l'occasion de l'extension géographique de la maladie dans les zones de culture du pêcher, sont vite apparues des conditions de développement préférentielles de ces lésions, impliquant très clairement le climat et le sol des parcelles affectées.

L'intensité du phénomène incitait à confirmer expérimentalement ces interventions, à estimer leur importance et à préciser leurs modalités.

Cependant, un préalable a été de reproduire la maladie à volonté. Or, l'inoculation artificielle du germe, qui aurait pu se limiter à une simple piqûre des rameaux avec une aiguille lancéolée trempée dans une suspension bactérienne, donnait des résultats aléatoires, jusqu'au moment où nous avons pu mettre en évidence une forte corrélation entre la réceptivité des arbres et leur phénologie. En particulier, des inoculations échelonnées durant

l'automne et le début de l'hiver ont montré l'existence d'un accroissement et d'un maximum de réceptivité des tissus des rameaux pendant la chute automnale des feuilles (figure 1). La coïncidence de cette grande réceptivité avec la réalisation des plaies pétiolaires, que nous avons auparavant caractérisées comme des voies de contamination naturelle efficaces, soulignait une bonne adaptation du germe pour parasiter le pêcher et toutes les expérimentations réalisées par la suite ont pris en compte ce phénomène pour réaliser les inoculations.

Compte tenu du type d'investigation (temps morts importants liés au caractère pérenne du modèle de travail), les études concernant ces influences édaphiques ou climatiques ont été menées parallèlement, d'autant que des interactions importantes entre les deux aspects pouvaient être attendues. Pour l'exposé, nous aborderons en premier lieu les aspects édaphiques.

## Etude des influences d'ordre édaphique

La zone d'extension géographique de la maladie, en fort accroissement les premières années, comprenait des terrains très variés sur le plan géologique. Nous avons ainsi pu constater que les vergers cultivés sur deux types distincts de sols acides (formés sur arène granitique ou bien sur diluvium de terrasses fluvio-glaciaires) étaient très affectés alors que ceux, tout proches, sur alluvions récentes limono-calcaires, ne montraient aucun dégât.

L'inoculation de jeunes pêchers cultivés dans des conteneurs de 100 litres, remplis de terre de ces diverses catégories de vergers, confirma la prédisposition des arbres développés dans les terres à caractère acide. Cependant, la correction de ce caractère par chaulage ne fournit qu'une amélioration très limitée, ou même pratiquement nulle pour des expérimentations réalisées en pleine terre. Les agronomes ne décelaient, par ailleurs, aucune carence notable ou systématique dans la composition des terres et c'est plutôt dans le fonctionnement du système plante-sol en place que nous avons recherché l'origine de la prédisposition observée.

La comparaison de profils culturaux des vergers, affectés ou non, permet d'opposer deux types de situations : les sols limono-calcaires généralement profonds, permettant un enracinement homogène bien réparti avec une proportion de terre fine argilo-limoneuse élevée ; et les sols formés sur arène ou diluvium, peu profonds, à profil hétérogène générant

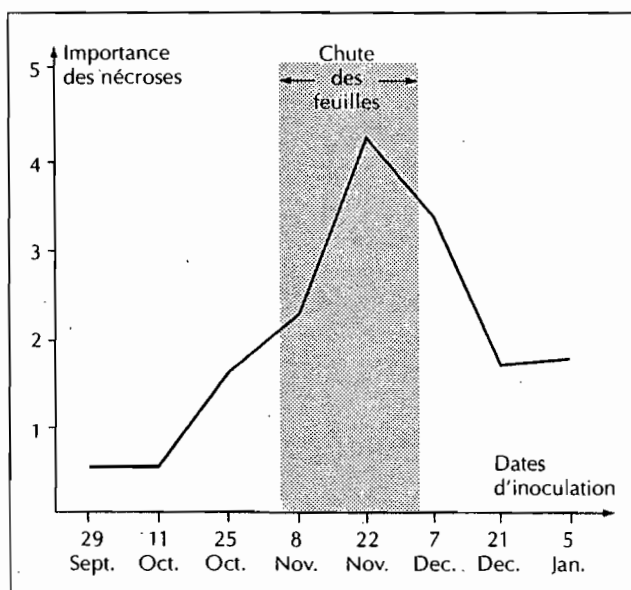


Figure 1. Importance (notée sur 5) atteinte au printemps par les infections sur rameau en fonction de la date d'inoculation.



des systèmes racinaires irrégulièrement distribués, la fraction terre fine à dominante sableuse se révélant en outre fortement réduite par une importante proportion de cailloux.

Ces caractéristiques, recoupées avec celles des parties de verger les plus atteintes (hauts de pente, zones spécialement caillouteuses), suggéraient l'existence, dans les vergers malades, de conditions d'alimentation hydrique estivales défectueuses et l'on pouvait penser que, par un arrière-effet se manifestant en hiver, cette anomalie soit impliquée dans la prédisposition des arbres.

Une expérimentation réalisée en grands conteneurs (250 litres), pour que les arbres connaissent des conditions de développement proches de celles du plein champ, permit de confirmer que l'augmentation de la proportion de cailloux et surtout la réduction du volume de terre disponible étaient des facteurs d'augmentation de la sensibilité des arbres. En parallèle, l'incidence très nette de la seule variation de la quantité d'eau consommée (obtenue en jouant sur le niveau d'irrigation) confirmait que l'alimentation hydrique était bien l'élément déterminant du comportement des pêcheurs face aux infections bactériennes provoquées (VIGOUROUX *et al.*, 1987).

En outre, les résultats des analyses individuelles des teneurs en cations des soixante pêcheurs de l'essai, rapprochés des notations de bactérioses effectuées sur ces mêmes arbres, ont permis de dresser la matrice de corrélation présentée au tableau I.

**Tableau I.** Corrélations entre les lésions observées et les teneurs en potassium (K), calcium (Ca) et magnésium (Mg) (au seuil de 1 %).

|         | Lésions | K       | Ca      | Mg      |
|---------|---------|---------|---------|---------|
| Lésions | 1 000   | + 0,717 | - 0,591 | - 0,409 |
| K       | -       | 1 000   | - 0,614 | - 0,380 |
| Ca      | -       | -       | 1 000   | + 0,240 |
| Mg      | -       | -       | -       | 1 000   |

Ainsi, des teneurs supérieures en potassium semblaient associées à la sensibilité des arbres tandis que des teneurs plus élevées en calcium semblaient associées à un état plus résistant. L'examen des résultats d'analyses minérales indiquait par ailleurs que la teneur en calcium des pêcheurs semblait nettement liée aux quantités d'eau consommées par les arbres, ce qui suggérait que les modalités d'action d'un déficit hydrique estival pour prédisposer les arbres pouvait consister en la réduction de leur teneur en calcium. Cependant, l'eau utilisée pour l'essai s'étant révélée nettement calcaire, toute élaboration de conclusion sur l'origine du calcium consommé était impossible.

Une autre expérimentation en grands conteneurs fut donc entreprise dans des conditions d'alimentation calcique plus contrôlées. Par le biais de deux niveaux d'irrigation, l'incidence de la consommation en eau sur le degré de sensibilité des arbres et sur leur alimentation minérale fut comparée à celle de deux formes d'apport de calcium : utilisation, pour l'irrigation, d'eau calcaire contenant 120 mg/l de calcium (par opposition à une eau déminéralisée) et amendement calcique de la terre de culture par mélange avec 1 g de CaO/kg de terre. Les caractéristiques de la terre de diluvium employée pour l'ensemble de cette étude figurent au tableau II, comparées à celles d'une terre limono-calcaire type. Comme dans l'essai précédent, les arbres (un par conteneur et analysés individuellement) n'ont été cultivés qu'un an à raison de 12 par traitement. Leur sensibilité a été estimée

**Tableau II.** Caractéristiques des terres de diluvium (alluvions anciennes) et de limon.

| Eléments analysés                                    | Limon calcaire | Terres d'alluvions anciennes |
|--|----------------|------------------------------|
| Granulométrie sans décalcification, 5 fractions en % |                |                              |
| Argile   | 247            | 100                          |
| Limon fin  | 299            | 154                          |
| Limon grossier                                       | 200            | 151                          |
| Sable fin  | 198            | 266                          |
| Sable grossier                                       | 56             | 329                          |
| Fraction supérieure à 2 mm en %                      | 9              | 45                           |
| pH   | 8,2            | 5,7                          |
| C : carbone organique (méthode Anne 1945) ‰          | 14,8           | 7,2                          |
| C : matières organiques C x 1,72 ‰                   | 25,2           | 12,3                         |
| Azote Kjeldahl ‰                                     | 1,8            | 0,74                         |
| Rapport carbone organique (Anne)/ Azote Kjeldahl     | 8,22           | 9,72                         |
| Calcaire total ‰                                     | 364            | 0                            |
| Acide phosphorique (Joret-Hebert) ‰                  | 0,07           | 0,05                         |
| Capacité d'échange (méthode de Metson) meq/100 g     | 10,5           | 4,2                          |
| Calcium échangeable meq/100 g                        | 35,4           | 3,1                          |
| Magnésium échangeable meq/100 g                      | 0,86           | 0,17                         |
| Potassium échangeable meq/100 g                      | 0,185          | 0,276                        |

durant l'hiver qui a suivi l'année de culture et d'application des traitements, par inoculation artificielle sur des rameaux d'un an à raison de 6 rameaux par arbre. A la même époque, en mars, on a prélevé 14 rameaux par arbre, identiques à ceux inoculés, pour analyse minérale de leur écorce afin de déterminer l'incidence des traitements sur la composition des plants.

L'importance comparée des lésions obtenues dans ces conditions est présentée dans le tableau III. A niveau d'irrigation identique et pour chacun des deux niveaux pratiqués, le calcium apporté par l'eau calcaire d'irrigation ou contenu dans l'amendement du sol n'a pas eu d'effet appréciable. En revanche, la diminution du niveau d'irrigation s'est traduite par une augmentation des infections, dans tous les cas où elle a été appliquée. C'est donc uniquement la variation de consommation d'eau qui est associée aux variations de sensibilité des pêcheurs. Un déficit hydrique estival constitue ainsi un élément majeur de prédisposition.

Les résultats des analyses minérales, au moins en ce qui concerne le calcium — le seul vraiment marquant —, sont aussi indiqués dans le tableau III. Là aussi, on note une variation des teneurs seulement en cas de modification du niveau d'irrigation. La teneur significativement inférieure, constatée dans le cas du plus faible niveau d'irrigation avec l'eau calcaire, qui aurait pu entraîner, logiquement, un taux en calcium supérieur par rapport à celui obtenu avec l'eau pure, est en fait due à une réduction temporaire accidentelle de la quantité d'eau délivrée pour ce traitement. Cette défaillance confirme le résultat général.

La quantité d'eau consommée par les arbres est donc le facteur majeur — au moins dans ces types de sol — des variations des teneurs en calcium des arbres (VIGOUROUX et BUSSI, 1989). Ce type de résultat recoupe parfaitement les connaissances des physio-

logistes sur diverses plantes herbacées et semis d'espèces ligneuses (EPSTEIN, 1972 ; STEBBINS et DEWEY, 1972 ; BANGERTH, 1979). De plus, on retrouve encore ici un coefficient de corrélation de  $r = -0,690$  entre l'importance des infections et les taux de calcium des rameaux des 72 arbres étudiés.

La relation entre déficit hydrique estival, faible teneur en calcium et prédisposition hivernale des arbres, semble donc se confirmer. Le rôle du potassium n'est pas apparu dans cet essai où le niveau de déficit hydrique était bien moindre. Selon les physiologistes (HUDSON, 1958 ; SALSAC, 1977), son intervention dans le métabolisme de l'eau entraîne son absorption intense en cas de déficit important. Ses propriétés antagonistes de celles du calcium doivent donc intervenir dans des conditions plus sévères mais assez fréquentes et il semble nécessaire de conduire parallèlement les études des rôles de ces deux cations. Pour établir ces rôles avec certitude, et les analyser de façon plus détaillée, un travail s'appuyant sur la culture de semis de pêcher sur sable siliceux avec solutions nutritives à différentes concentrations est entrepris actuellement. De toute façon, une meilleure connaissance des mécanismes de l'infection est indispensable pour localiser l'intervention de ces cations et l'étude de l'action climatique nous a permis d'avancer dans ce domaine.

## Etude des influences d'ordre climatique

A travers l'influence de la topographie ou de l'exposition, nous avons rapidement perçu une incidence très marquée des températures négatives, retrouvée dans l'étendue des dégâts qui suivaient, à

**Tableau III.** Comparaison de l'influence de la consommation en eau et de deux formes d'apports de calcium sur l'importance d'infections bactériennes induites sur des rameaux de pêcheurs et sur la teneur en calcium des rameaux.

| Eau employée                | Type de terre                | Importance des infections <sup>(3)</sup> |                                  | Teneurs en calcium <sup>(4)</sup> |                                  |
|-----------------------------|------------------------------|--|----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|
|                             |                              | Irrigation forte ETP                     | Léger déficit hydrique ETP x 0,7 | Irrigation forte ETP              | Léger déficit hydrique ETP x 0,7 |
| Eau calcaire <sup>(1)</sup> | Terre acide témoin           | 2,91 a                                   | 3,87 b                           | 3,55 c                            | 2,26 a                           |
| Eau désionisée              | Terre acide témoin           | 3,26 a                                   | 3,80 b                           | 3,33 c                            | 2,57 b                           |
| Eau désionisée              | Terre amendée <sup>(2)</sup> | 3,16 a                                   | 3,69 b                           | 3,50 c                            | 2,65 b                           |

(1) eau du réseau contenant 120 mg/l de Ca.

(2) amendement par addition de 1 g de CaO par kg de terre.

(3) moyenne de 6 inoculations sur rameau par arbre et 12 arbres par traitement (échelle à progression logarithmique de 1 à 9).

(4) en % de matière sèche, moyenne de 14 rameaux par arbre et de 12 arbres par traitement.

Les valeurs suivies par la même lettre ne sont pas distinguées par le test de classement des moyennes de Newman et Keuls au seuil de 5 %.

l'échelle régionale, les hivers spécialement froids. L'installation d'une petite station météorologique près d'un verger contaminé permet alors de suivre plus précisément les relations entre arrivée des températures négatives et évolution de la symptomatologie au champ. Nous avons ainsi constaté l'étroite liaison entre l'apparition des premières nécroses de bourgeons et l'occurrence des premiers minima négatifs (figure 2). Les contaminations des bourgeons étant obtenues chaque année lors de la réalisation des plaies pétiolaires durant la chute des feuilles (mi-novembre), l'incidence des premiers froids apparaissait déterminante pour la durée de l'incubation et l'extériorisation de l'infection.

Pour confirmer ce résultat dans des conditions expérimentales contrôlées, nous avons élaboré un modèle d'inoculation artificielle sur rameau dormant d'un an, excisé et conservé plusieurs mois en tube de verre en très bon état de fraîcheur. Parmi des lots de rameaux ayant séjourné, après inoculation, à diverses températures, seuls ceux ayant subi des températures négatives ont fourni des lésions bactériennes (figure 3). La durée du froid semblait aussi un élément important, comme le montrent les traitements III et IV de la figure 3 (VIGOUROUX, 1979).

Observée aussi dans le cas de bactériose sur d'autres arbres, cette action du froid, qui apparaît si décisive, semble constituer un phénomène clef dans le déroulement de l'infection bactérienne sur pêcher et nécessiter une analyse spécifique.

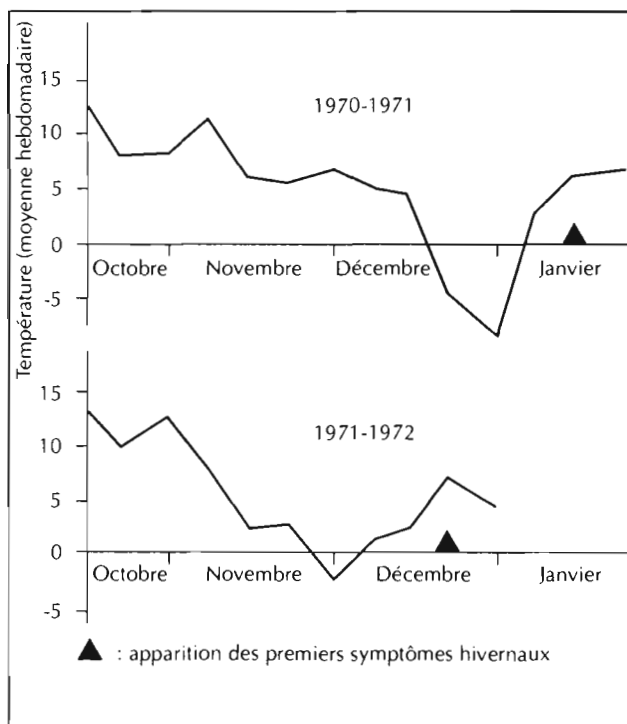


Figure 2. Relation entre l'évolution des températures et l'apparition des premiers symptômes hivernaux (S).

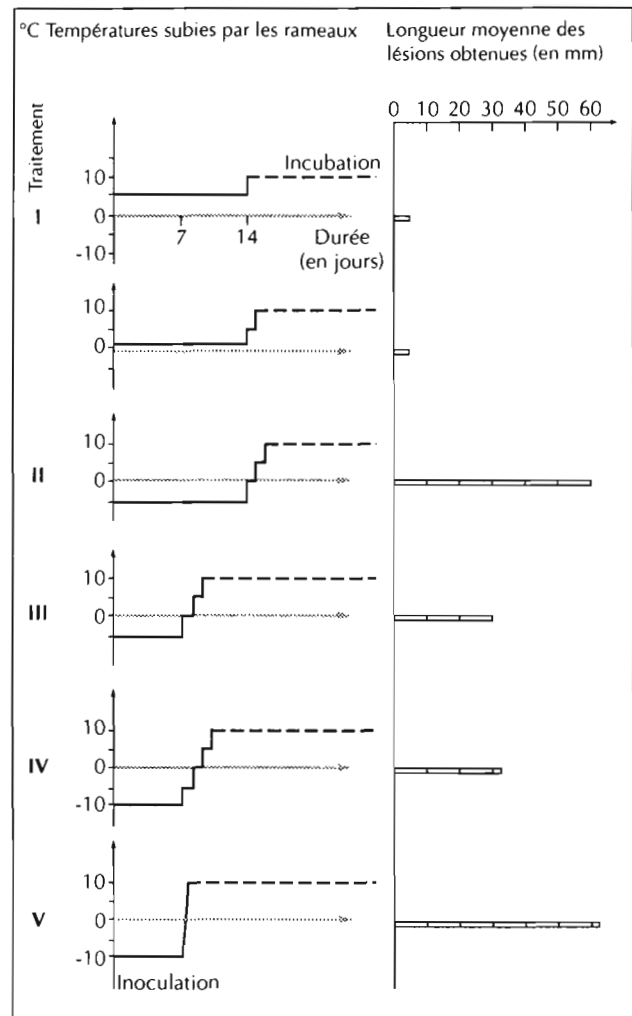


Figure 3. Influence des basses températures sur le développement de lésions bactériennes provoquées sur rameaux de pêcher excisés.

Pour des cas voisins, certains auteurs expliquent l'action des températures négatives par l'effet glaçogène des bactéries en cause (WEAVER *et al.*, 1981 ; LUISETTI et GAINARD, 1985). D'autres (KLÉMENT *et al.*, 1984) invoquent une consommation de sucres solubles par les bactéries, ce qui favoriserait le gel des tissus à potentiel osmotique diminué (SAKAÏ et YOSHIDA, 1968 ; LEVITT, 1980). La réussite d'inoculations réalisées juste avant l'action du froid nous permet de penser que ce type d'action des bactéries (consommation des sucres et diminution de la résistance au froid), s'il existe, doit être de portée très limitée.

Compte tenu de la gamme des températures efficaces, pour lesquelles le métabolisme des bactéries est pratiquement bloqué, on doit envisager une action s'exerçant plutôt sur l'hôte. Par exemple, la transformation d'amidon en glucose, qu'entraînent certainement les températures concernées, doit favoriser la multiplication des bactéries fortes consommatrices de ce sucre (DEAR, 1973).

**Tableau IV.** Effets de l'imbibition d'eau due au gel sur la diffusion d'encre noire et de bactéries dans l'écorce de troncs de pêchers et d'abricotiers.

| Matériel végétal                   | Indicateur de diffusion | Troncs non gelés                   |                        |                   | Troncs imbibés d'eau après le gel  |                        |                   |
|------------------------------------|-------------------------|------------------------------------|------------------------|-------------------|------------------------------------|------------------------|-------------------|
|                                    |                         | Longueur moyenne de diffusion (mm) | Ecart des valeurs (mm) | Nombre de mesures | Longueur moyenne de diffusion (mm) | Ecart des valeurs (mm) | Nombre de mesures |
| Pêcher âgé de 6 mois               | Encre noire             | 1.2                                | 1-2                    | 15                | 21.3                               | 7-25                   | 19                |
| Tiges de jeune pousse de pêcher    | Suspension bactérienne  | 1.5                                | 1-5                    | 8                 | 24.4                               | 15-35                  | 11                |
| Abricotier âgé de 6 mois           | Encre noire             | 1                                  | 1                      | 20                | 17.6                               | 8-22                   | 20                |
| Tiges de jeune pousse d'abricotier | Suspension bactérienne  | 1                                  | 1                      | 9                 | 22.5                               | 15-30                  | 10                |
| Pêcher dormant âgé de 1 an         | Encre noire             | 3                                  | 2-4                    | 38                | 11.5                               | 4-22                   | 36                |

Une observation au champ nous a cependant orientés vers une autre voie. L'aspect gelé, vitreux, que prennent les rameaux lors des périodes froides favorables à l'évolution des lésions bactériennes, et une étude bibliographique (SIMINOVITCH et SCARTH, 1938 ; GENEVÈS, 1955 ; LEVITT, 1980 ; ASHWORTH *et al.*, 1985) sur les phénomènes accompagnant le gel et le dégel de nombreux végétaux ligneux nous ont suggéré que pouvait se réaliser, au moment du dégel, un état d'infiltration hydrique des tissus, connu, dans d'autres circonstances (JOHNSON, 1945), pour assurer la pénétration et la diffusion de bactéries dans les tissus concernés.

Dans un premier temps, nous avons pu vérifier que l'écorce de semis d'un an de pêcher et d'abricotier, en cours de dégel, absorbait en quelques secondes une goutte de suspension de bactéries (ou de colorant) déposée à ce moment-là sur une piqûre ou toute autre blessure. Pratiquement en même temps, la suspension absorbée se diffusait largement (quelques millimètres à quelques centimètres) dans les tissus corticaux (tableau IV) (VIGOUROUX, 1989) ; ce qui constitue un mode de contamination *a priori* adapté puisque c'est à ce niveau que la bactérie en cause exerce sa pathogénèse.

En utilisant, dans un deuxième temps, des rameaux détachés acclimatés au froid et capables de supporter, sans être lésés, des températures de -10 °C, nous avons pu montrer que la seule diffusion de *Pseudomonas* dans l'écorce suffit, si l'on ajoute une incubation à +10 °C, pour provoquer une lésion identique à celles observées au verger en hiver. En outre, si le froid est appliqué alors qu'un inoculum est déjà introduit dans ces tissus, il y a diffusion de cet inoculum au moment du dégel qui suit les températures négatives. Ensuite, comme dans la situation

précédente, une incubation à température positive permet l'obtention d'une lésion. Rapporté à l'évolution de la maladie au verger, cela montre que des périodes de froid successives peuvent entraîner la progression d'infections en cours en assurant la diffusion des bactéries accumulées dans les tissus déjà infectés vers les tissus sains ; ce qui recoupe tout à fait les observations faites au champ, par exemple lors de périodes anticycloniques où alternent gel nocturne et net réchauffement diurne faisant suite à un bon ensoleillement.

## Interaction des facteurs climatiques et édaphiques

En cherchant à préciser les conditions et les mécanismes de diffusion des germes dans les tissus infiltrés d'eau (actuellement aucune explication connue), nous avons relevé divers facteurs susceptibles d'influencer fortement le phénomène. Par exemple, la durée d'action du gel, précédant le dégel et l'infiltration, intervient de façon proportionnelle. L'accumulation de glace dans les méats intercellulaires aux dépens des cellules étant très progressive, cette influence de la durée du gel apparaît assez logique.

Ce résultat suggère l'importance de la quantité de glace accumulée, mais d'autres observations vont dans le même sens en impliquant l'importance de la teneur en eau des végétaux au moment du gel. Au verger, on note une sensibilité des plants ou des organes vigoureux peu lignifiés, plus aqueux ou de plants installés dans des zones humides en hiver. Au laboratoire, on remarque une plus grande diffusion

des colorants obtenue avec des rameaux récoltés après une pluie. Or, on peut penser que des tissus plus aqueux susceptibles de libérer plus d'eau permettront une plus grande accumulation de glace dans leurs méats intercellulaires.

Toute une série d'expérimentations, menées aussi bien sur des rameaux excisés (plus ou moins hydratés) que sur des plants entiers cultivés en conteneur (pour modifier aisément leur teneur en eau en hiver), a permis de confirmer qu'une teneur en eau supérieure assurait une diffusion plus large de colorants et des infections plus étendues pour les essais ayant mis en jeu une suspension de germes (tableaux V et VI) (VIGOUROUX, 1991, 1993).

Ce résultat a des conséquences importantes car il implique que tout ce qui peut augmenter la teneur en eau des arbres pourra indirectement augmenter les possibilités de développement des infections et donc prédisposer les arbres. Ainsi, outre le fait qu'elles peuvent hydrater directement les parties aériennes, les pluies vont augmenter la disponibilité de l'eau dans le sol (diminuer la tension mesurable par un tensiomètre) et permettre une alimentation en eau des arbres plus facile ; ce qui est d'autant plus efficace que les racines sont, en hiver, peu actives à cause de la basse température du sol.

En outre, nous avons constaté qu'en hiver, la teneur en eau des pêchers cultivés sur terrains à texture grossière (type diluvium) est nettement supérieure à celle

de pêchers cultivés sur sols à texture plus fine, type limon ou limon sableux. Les écarts observés (1 à 2 %) sont de l'ordre de ceux provoquant des accroissements nets des infections dans le cadre des expérimentations antérieures sur des matériels plus ou moins hydratés. Ainsi, outre l'induction d'un stress hydrique d'été et d'une déficience de la nutrition calcique, la texture grossière des sols semble aussi intervenir sur la prédisposition des arbres en entraînant un accroissement notable de leur teneur en eau en hiver (VIGOUROUX et BUSSI, 1994).

## Perspectives et conclusion

Ces divers résultats ouvrent plusieurs voies dans la recherche de la connaissance de cette maladie et des moyens de lutte, ainsi que pour des maladies similaires. Expliquer les causes des différences de teneur en eau des arbres selon les sols doit permettre de mettre en évidence des informations peut-être insoupçonnées sur le fonctionnement hydrique des arbres en hiver. Le potentiel de l'eau et l'oxygénation de la solution du sol nous paraissent des pistes intéressantes à explorer. En même temps, on peut espérer y trouver des moyens d'intervention, de prévention, ou au moins de prévision des risques.

Les mécanismes de la diffusion des germes durant l'infiltration hydrique apparaissent difficiles à étudier,

**Tableau V.** Influence de la teneur en eau hivernale de rameaux détachés de pêcher sur la diffusion de colorant et des infections bactériennes provoquées.

| Traitement des rameaux | Pourcentage d'eau pour 30 rameaux (MF) | Diffusion de colorant pour 32 rameaux (mm) | Lésions bactériennes pour 32 rameaux (mm) |
|------------------------|--|--|---|
| Frais                  | 53,3                                   | 4,4  | 11,5                                      |
| Déshydratés            | 52,0<br>ppds = 0,69                    | 3,0<br>P < 0,001                           | 5,2<br>P < 0,001                          |

**Tableau VI.** Influence d'une réduction de la teneur en eau hivernale de pêchers cultivés en conteneur (couverts ou non en hiver) sur le développement d'infections bactériennes provoquées.

| Mode de culture des arbres | Année 1993<br>6 paires d'arbres par traitement |   | Année 1994<br>11 arbres par traitement |   |
|----------------------------|--|---|--|---|
|                            | Pourcentage d'eau fin février                  | Lésions (mm) (6 inoculations par arbre) | Pourcentage d'eau fin février          | Lésions (mm) (7 inoculations par arbre) |
| Conteneur libre            | 52,6   | 9,1                                     | 57,2                                   | 31,4                                    |
| Conteneur couvert          | 51,9<br>P < 0,025                              | 8,0<br>P < 0,025                        | 55,9<br>P < 0,025                      | 21,4<br>P < 0,025                       |
|                            | r = 0,698                                      |   | r = 0,645                              |   |

en particulier compte tenu du caractère éphémère et fragile du phénomène, interdisant toute approche directe. Des forces de tension superficielle sont certainement impliquées, de même que des variations de perméabilité membranaire. Potassium et calcium — cités plus haut — doivent avoir un rôle, ou des rôles, dans ces changements d'état et ces transferts d'eau. En particulier, le potassium est connu pour intervenir dans les échanges hydriques sur le plan tissulaire comme pour la plante entière (SALSAC, 1977). Les mouvements d'eau à l'origine de la congestion hydrique des tissus sont donc certainement « potassium-dépendants ». Le calcium est un facteur important de la perméabilité membranaire, y compris en ce qui concerne le passage de l'eau, (MARINOS, 1962 ; SIMON, 1978). C'est aussi un constituant et même un élément stabilisant de la lamelle moyenne des cellules et du gel qui sert de ciment intercellulaire (GOOR, 1968 ; FULLER, 1976). En culture *in vitro*, des carences en calcium peuvent induire spontanément des états vitreux des tissus des cals.

On peut enfin souligner la remarquable combinaison de facteurs interférant entre eux mais aussi intervenant chacun selon plusieurs modalités, aboutissant ainsi à composer un système susceptible de générer, selon les années ou les localisations, différents degrés de maladie ; ce qui peut aboutir aux manifestations sporadiques, erratiques qui caractérisent fortement beaucoup de bactérioses et spécialement celles des arbres fruitiers.

## Références bibliographiques

- ASHWORTH E.N., ANDERSON J.A., DAVIS G.A., LIGHTNER G.W., 1985. Ice formation in *Prunus persica* under field conditions. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 110 : 322-324.
- BANGERTH B., 1979. Calcium-related physiological disorders of plants. *Ann. Rev. Phytopathol.* 17 : 97-112.
- BIER J.E., 1964. The relation of some bark factors to canker susceptibility. *Symposium on cankers of forest trees. Phytopathology* 54 : 250-253.
- DEAR J., 1973. A rapid degradation of starch at hardening temperatures. *Cryobiology* 10 : 78-81.
- EPSTEIN E., 1972. Mineral nutrition of plants : principles and perspectives. JOHN WILEY and Sons, New York, Etats-Unis, 412 p.
- FULLER M.M., 1976. The ultrastructure of the outer tissues of cold-stored apple fruits of high and low content in calcium in relation to cell breakdown. *Ann. Appl. Biol.* 83 : 299-304.
- GENEVÈS L., 1955. Recherches sur les effets cytologiques du froid. *Rev. Cytol. Biol. Veg.* XVI (1-2) : 1-207.
- GOOR VAN B.J., 1968. The role of calcium and cell permeability in the disease blossom-end rot of tomatoes. *Physiol. Plant.* 21 : 110-112.
- HUDSON J.P., 1958. General effect of potassium on the water economy of plants. *In Potassium Symposium. Institut international de la potasse, Berne, Suisse,* p. 95-108.
- JOHNSON J., 1945. Infection experiments with detached water-congested leaves. *Phytopathology* 35 : 1017-1028.
- KLÉMENT Z., ROZSNYAY D.-S., BALO E., PANCZEL M., PRILESZKI G.Y., 1984. The effect of cold on development of bacterial canker in apricot trees. *Physiol. Pl. Path.* 24 : 237-246.
- LEVITT J., 1980. Response of plants to environmental stresses. T.I. Academic Press, New York, Etats-Unis.
- LUISETTI J., GAINARD J.-L., 1985. Les bactéries glaço-gènes et les gelées de printemps. *In comptes rendus 5<sup>e</sup> colloque Recherches fruitières, 13-14 novembre 1985, Bordeaux, France, CTIFL, Pont-de-la-Maye, France,* p. 67-73.
- MARINOS N.G., 1962. Studies on submicroscopic aspects of mineral deficiencies. I. Calcium deficiency in the shoot apex of barley. *Amer. J. Bot.* 49 : 834-841.
- SAKAI A., YOSHIDA S., 1968. The role of sugar and related compounds in variations of freezing resistance. *Cryobiology* 5 : 160-174.
- SALSAC L., 1977. Le potassium dans le végétal : localisation cytologique, absorption et transport, rôle physiologique. *In Compte rendu du colloque sur le potassium dans ses rapports avec la vigne et le vin, 4 mars 1977, Montpellier, France,* 11 p.
- SCHOENWEISS D.F., 1981. The role of environmental stress in disease of woody plants. *Plant Dis.* 64 : 308-314.
- SIMINOVITCH D., SCARTH G.W., 1938. A study of the mechanism of frost injury to plants. *Can. J. Res.* 16 (c) : 467-481.
- SIMON E.W., 1978. The symptoms of calcium deficiency in plants. *New Phytol.* 80 : 1-15.
- STEBBINS R.L., DEWEY D.H., 1972. Role of transpiration and phloem transport in accumulation of <sup>45</sup>Ca in leaves of young apple tree. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 97 : 471-474.
- VIGOUROUX A., BERGER J.-F., BUSSI C., 1987. La sensibilité du pêcher au dépérissement bactérien en France : incidence de certaines caractéristiques du sol et de l'irrigation. Relations avec la nutrition. *Agronomie* 7 : 483-495.

VIGOUROUX A., 1989. Ingress and spread of *Pseudomonas* in stems of Peach and Apricot promoted by frost-related water-soaking of tissues. *Plant Dis.* 73 : 854-855.

VIGOUROUX A., 1991. Influence du froid et de la teneur en eau sur la prédisposition des tiges de pêchers aux infections à certains *Pseudomonas*. In *L'arbre, Naturalia Monspeliensia*, numéro hors série, Claude EDELIN (édit.), p. 539-545.

VIGOUROUX A., 1993. La teneur en eau hivernale des tiges, facteur d'installation et de développement des bactérioses à *Pseudomonas* des arbres fruitiers à noyau. Com. 3<sup>e</sup> Cong. Nation. Soc. Fr. Phytopathologie, 6-10 décembre 1993, Dijon, France, 1 p.

VIGOUROUX A., BUSSI C., 1989. Importance of water consumption on calcium content and protection of peaches predisposed to bacterial dieback by growing in acid soils. *Acta. hort.* 254 : 291-296.

VIGOUROUX A., BUSSI C., 1994. Une action possible des sols sur la prédisposition des pêchers au dépérissement bactérien par modification de la teneur en eau hivernale des tiges. *Agronomie* 14 : 319-326.

WEAVER D.J., GONZALEZ C.-F. ENGLISH H., 1981. Ice nucleation by *Pseudomonas syringae* associated with canker production in peach. *Phytopathology* 71 : 109.

---

## Discussion

### Explication du développement épidémiologique des maladies bactériennes

En été, les germes connaissent une période de vie épiphyte non pathogène à la surface des feuilles. En automne, ces feuilles emportées par le vent disséminent la maladie. En hiver, lors de périodes de gel-dégel, dans les tissus corticaux des tiges, s'établit un état d'infiltration hydrique, ce qui induit la pénétration des bactéries en suspension dans la pellicule d'eau présente à la surface des organes (pluie, rosée), et cela est possible par n'importe quelle blessure. La pénétration semble associée à des phénomènes de tension superficielle, possibles grâce à la présence préalable d'eau dans les méats intercellulaires (reliquat de fonte de glace). Le phénomène de prise en glace de l'eau, sortie des cellules vers les méats intercellulaires lors du gel, n'est qu'une adaptation

naturelle au froid : les cellules sont plus résistantes au froid lorsque le cytoplasme se concentre par élimination d'eau et la formation de glace absorbe du froid.

Les cycles gel-dégel successifs favorisent la progression de la bactérie à l'intérieur des tissus puisque, à chaque phase, selon le même processus décrit ci-dessus, les bactéries accumulées dans les zones déjà infectées vont diffuser vers les parties saines.

L'évolution des lésions est très rapide au cours de l'hiver. Dans les tissus peu lignifiés et très aqueux, la diffusion est meilleure.

Il existe un *Xanthomonas* sur feuilles de pêcher qui se manifeste sous forme de taches au printemps après des périodes d'hygrométrie saturante (brouillard), qui favorisent elles aussi une infiltration hydrique des feuilles et une pénétration, à ce moment-là, des bactéries épiphytes.

Les bactérioses observées sur les différentes espèces de fruits à noyau correspondent à différents pathovars de *Pseudomonas syringae*.

### Variétés résistantes à la maladie

Il existe des variétés plus ou moins sensibles. De plus, il est connu que l'importance de l'infiltration hydrique est héritable pour certaines espèces végétales (tomate, maïs). Peut-être est-ce le cas pour le pêcher et la moindre sensibilité serait peut-être due à une moindre aptitude à l'infiltration. Il y aurait alors un critère de sélection possible.

### Origine de l'aspect vitreux des tissus

Il existe deux causes bien distinctes :

- un aspect vitreux, éphémère au moment du gel et du dégel par suite de la présence de glace ou d'eau (glace fondante au dégel) dans les méats intercellulaires, phénomène donc tout à fait naturel ;
- un autre type d'aspect vitreux, durable et lié à l'infection bactérienne après que les bactéries accumulées dans les tissus (en fait dans les méats intercellulaires) aient altéré la perméabilité des membranes cellulaires au point que l'eau des cellules sorte librement vers les méats cellulaires et y reste.

On peut penser qu'une carence en calcium favorise ces divers déplacements d'eau extracellulaires car le calcium est connu pour diminuer la perméabilité membranaire.

En culture *in vitro*, l'apparition spontanée d'aspect vitreux a été observée en cas de carence en calcium du milieu de culture.





# Les relations insectes-plantes vues sous l'angle de la physiologie végétale sur l'exemple de la pyrale du maïs

F. FERRON

INRA, département de physiologie végétale, laboratoire ENSAM-INRA, écophysiologie des plantes sous stress environnementaux, 2 place Viala, 34060 Montpellier Cedex 1, France.

## Problématique

La visite de la feuille par l'insecte est vue comme source de variations de son environnement dans la couche limite, pouvant induire un « stress biotique environnemental ». La nature de la réponse métabolique de la plante à ce type de stress a constitué un autre volet de l'étude menée jusqu'ici sur les ajustements du métabolisme foliaire primaire face à un environnement variable, lors de mon détachement à la station de recherche de zoologie de Versailles (de mai 1990 à octobre 1993).

Dans le cadre de l'étude du choix du site de ponte d'un insecte phytophage généraliste, la biochimie de la surface foliaire (phylloplan) représente un facteur important du déterminisme de ponte au contact de la feuille. Les phénomènes suivants sont démontrés :

- une corrélation étroite entre certains glucides, acides aminés, amines foliaires et le choix de l'insecte ;
- une concordance, dans l'apoplaste, entre la localisation de la microflore épiphyte et certains assimilats ;
- une modification biochimique du phylloplan, liée probablement au développement de la microflore épiphyte et au comportement de l'insecte, pour lequel la concentration moléculaire du phylloplan peut induire une transition de l'effet attractif à l'effet répulsif.

Dans la recherche du déterminisme de la variabilité biochimique du phylloplan, l'accent a été porté sur d'éventuelles déviations dans les flux d'assimilation,

pouvant être à l'origine d'une intensification de leurs transferts en surface sous l'effet de l'implantation de l'insecte pour pondre.

## Aspect conceptuel

La sélection du site de ponte d'un lépidoptère polyphage au contact de la plante est abordée pour ce qui est de l'éthologie et de la physiologie sensorielle pour l'insecte et en ce qui concerne l'histochimie et la biochimie du phylloplan pour la plante. L'étude préliminaire qui suit constitue l'approche physiologique de la feuille entière dans les relations insectes-plantes.

Les relations explicites du végétal dans la biologie des interactions plante-ravageur-auxiliaire sont soumises à l'hypothèse suivante : parmi les facteurs de variabilité de la biochimie du phylloplan (nombreux et complexes), l'état moléculaire de ce dernier est supposé exprimer la réponse métabolique de la feuille au toucher de la surface par l'insecte. Cette réponse induite par le toucher, ou stimulus mécanique, expliquerait non pas l'attractivité du phylloplan pour l'insecte mais l'implantation de ce dernier pour pondre, après atterrissage sur la surface foliaire suivi d'un balayage de celle-ci par l'ovipositeur. Son expression dépend des capacités génétiques de résistance de la plante à toute perturbation de son environnement, au niveau de la couche limite.

La définition de l'impact du ravageur sur le métabolisme foliaire, tel qu'il se révèle dans la biochimie du phylloplan, est donc fondée sur les concepts suivants :

- la corrélation entre la variabilité biochimique du phylloplan et la faculté génétique d'ajustement du métabolisme foliaire à un environnement variable ;
- l'analogie entre la relation plante-insecte dans la discrimination biochimique de son site de ponte et la relation source-puits dans la distribution des assimilats primaires.

C'est pourquoi, il est envisagé de mesurer, à l'aide d'une méthode radio-isotopique rapide et simple, globale et comparative, le transport d'assimilats extraits de feuilles, soit sensibles à l'insecte mais placées dans des conditions variées envers celui-ci, soit connues pour une résistance différente à l'égard du comportement de ponte du ravageur. Les données succinctes de la bibliographie — notamment les résultats de M.-O. DESBIEZ au sein du laboratoire communication intercellulaire et intracellulaire de l'université de Clermont-Ferrand (France) et ceux du professeur M. THELLIER au sein du laboratoire physiologie cellulaire, signaux et régulation, de l'université de Rouen (France) — permettent d'établir un schéma explicatif des effets métaboliques du toucher de la surface foliaire et d'y inclure le fait à démontrer, c'est-à-dire la possibilité de déviations rapides du métabolisme primaire parmi les réactions de défense du végétal dans les relations plantes-ravageurs (figure 1). Ces déviations se répercuteraient dans la régulation des flux d'assimilats sous forme d'un ajustement entre deux effets contradictoires du « toucher » de la surface foliaire par le ravageur. Or, des modifications dans le passage d'assimilats des tissus foliaires en surface peuvent avoir un effet dissuasif sur l'implantation de l'insecte sur le phylloplan notamment en faisant varier la concentration en glucides.

## Aspect expérimental

### Principe de base du protocole

Le but des expériences est de donner une interprétation métabolique de la variabilité biochimique du phylloplan, qui détermine le choix du site de ponte par l'insecte. Ce choix se traduirait par une rupture d'équilibre de la « balance source-puits », à l'origine des « appels moléculaires » de métabolites primaires vers le phylloplan : si la source de ces molécules se situe normalement dans les sites de biosynthèse chlorophylliens, leur puits d'utilisation est représenté par le site de ponte de l'insecte, sans exclure le site d'implantation de la microflore épiphyte.

À l'aide de la méthode radio-isotopique d'incorporation de  $^{14}\text{C}$ -saccharose dans les voies de transport de la feuille excisée, le fondement de ces points de vue est testé dans les conditions de source constante (définition d'une feuille déterminée) et de puits variable (recherche d'un site de ponte par l'insecte). Dans l'étude cinétique des variations de flux d'assimilats extraits des tissus foliaires, la variabilité du puits, dont dépend le choix du site de ponte, correspond à la variabilité de composition biochimique du phylloplan.

Ce protocole est appliqué sur disques foliaires prélevés à la nervure principale et à proximité du dépôt d'ooïdes pour les feuilles visitées ; le matériel végétal est ensuite incubé en milieu réactionnel, défini pour la mesure, par dilution radio-isotopique du transport d'assimilats sous forme de saccharose.

## Résultats préliminaires

Nous avons évalué, d'une part, la méthode utilisée pour mesurer le transport d'assimilats dans un disque foliaire, d'autre part, l'effet éventuel sur ce phénomène de l'enceinte qui permet d'assurer la présence de l'insecte dans l'environnement de la feuille expérimentée. Ensuite, nous avons réalisé une première approche de la question posée : la mobilisation du saccharose, mesurée par une méthode de dilution isotopique dans les feuilles à l'aisselle de l'épi principal d'une variété de maïs sensible à la pyrale (*Zea mais* variété Déa), est plus intense en présence (E) qu'en absence (T) du ravageur.

Ce fait doit conduire à définir la part du métabolisme primaire foliaire dans l'enrichissement du phylloplan en composés bioréactifs sur la discrimination biochimique du substrat de ponte par l'insecte (valeur du rapport  $E / T = 1,56$ ).

## Perspectives

Elles s'appliquent à deux domaines.

### La définition d'un test métabolique du comportement de la plante à l'égard du ravageur

Il s'agit de la recherche de modifications inductibles dans le transport d'assimilats foliaires suite à l'atterrissage de l'insecte sur le phylloplan, puis au dépôt d'ooïdes ; comparaison entre une feuille non visitée (témoin T) et une feuille visitée (essai E)

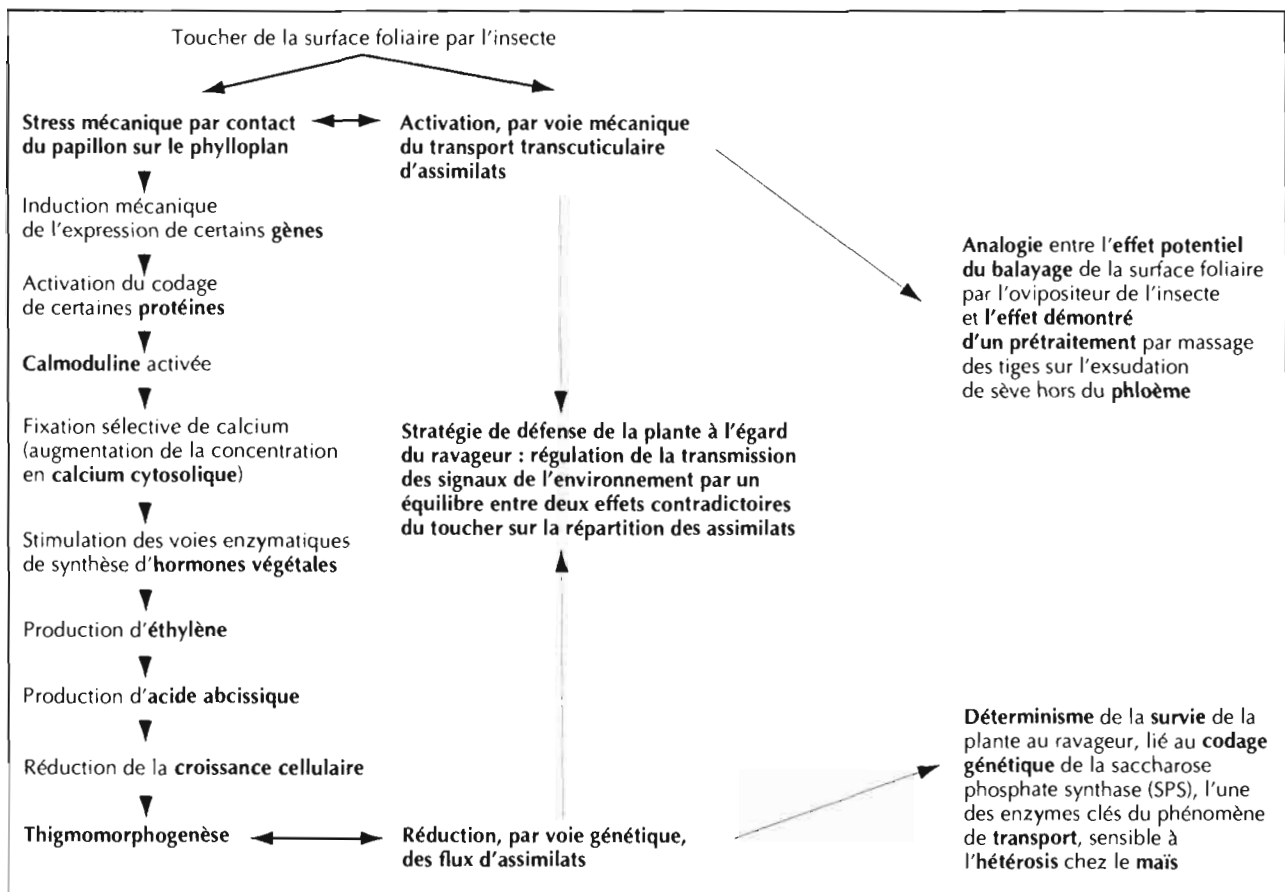


Figure 1. Schéma explicatif de la relation insecte-plante au niveau du contact phylloplan-papillon (hypothèse de travail).

prélevées sur la même espèce végétale sensible au ravageur (exemple : *Zea maïs* variété Déa).

Pour la définition de ce test, le choix de la durée d'incubation des feuilles, dans le milieu réactionnel, la plus courte et la plus significative, sera fait à la suite d'une étude cinétique du transport des flux : par exemple, 6 mn, 16 mn, 1 h, 2 h, 3 h après l'incorporation de <sup>14</sup>C-saccharose.

## L'application de ce test

Ce test doit être ensuite appliqué à la recherche d'une caractérisation, sur le plan métabolique foliaire, de la résistance à la pyrale, après avoir vérifié l'interprétation donnée pour l'origine de l'afflux glucidique attractif à l'égard de l'insecte en surface de la feuille.

On doit établir la comparaison entre deux feuilles visitées par l'insecte, mais provenant de deux variétés de maïs à sensibilité génétiquement différente à l'égard du ravageur (comparaison entre deux hybrides tels que D10 sensible à la pyrale et D14 résistant). D'après D. LECHARNY (CNRS, Orsay, comm. pers.), l'activité de la saccharose-phosphate-synthase

est sensible à l'hétérosis en ce qui concerne le maïs. Ce fait semble bien signifier une relation (à démontrer) entre les modulations dans le transport des flux d'assimilation d'une part, et les degrés de résistance à la pyrale génétiquement définis entre hybrides de maïs, d'autre part.

Ainsi, les résultats concernant l'impact du caractère de sensibilité au ravageur sur la distribution des assimilats primaires doivent permettre de savoir comment la plante corrige son métabolisme face aux variations de son environnement, induites par un paramètre biologique, le toucher du phylloplan par l'insecte dans l'étude présente. Cette correction du transport des assimilats s'ajouterait à celles mises en évidence pour la part relative des voies de biosynthèse dans l'accumulation du composé énergétique final. Elle traduit une autre forme d'aptitude du végétal à instaurer une régulation dans les communications intercellulaires et intracellulaires, au même titre que le rôle clé de certains oligo-saccharides en tant que molécules signaux ou éliciteurs du mécanisme de défense des végétaux. Il s'agit là de projets soumis à la suite d'expériences préliminaires — leur réalisation n'est pas envisageable actuellement, en raison de mon affectation à Montpellier.

---

## Discussion

### **Sur quels faits repose le schéma explicatif de la relation plante-insecte pour le phylloplan-papillon ?**

Il est issu d'une recherche bibliographique sur la sensibilité des plantes : les plantes ont le sens du toucher. Lorsque la pyrale atterrit sur la feuille et recherche un site de ponte avec l'ovipositeur, il y a modification de l'environnement immédiat de la plante. Cela se traduit pour le végétal par une réception d'informations, même en l'absence d'une modification de structure de la surface foliaire.

D'après la littérature, il y a démonstration d'un sens du toucher du végétal. D'après les faits expérimentaux antérieurs sur les déviations métaboliques et ces résultats préliminaires (exposés ici), une analogie est établie entre le comportement de la plante en réponse au toucher et ses réactions de défense induites par un stress de type mécanique. Par exemple, l'effet du vent se traduit par une diminution de la croissance comme s'il y avait induction de stress.

### **La modification des flux de glucides en surface a-t-elle un effet sur l'alimentation des larves ?**

Non, car la pyrale pond sans assurer la nourriture de la descendance.

### **Y a-t-il spécificité de la plante ?**

Non, car la pyrale est un ravageur généraliste.

### **Les déviations métaboliques dans les relations source-puits ont-elles un impact sur la productivité de la plante ?**

L'étude phénologique est à faire. *A priori*, les stades juvéniles et de fructification sont les stades de développement plus sensibles à l'agresseur, dans la mesure où ils représentent des états de crise métabolique.

### **Une question méthodologique se pose pour l'étude de la résistance variétale des plantes**

Etant donné le sens du toucher des plantes, on peut créer des artefacts. Tout tient dans la définition du témoin.

# Informations biochimiques présentes à la surface des feuilles. Implications dans la sélection de la plante hôte par un insecte

S. DERRIDJ, B.R. WU

INRA, unité de phytopharmacie et des médiateurs chimiques, 78026 Versailles Cedex, France.

Au cours de la sélection de la plante hôte par un insecte, une partie des événements comportementaux — qui mènent, soit à la prise de nourriture soit au dépôt de ponte — a lieu sur la surface des feuilles. Lorsque l'insecte se déplace sur la surface de la feuille, il se trouve en contact avec un grand nombre de stimuli, d'ordre visuel, tactile, olfactif et gustatif. En ce qui concerne les stimuli gustatifs, ils sont essentiellement d'ordre biochimique. Ils peuvent être d'origine exogène (poussières, pollens, miellats d'insectes, produits excrétés par les micro-organismes, substances polluantes de l'atmosphère) et endogène tels que les composés des cires cuticulaires, et les métabolites primaires et secondaires provenant des tissus de la plante. Ceux-ci peuvent à leur tour être métabolisés par les micro-organismes épiphytes. Ces substances sont plus ou moins imbriquées dans les cires et leur détection par l'insecte va dépendre de son comportement, des parties de son corps (pattes, pièces buccales, ovipositeur) en contact avec la surface foliaire, et des sensilles gustatives (type, nombre, localisation) concernées dans la reconnaissance du site.

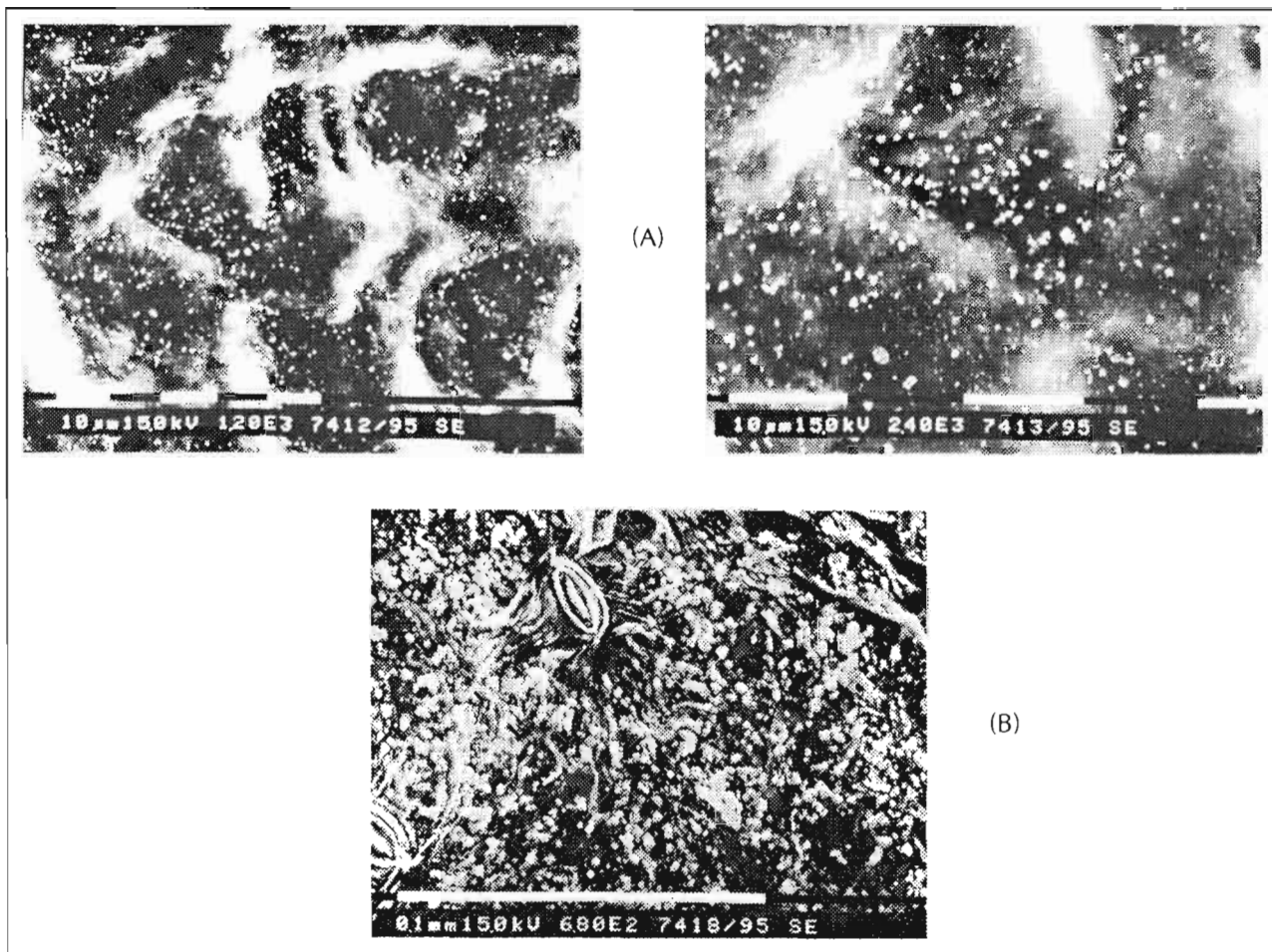
Nous ferons le point sur nos connaissances concernant les métabolites primaires et certains cations. Leur nature, leur signification et le type d'information qu'ils peuvent donner seront présentés. Puis, nous aborderons le rôle de ces métabolites dans la sélection du site de ponte d'un insecte avec, en exemple, un insecte qui n'a aucun contact avec les tissus de la feuille avant de déposer ses œufs : la pyrale du maïs *Ostrinia nubilalis* Hbn. (lépidoptère, *pyralidae*).

## Les métabolites primaires à la surface des feuilles et leur signification

### Présence et récupération des substances

Les sucres ont pu être localisés — en microscopie électronique à balayage associée à la micro-analyse par spectrométrie des rayonnements X — à la surface des feuilles de plusieurs espèces végétales. Leur dispersion est plus ou moins homogène et leur micro-localisation peut également varier avec l'espèce (figure 1). Sur les feuilles de maïs, dans les endroits où l'on observe des monosaccharides, ceux-ci sont localisés en majorité dans les zones anticlinales des cellules de l'épiderme, ils apparaissent plus clairsemés au-dessus des cellules. A l'occasion de la visualisation des sucres, un grand nombre d'ions minéraux tels que le potassium, le chlorure, le magnésium, le sodium et le calcium ont été observés à la surface des feuilles de toutes les espèces végétales.

La collecte des substances peut être faite par pulvérisations des faces foliaires sur un plan incliné, avec de l'eau ultra pure, un temps très court et une pression faible (25 ml en 30 s). Par cette méthode, ne sont récupérées que les substances très superficielles, en excluant les phénomènes de *leaching* (induction de sortie des substances par la présence d'eau). Les



**Figure 1.** Caractérisation de monosaccharides, par microscopie électronique à balayage associée à la microanalyse par spectrométrie des rayonnements X, à la surface des feuilles de laurier cerise (*Prunus laurocerasus* L.) et de laitue (*Chicorium endiva* L).

collectes sont faites deux heures avant le coucher du soleil lorsqu'il s'agit d'expliquer le comportement de la pyrale du maïs (*O. nubilalis*).

Par cette méthode, ont été récupérés les sucres libres tels que le fructose, le glucose, le saccharose, les acides aminés libres et des acides organiques (tableau I, figures 2 et 3).

Pour extraire ces substances imbriquées également dans les cires, il est nécessaire d'utiliser alors des solvants organiques comme le chloroforme. Les quantités et les proportions des substances extraites dépendent de la nature du solvant et du temps d'extraction utilisé (figures 4 et 5).

### Sources de variations

Les quantités de substances collectées à la surface des feuilles peuvent varier avec l'heure de la journée. Pour la salade par exemple, les taux de sucres augmentent à partir de 9 h pour atteindre un maximum vers 13 h, puis diminuent progressivement jusqu'au lendemain matin (figure 6).

**Tableau I.** Glucides et composés ninhydrine-positifs déterminés dans les lessivats obtenus à partir de la feuille de l'épi de maïs et de la plus jeune feuille adulte de tournesol.

| Composés                            | Dosage des composés en mmol./m <sup>2</sup> |             |
|-------------------------------------|---|-------------|
|                                     | Maïs  | Tournesol   |
| <b>Glucides</b>                     |   |             |
| Saccharose                          | 2,09 (0,8)                                  | 4,44 (0,92) |
| Glucose                             | 1,08 (0,64)                                 | 2,14 (1,04) |
| Fructose                            | 0,82 (0,98)                                 | 3,43 (1,03) |
| <b>Composés ninhydrine-positifs</b> |   |             |
| Acides aminés                       | 3,45 (1,65)                                 | 6,16 (2,14) |
| Inconnus                            | 0,41 (0,17)                                 | 0,30 (0,10) |
| Urée                                | 13,2 (9,20)                                 | 10,1 (3,41) |
| Ammoniac                            | 0,26 (0,33)                                 | 1,57 (1,94) |

Chaque résultat est la moyenne de 14 déterminations effectuées au cours de 4 expériences indépendantes. Les cultivars étaient Frankasol et Vérafleur pour le tournesol et Déa, LG11 et AXF pour le maïs. Les nombres entre parenthèses représentent l'écart-type de la moyenne.

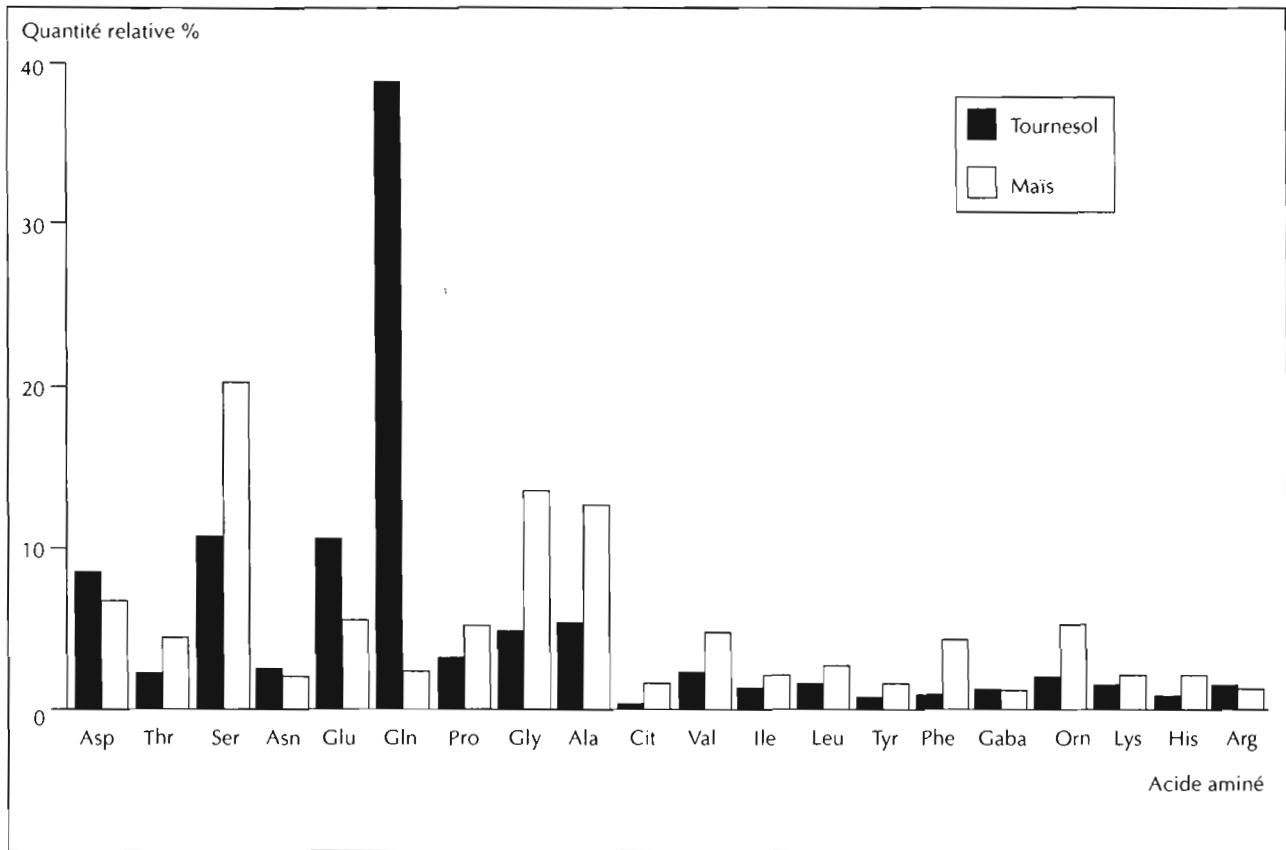


Figure 2. Composition relative en acides aminés des lessivats de feuilles de maïs et de tournesol.

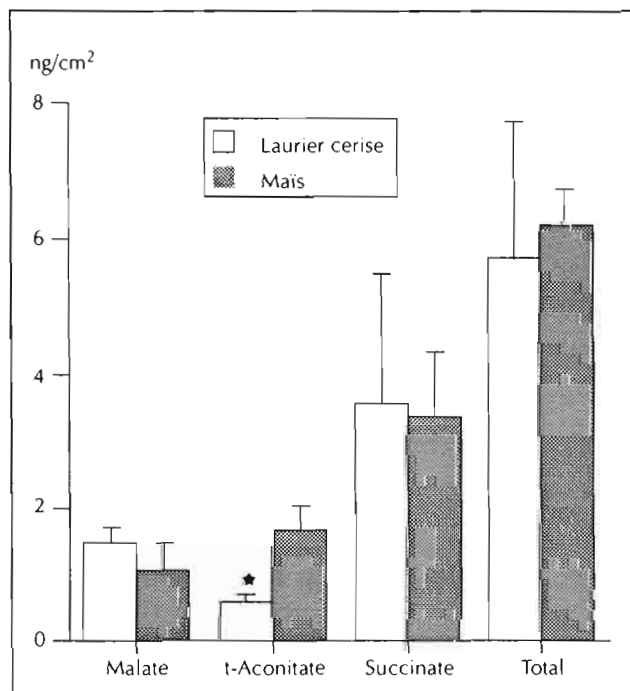


Figure 3. Quantités des différents acides organiques collectés à la surface des feuilles de laurier cerise (*P. laurocerasus* L.) et de maïs (*Z. mays* L.).

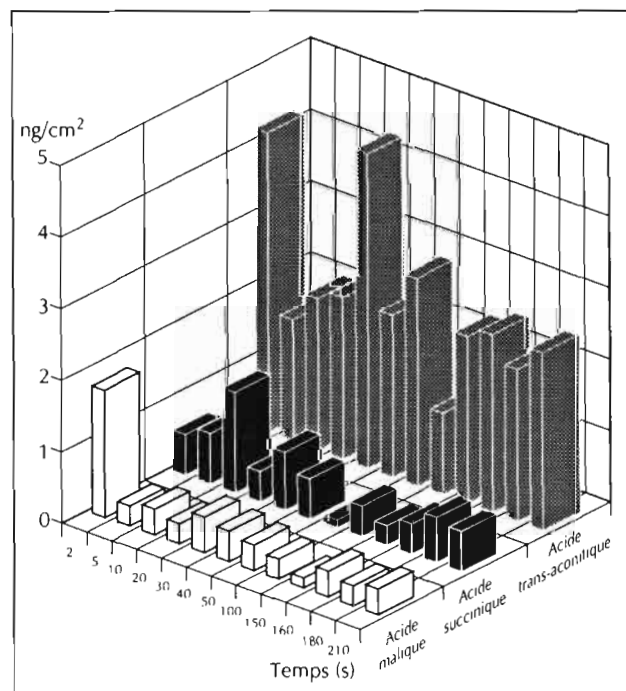


Figure 4. Evolution en fonction du temps des quantités des différents amino-acides extraits sur la cuticule de la feuille de maïs.



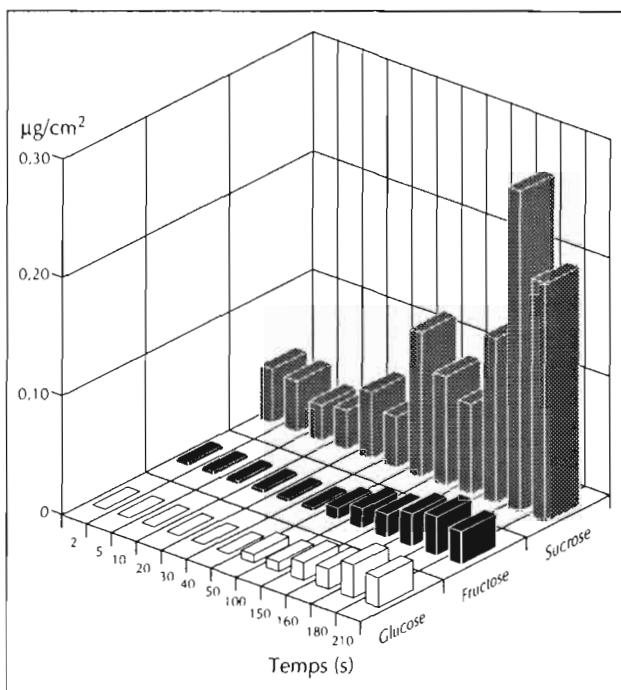


Figure 5. Evolution en fonction du temps des sucres extraits sur la cuticule de la feuille de maïs.

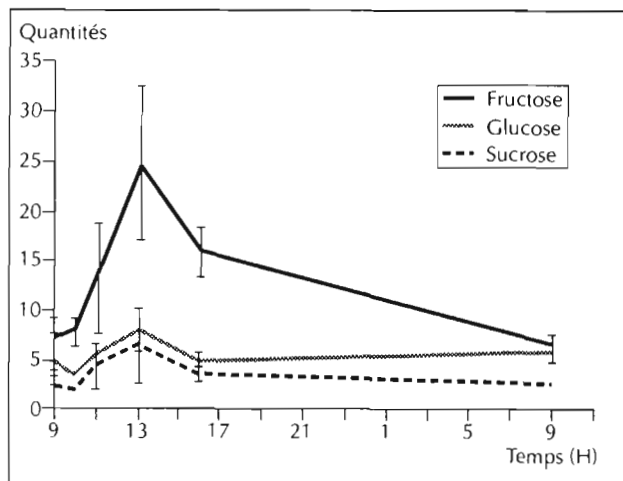


Figure 6. Quantités de carbohydrates collectés à la face supérieure des feuilles de laitue (*Chicorium endiva* L.) pendant 24 heures.

Ces variations sont plus ou moins importantes selon l'espèce végétale. Elles sont plus faibles sur les feuilles de maïs. Ces variations semblent évoluer avec la photosynthèse. Cela est long à démontrer car il faut tenir compte de la composition apoplastique qui varie au cours du temps, des transports à longue distance des métabolites et des phénomènes d'échanges des molécules entre la surface foliaire et le compartiment apoplastique. Quelques expériences

préliminaires ont été faites dans le but de définir le lien entre la présence des sucres à la surface des feuilles et la photosynthèse. Il s'agit de faire fixer à la plante lorsque la photosynthèse est stable, du  $^{13}\text{C}$  issu de  $\text{CO}_2$  marqué à 90 % et de suivre l'augmentation des proportions de sucres marqués par rapport aux non marqués ( $^{12}\text{C}$ ). L'observation est faite dans la cellule, dans l'apoplaste et à la surface de la feuille, 3, 6, 5 et 9 h après la fin de la période de fixation

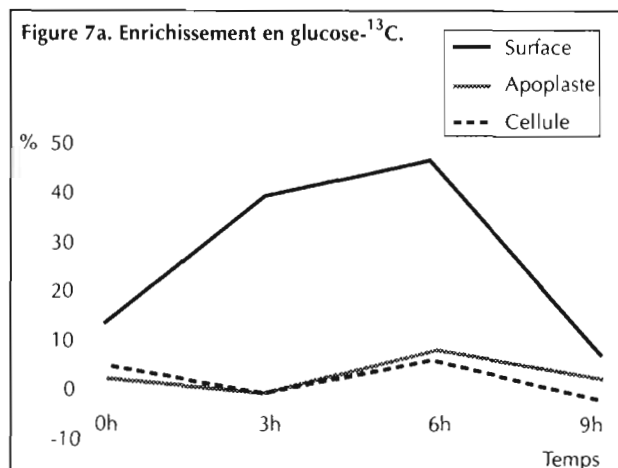


Figure 7a. Enrichissement en glucose- $^{13}\text{C}$ .

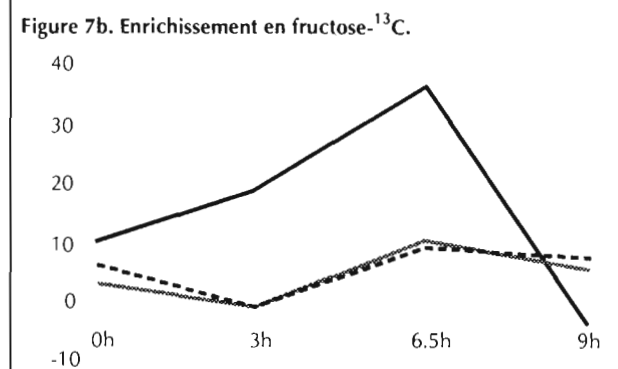


Figure 7b. Enrichissement en fructose- $^{13}\text{C}$ .

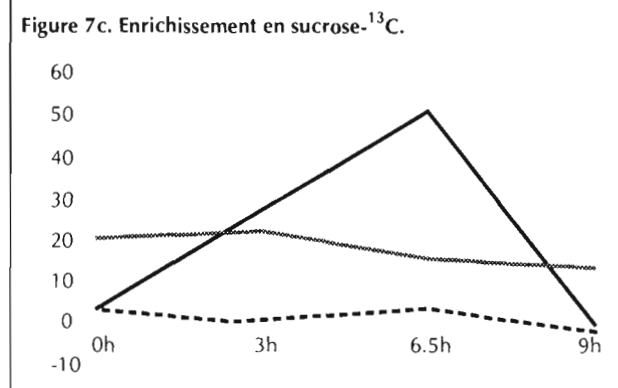


Figure 7c. Enrichissement en sucrose- $^{13}\text{C}$ .

Figure 7. Evolution en fonction du temps de l'enrichissement en  $^{13}\text{CO}_2$  du fructose, du glucose et du saccharose sur trois compartiments foliaires (surface, apoplaste, cellule) dans les feuilles de maïs. Le temps 0 représente l'échantillon après 30 minutes en présence de  $^{13}\text{CO}_2$  (90 %). Les autres échantillons sont collectés en présence de  $\text{CO}_2$  naturel (330 ppm). Les pourcentages d'enrichissement se réfèrent au témoin récolté au temps 0.

(30 mn). Les sucres marqués sont présents à la surface des feuilles dès la fin de la fixation du CO<sub>2</sub> par la feuille de maïs. On note une progression pendant 6 h, puis une diminution des proportions des molécules marquées pendant la période nocturne (figure 7). Cela montre que les sucres détectés à la surface des feuilles, durant la période d'étude, sont le reflet rapide de ce qui se passe dans la feuille.

A côté des variations quantitatives au cours de la journée, il existe des éléments d'information stables qui caractérisent l'espèce végétale et même le genre, tels que les acides aminés libres. Leurs proportions à la surface des feuilles caractérisent l'espèce quels que soient la variété, le stade de croissance et les conditions de culture (figures 2 et 8). Des variations quantitatives sont également observées selon l'âge de la feuille à un stade de croissance donné. Cela est valable pour les métabolites primaires et les cations (figure 9).

### Rôle des cuticules dans la composition en métabolites primaires de la surface des feuilles

La présence des substances d'origine végétale à la surface des feuilles est peu connue. Les mécanismes de passage des substances hydrosolubles au travers de la cuticule, qui est un milieu lipidique, sont

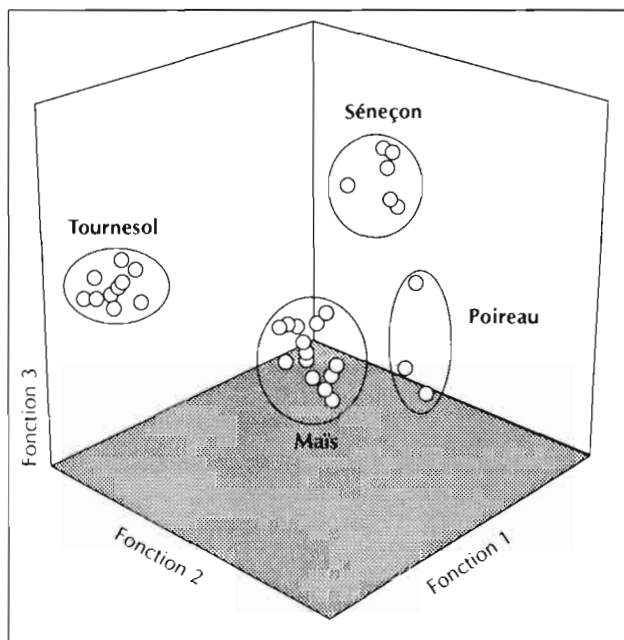


Figure 8. Représentation graphique d'une analyse discriminante sur les proportions d'acides aminés libres trouvés dans les lessivats aqueux de surface de feuille de poireau, de maïs, de tournesol et de séneçon (% de la variation représenté respectivement sur les axes 1, 2 et 3 : 81,19 ; 16,45 et 2,34).

ignorés. Cependant, il est admis que l'eau traverse la cuticule, et les phénomènes de lessivage (*leaching*) sont reconnus. La question posée ici, pour comprendre l'information qui peut être donnée à l'insecte par la plante, est de déterminer le rôle de la cuticule dans la composition de la surface foliaire. Les résultats d'une thèse — effectuée par L. STAMMITTI

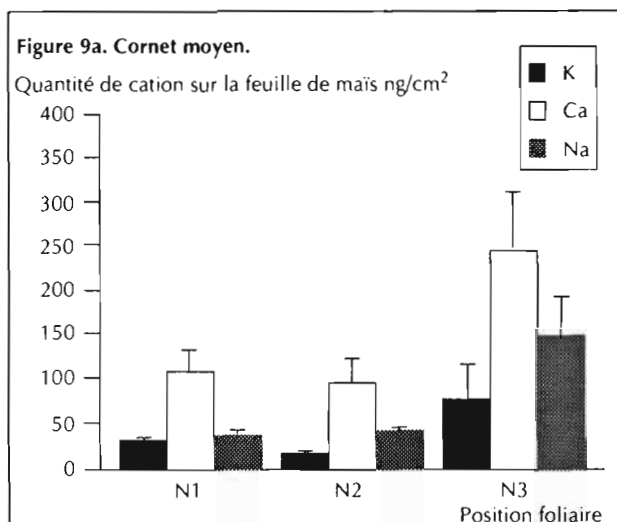


Figure 9b. Cornet avancé.

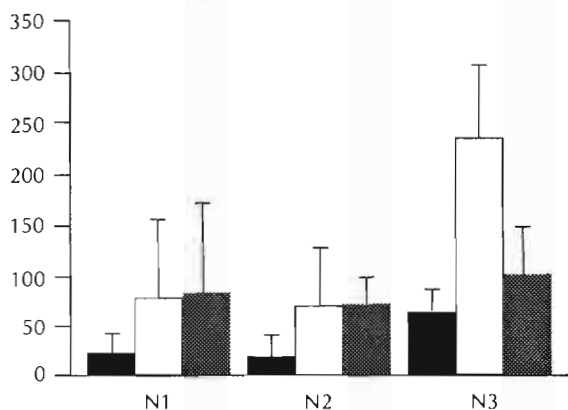


Figure 9c. Jeune panicule.

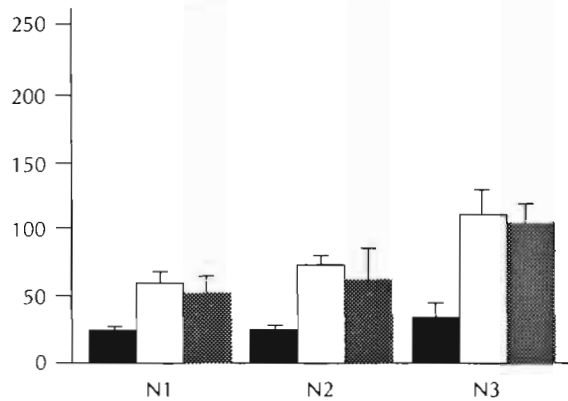


Figure 9. Quantités de cations (K, Ca, Na) collectés à différentes positions foliaires (N1 : 10, 11, 12<sup>e</sup> étages foliaires, N2 : 7, 8, 9<sup>e</sup> étages foliaires, N3 : 4, 5, 6<sup>e</sup> étages foliaires) sur la face inférieure des feuilles à différents stades de croissance (cornet moyen, cornet avancé, jeune panicule).

en collaboration avec M. GARREC — montrent que la cuticule isolée de laurier-cerise discrimine le passage des sucres. Le glucose traverse plus rapidement la cuticule que le fructose et le saccharose sur 24 h. Le dépôt de molécules marquées au  $^{14}\text{C}$  (glucose, fructose, et acide glutamique) à la surface des feuilles de salade montre également que la pénétration des molécules est discriminante. La sélectivité de la cuticule est d'origine probablement chimique et structurale. Nous avons déjà observé que les quantités d'acides gras libres à 16 et 18 carbones qui se trouvent dans les cires intracuticulaires sont corrélées aux quantités de sucres qui y sont imbriquées. Les compositions des cires sont liées à la plante et aux conditions de l'environnement. Il est probable que la composition biochimique de la surface des feuilles corresponde à l'intégration de ces facteurs additionnés à la composition apoplastique.

## Rôle des métabolites et des cations présents à la surface des feuilles dans la sélection du site de ponte

Différentes étapes sont nécessaires pour démontrer le rôle des substances de la surface foliaire sur la sélection du site de ponte. Sur plante entière, en conditions naturelles ou contrôlées, nous avons observé une relation entre le choix de la plante (hybrides de maïs, tabacs, espèces végétales à différents stades de croissance) et le choix du site (étage et face foliaires) avec les quantités de sucres solubles ou d'acide malique et de proline présentes à la surface des feuilles. Les concentrations sont déterminantes et les fortes teneurs entraînent un refus de la plante ou du site pour pondre. Sur différents stades de croissance du maïs, la face supérieure des feuilles était

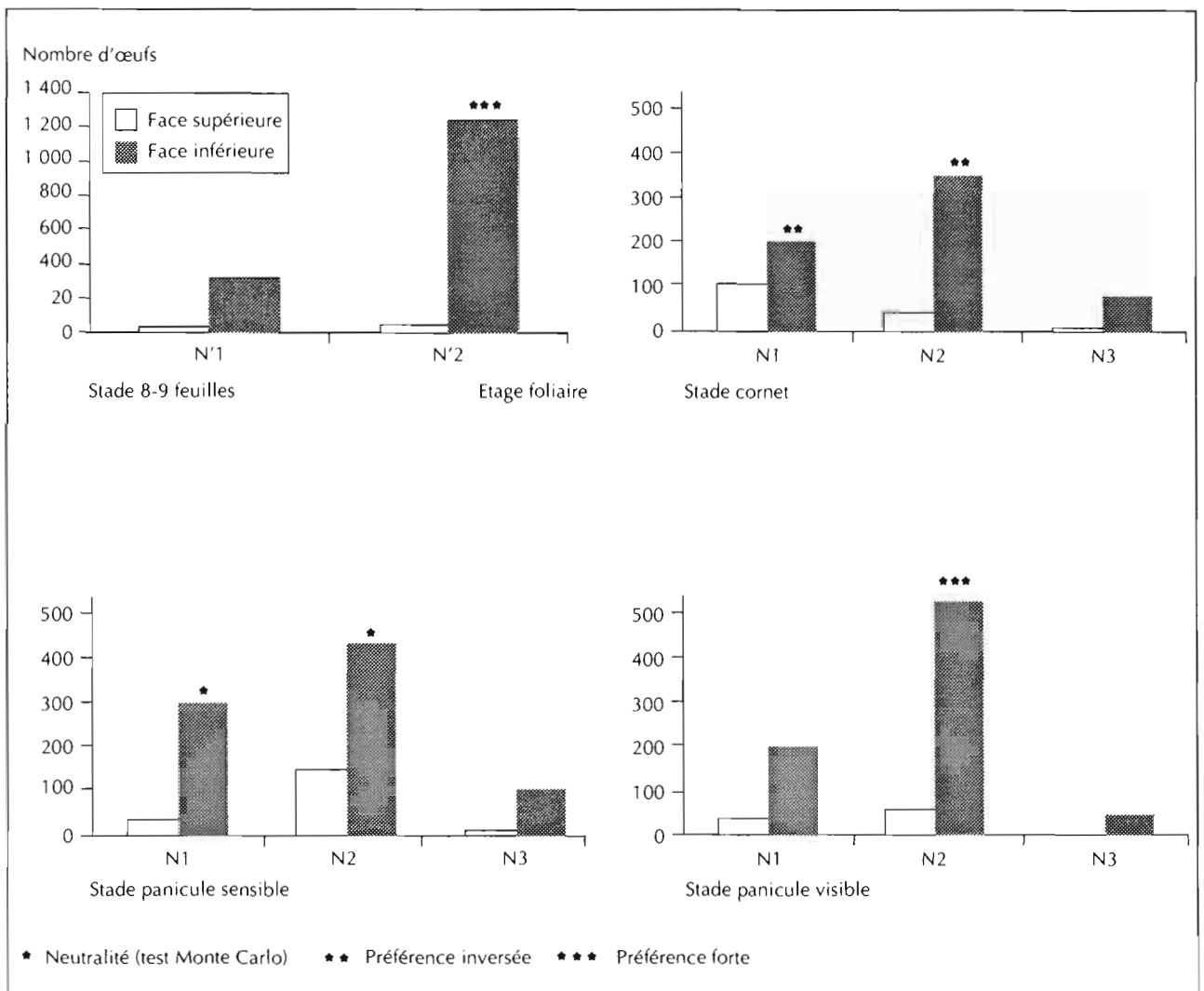


Figure 10. Répartition des œufs par niveau et par face foliaires aux différents stades du maïs.

plus riche en cations (calcium, sodium, potassium) que la face inférieure. Les étages foliaires les plus âgés étaient également plus riches en cations que les autres niveaux. L'insecte a pondu à chaque stade de croissance sur les niveaux et les faces les moins riches (figure 10). Des effets séquentiels ont été observés entre les sucres et les cations, et les sucres et l'acide malique, montrant que selon les concentrations, c'est une substance ou l'autre qui est dominante dans la réponse comportementale observée. Par exemple, une forte concentration en cations ou en acide malique a une action dominante sur celle des sucres.

L'étude des substances isolées et des interactions entre substances doit se faire sur substrat inerte. Des problèmes techniques se révèlent importants quant à l'interprétation des résultats. Le substrat devrait être inerte, c'est-à-dire n'ayant aucune propriété physique ou chimique pouvant être perçue par l'insecte. La répartition des substances dans le substrat et à sa surface devrait être maîtrisée. La qualité chimique des substances expérimentées devrait être conservée pendant toute la durée de ponte étudiée. Les conditions hygrométriques (80 % d'humidité relative) devraient être strictement constantes, cela pouvant interférer avec l'état des molécules et la perception de l'insecte. Les substrats inertes sans ions ne conviennent pas tous à l'insecte, surtout à cause de la texture (comme les fibres de verre). La dispersion des sucres solubles sur le papier filtre est hétérogène — comme cela a été observé sur la feuille de maïs — mais elle est différente de celle observée sur la feuille de salade, où elle est relativement homogène. Les substances peuvent se dégrader plus ou moins vite. Nous avons fixé une période d'étude pour les métabolites primaires et les cations, de trois heures consécutives, au maximum de ponte, pendant deux jours.

Ces remarques faites, nous pouvons toutefois conclure à l'effet de certaines substances isolées sur la ponte de l'insecte. Les sucres (sans condition de choix) stimulent la ponte et, en particulier le fructose, le glucose ayant un effet plutôt dissuasif. En conditions de choix, l'insecte préfère pondre sur le support deux fois plus riche en sucres (fructose, glucose et saccharose), que la moyenne observée sur maïs cultivé en serre.

Les cations (calcium, sodium, potassium), donnés sous forme de sels de chlorure, aux quantités observées sur les niveaux préférés de maïs, stimulent la ponte (30 à 50 % de pontes de plus que sur un support témoin) (figure 11). Lorsque l'on ajoute à ceux-ci, des sucres (fructose, glucose et saccharose) en très faibles quantités (inactives sans les sels), l'effet des cations est augmenté. Il existe donc une synergie entre les sucres et les cations.

L'analyse du comportement de l'insecte montre que les femelles balayent la surface foliaire avec l'ovipositeur avant de pondre (P. ROBERT). Sur les pattes et l'ovipositeur, nous avons pu distinguer plusieurs types de sensilles qui permettent la détection des sucres (E. STÄDLER, F. MARION POLL, L. SOLDAAT, S. MERRY). Les réponses sont relativement spécifiques. Les quantités détectées sont de l'ordre de  $10^{-3}$  moles. Il y a une variabilité entre femelles et certaines peuvent détecter des quantités de l'ordre de  $10^{-6}$  moles par sensille.

## Conclusion

A la surface des feuilles, il existe des métabolites d'origine photosynthétique. Ceux-ci peuvent donner des informations sur l'état physiologique et sur l'espèce de plante. Ces informations apparaissent rapidement à la surface des feuilles après leur biosynthèse dans les cellules. Ces substances peuvent pénétrer à nouveau en partie dans la plante. La composition biochimique de la surface est donc le

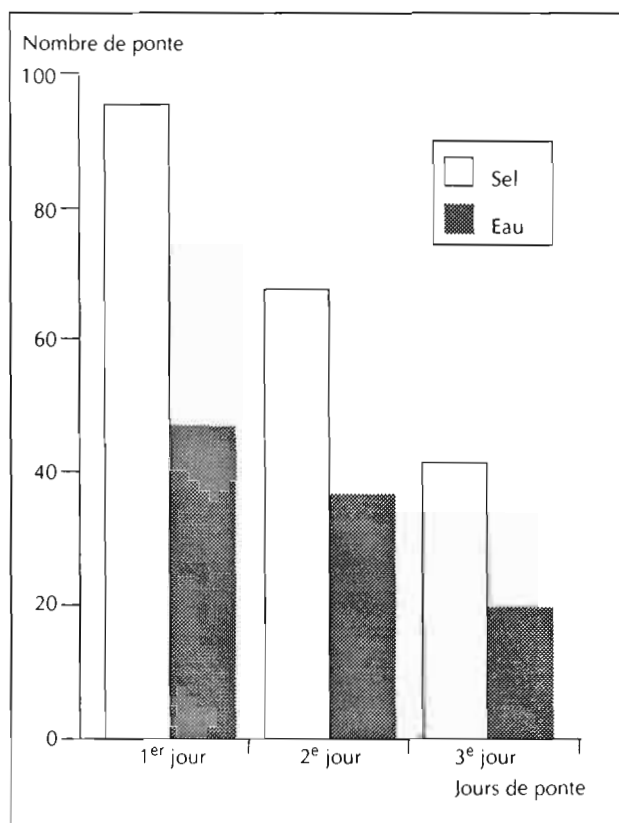


Figure 11. Oviposition d'*O. nubilalis* sur papier filtre imprégné d'une solution de NaCl 48,3 ng/cm<sup>2</sup>, CaCl<sub>2</sub> 67,6 ng/cm<sup>2</sup> et KCl 17,5 ng/cm<sup>2</sup>, comparé à un substrat imprégné d'eau pure.

résultat d'un équilibre d'échanges entre les tissus et la surface, en passant par la cuticule. Celui-ci est dynamique.

La cuticule semble avoir un rôle non négligeable dans la composition en métabolites primaires de la surface de la feuille. Isolée ou en place, elle a rôle discriminant sur le passage des sucres.

La pyrale (*O. nubilalis*) a un comportement et un système sensoriel qui lui permettent de détecter un certain nombre de ces substances. L'insecte n'a probablement pas besoin de substances pour déclencher sa ponte. Toutefois, la femelle est stimulée par un certain nombre de métabolites qui se trouvent déterminants pour apprécier la plante et le site de ponte.

La surface foliaire constitue une source d'information sur la plante et son environnement. Il est probable que la plupart des métabolites soient présents. La présence de certains métabolites secondaires reste à exploiter, pour expliquer le comportement d'insectes plus spécifiques et même des insectes polyphages qui pourraient détecter aussi ces substances.

---

## Discussion

### Préférences de ponte de la pyrale entre différentes espèces végétales

La pyrale pond sur de nombreuses familles et espèces végétales. Toutefois, elle exprime des préférences nettes en condition de choix de plantes cultivées. Nous avons observé que l'insecte est capable d'exprimer une préférence pour un site de ponte en conditions de choix, entre hybrides de maïs, entre niveaux et faces foliaires. Lorsqu'il y a préférence entre les deux espèces tournesol et maïs, elle est plutôt liée au stade de croissance qu'à l'espèce végétale. La femelle est également capable de refuser de pondre sur une plante telle que le colza jeune. Les stimuli qui gouvernent la sélection d'une plante sont d'ordre multiple, il peut s'agir d'une stimulation qui entraîne une réponse comportementale positive ou négative et également d'un choix réel entre plantes. Par exemple, pour ce dernier cas, si l'insecte a un choix binaire entre A et B, l'insecte choisit B. Si B se trouve en condition de choix avec C, l'insecte choisit C. Bien qu'il soit un insecte polyphage, lorsqu'il est en présence de plantes, il fait un choix précis. Le fait qu'il puisse pondre sur des supports artificiels pourrait signifier que la femelle n'a pas besoin de stimuli spécifiques pour déclencher la ponte.

### Préférences de ponte entre plusieurs variétés de maïs

Entre hybrides de maïs en conditions naturelles de choix, il existe une préférence. L'écart du nombre de pontes déposées peut s'élever de 1 à 10. Nos observations confirment des observations américaines faites dans des conditions similaires de choix multiples en conditions naturelles.

### Le modèle pyrale

Le modèle pyrale n'est pas plus complexe qu'un autre dans le cadre de l'étude des facteurs qui gouvernent la sélection de la plante par un insecte pour pondre. Il est intéressant pour plusieurs raisons : c'est un insecte qui a changé d'hôte au cours de ses migrations. En simplifiant, à l'origine, l'insecte infestait les céréales, dont le millet en Europe de l'Est, puis arrivé en France, il a infesté à l'Est le houblon, puis le maïs et le haricot. Aux Etats-Unis où il a été « exporté », il ravage le maïs, mais il s'étend de plus en plus sur d'autres cultures comme la pomme de terre, le poivron, le haricot, le cotonnier... Ces choix s'opèrent dans des conditions culturelles différentes et varient avec chaque génération au cours de la même année. C'est donc un insecte potentiellement dangereux, puisqu'il peut s'attaquer à des cultures différentes selon les conditions. Ce sont ces dernières que nous devons comprendre pour limiter les attaques.

A un stade plus fondamental, les facteurs qui gouvernent la sélection de l'hôte pour pondre par un insecte polyphage sont peu étudiés. Où se situe la frontière entre les mécanismes qui gouvernent la sélection de l'hôte par un insecte polyphage, oligophage ou monophage ? Dans ce cadre, il est intéressant d'étudier le rôle des substances dites spécifiques (métabolites secondaires) dans le choix de l'insecte polyphage et celui des métabolites primaires ou des nutriments dans le choix d'insectes plus spécifiques.

### Choix du support de ponte pour la descendance

Les insectes doivent pondre sur une plante qui permet aux descendants de se développer. Le choix du support de ponte est primordial, surtout lorsque les larves se déplacent peu. L'insecte est adapté à son milieu lorsqu'il choisit un site sur lequel les pontes peuvent rester jusqu'à l'émergence, lorsque les larves trouvent leur lieu d'alimentation sans trop de risques et enfin, lorsque la nourriture permet le développement (nutriments, possibilités de détoxification). La femelle de pyrale, comme d'autres lépidoptères, n'a pas de contact avec les tissus foliaires avant de pondre. En revanche, dans les différentes étapes comportementales conduisant à la décision de ponte, interviennent les stimuli que la femelle distingue à la surface de la feuille. L'adaptation de l'insecte par

l'intermédiaire des stimuli détectés à la surface des feuilles est très peu connue. Les résultats des études présentées à ce séminaire montrent qu'il y a un très grand nombre d'informations sur la plante et son adaptation à son environnement, qui sont données par la surface foliaire. La pyrale a un comportement et un système sensoriel adaptés à la reconnaissance d'éléments biochimiques donnés par la surface foliaire. Cette reconnaissance du support est essentielle pour la survie des descendants, qui vont se nourrir dès leur éclosion à l'endroit où aura été déposée la ponte.

La démonstration « irréfutable » de l'activité d'une substance sur le dépôt de ponte passe par différentes voies :

- faire des observations en conditions naturelles sur la préférence de ponte ;
- démontrer dans un milieu complexe de stimuli (sur plante entière), mais en conditions contrôlées, qu'il existe une relation entre une substance (ou un groupe de substances) et la ponte ;
- vérifier sur un substrat inerte que la substance (ou le groupe de substances) est active. Ce point demande la connaissance de la distribution des substances sur la surface foliaire, et des concentrations, des associations ioniques et du pH, lorsqu'il s'agit de substances ionisables, du maintien de leur qualité chimique et des concentrations au cours de l'expérimentation. Le fait que les ions minéraux soient détectés par l'insecte impose que le substrat utilisé soit sans ions ;
- vérifier sur le plan sensoriel que les substances sont détectées (isolées et groupées) ;
- revenir aux conditions naturelles et vérifier dans plusieurs situations le rôle des substances supposées actives.





# Deuxième partie



# Phénologie du fruit du caféier en relation avec l'infestation de *Hypothenemus hampei* Ferr.

B. DECAZY

CIRAD-CP, unité de recherche défense des cultures, BP 5035, 34032 Montpellier Cedex 1, France.

Cette étude a été conduite par J.-F. BARRERA, lors de la préparation de sa thèse de doctorat présentée à l'université Paul SABATIER, Toulouse, France.

est élevée : 115 jours après la floraison pour une température moyenne de 26 °C, 138 jours après floraison pour une température moyenne de 22,2 °C.

## Introduction

Le scolyte des fruits *Hypothenemus hampei* Ferr. ne vit et ne peut se développer que dans les fruits de café. De plus, les fruits ne contiennent jamais de progéniture : œufs ou stades post-embryonnaires. Il a donc paru intéressant de déterminer le stade de développement du fruit à partir duquel l'insecte peut se reproduire.

## Résultats

### Développement du fruit

Le développement du fruit a été estimé en mesurant la croissance relative du poids sec de l'endosperme par rapport au poids sec total du fruit (le poids sec a été obtenu après déshydratation des échantillons dans un four à 60-80 °C pendant trois à quatre jours). Une mesure a été faite tous les 14 jours pendant 200 jours.

Lorsque le fruit est très petit, il est difficile de mesurer le poids relatif de l'endosperme. Lorsque ce dernier est bien formé, mais encore mou, il représente environ 20 % du poids sec total du fruit. Ce stade est atteint d'autant plus vite que la température moyenne

### Reproduction du scolyte en liaison avec la phénologie du fruit

On a effectué des prélèvements, au hasard, dans des plantations, de 231 fruits attaqués et ayant atteint divers niveaux de développement, puis ils ont été disséqués.

Suivant le degré de pénétration du scolyte dans les fruits, ceux-ci ont été classés en trois catégories :

- catégorie 1, la galerie creusée dans l'endosperme mesurait moins de 1 mm ;
- catégorie 2, galerie de plus de 1 mm, mais la femelle n'avait pas pondu ;
- catégorie 3, les premiers œufs avaient été déposés.

Les femelles, qui ont foré leurs galeries de pénétration dans le mésocarpe du fruit, demeurent dans celui-ci, attendant que l'endosperme devienne plus dur : la ponte n'a lieu généralement que lorsque l'endosperme représente au moins 20 % du poids sec du fruit (figures 1 et 2).

## Discussion et conclusion

La pénétration du scolyte, et surtout sa reproduction, ne sont possibles qu'à partir d'un certain stade phénologique du fruit. Cette observation aura une conséquence directe sur les recommandations pour le contrôle des populations de ce ravageur. Il est nécessaire d'enregistrer les dates de floraison et le

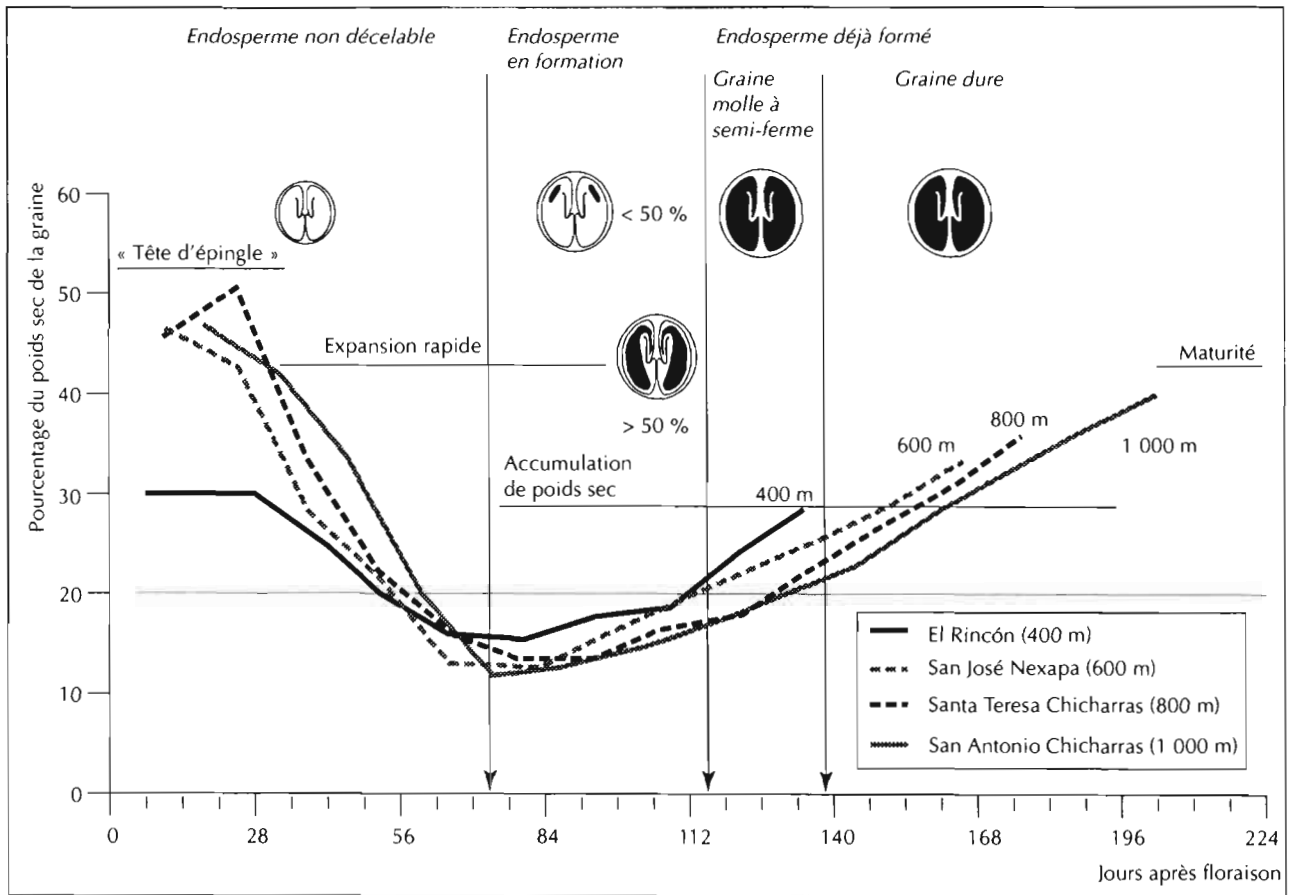


Figure 1. Evolution du poids sec de la graine de *C. arabica* var. Bourbon après la floraison dans 4 sites d'altitude différente, du Soconusco (Chiapas) en 1987.

moment à partir duquel les fruits commencent à être attaqués par le scolyte. Une bonne connaissance de ces dates permettrait aux caféiculteurs de mieux prévoir leurs interventions pour lutter contre ce ravageur. De façon pratique, elles devront avoir lieu, au plus tôt deux mois après la floraison et de toute façon avant 100 à 150 jours, selon les températures moyennes ambiantes.

## Références bibliographiques

BARRERA J.-F., 1994. Dynamique des populations du scolyte des fruits du caféier, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera : Scolytidae), et lutte biologique avec le parasitoïde *Cephalonomia stephanoderis* (Hymenoptera : Bethyilidae), au Chiapas, Mexique. Thèse de doctorat, université Paul SABATIER, Toulouse, France, 301 p.

PEÑADOS-ROBLÈS R., OCHOA-MILAN H., 1979. La consistencia del fruto del café y su importancia en el control de broca, *Hypothenemus hampei* Ferr. Revista Cafetalera 181 : 10-16.

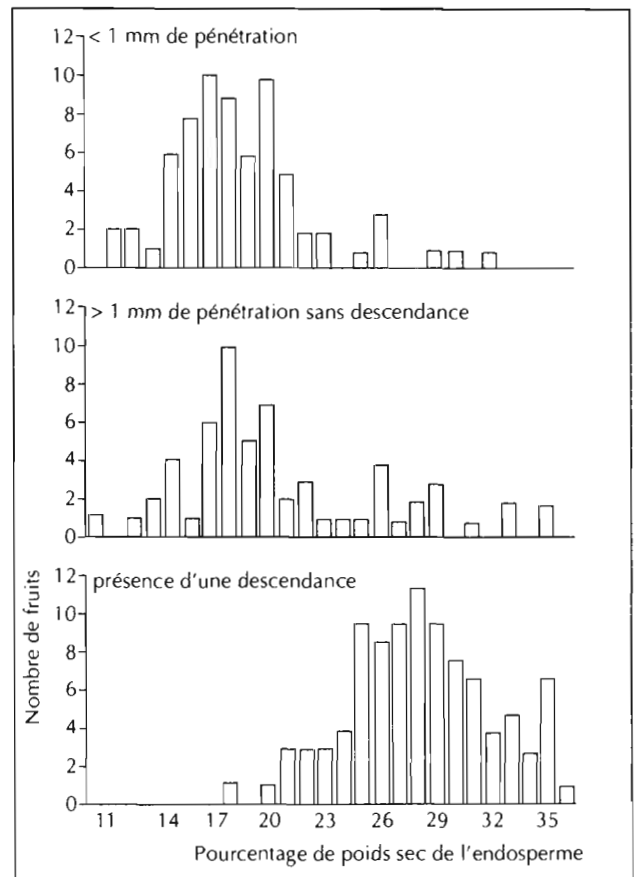


Figure 2. Relation entre le poids sec du fruit de café et l'installation de la femelle d'*H. hampei*.

# Relation entre la phénologie du cacaoyer et l'apparition des races physiologiques chez *Earias biplaga* (Wlk) Noctuidae

J. NGUYEN-BAN

CIRAD-CP, unité de recherche défense des cultures, BP 5035, 34032 Montpellier Cedex 1, France.

## Introduction

L'étude du cycle évolutif d'*Earias biplaga* (Wlk), noctuelle du cacaoyer, a été menée selon une approche à deux niveaux :

- étude en plein champ de la dynamique des populations de noctuelle dans trois zones écologiques différentes de la basse Côte d'Ivoire ;
- étude en salle de l'activité ovarienne des femelles issues des souches sauvages récoltées mensuellement dans les plantations.

## Cycle cultural du cacaoyer et rythme d'apparition des noctuelles

Les résultats de cette étude ont montré que, dans l'écosystème du cacaoyer cultivé en Côte d'Ivoire, les pullulations de grande amplitude des populations de noctuelles ont pour origine, l'émergence — à certaines époques de l'année — des « races physiologiques » à haut potentiel biotique qui colonisent le milieu (figure 1).

L'apparition des « races fertiles » dans l'agrosystème coïncide régulièrement avec des modifications phénologiques majeures pour le cacaoyer.

C'est ainsi que, l'infestation du mois de janvier est contemporaine de la première floraison de l'année (figure 2).

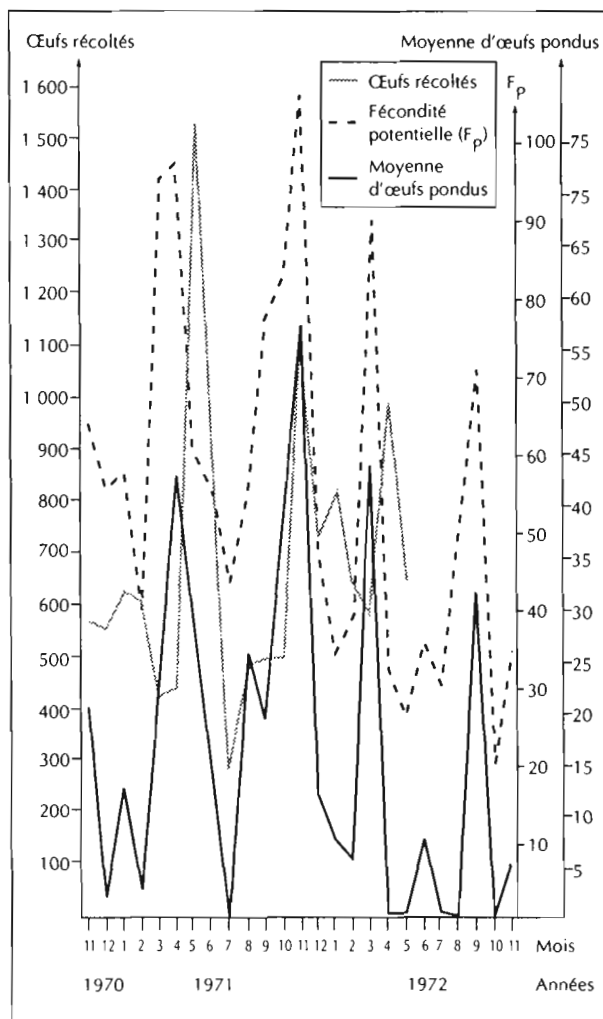


Figure 1. Relation entre la moyenne d'œufs pondus par les femelles élevées en laboratoire, leur fécondité potentielle et les œufs observés en champ.

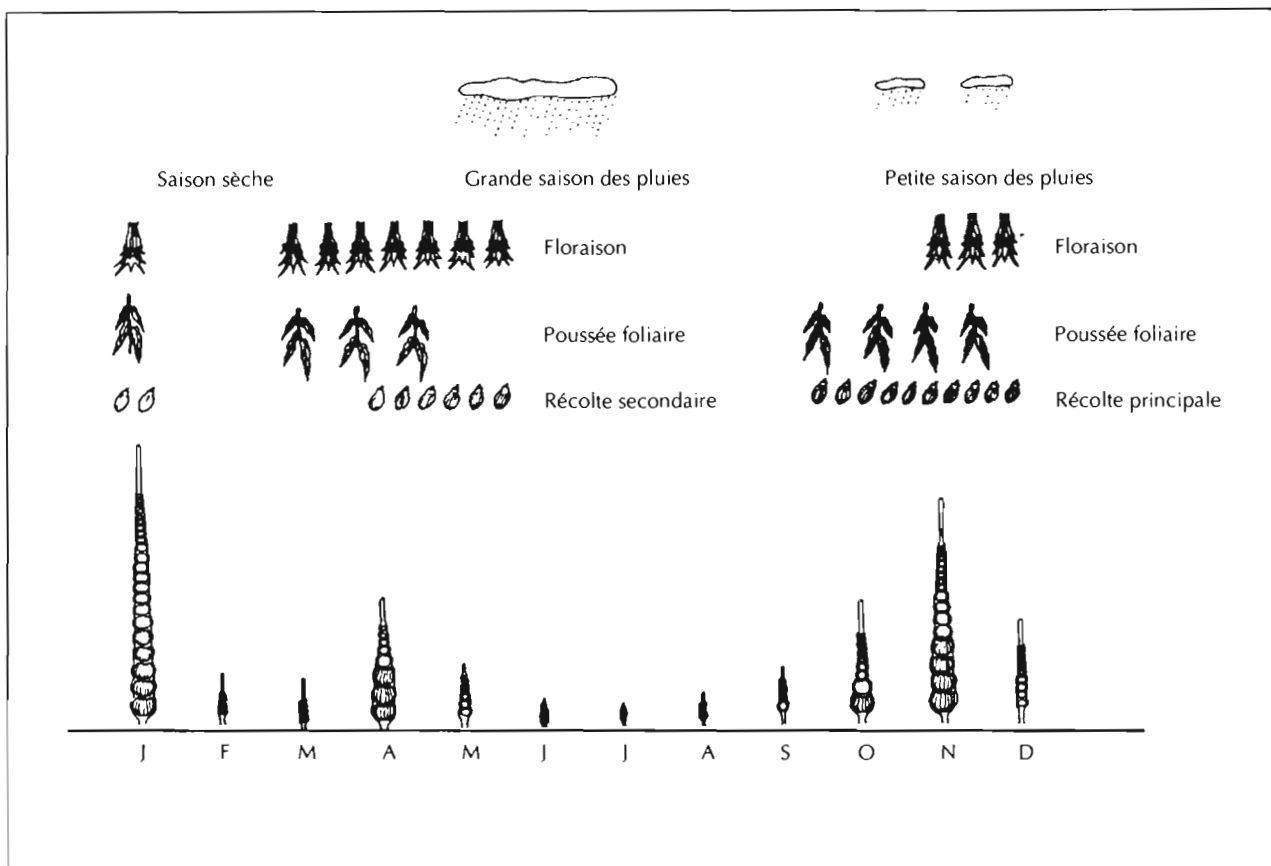


Figure 2. Représentation schématique de la coïncidence temporelle entre l'état des ovarioles des femelles d'*Earias biplaga* et la phénologie du cacaoyer.

Après une raréfaction en février-mars (saison sèche), les chenilles épineuses réapparaissent avec les premières précipitations du mois d'avril. A cette période d'équinoxe, le bilan hydrique du sol, la température et l'ensoleillement sont particulièrement favorables au déclenchement des poussées foliaires, suivies d'abondantes floraisons chez les cacaoyers.

En ce qui concerne l'activité reproductrice des noctuelles, les écarts thermiques journaliers importants réactivent les fonctions ovariennes des femelles et occasionnent une deuxième vague de pontes. A l'éclosion des œufs, les chenilles épineuses trouvent à leur disposition une abondante nourriture pour assurer leur survie.

La troisième et dernière pullulation de noctuelles, en octobre-novembre, coïncide avec la récolte principale, période où les poussées végétatives sont abondantes.

## Les facteurs favorables

Les différents degrés de potentiel reproducteur des « races physiologiques » émergentes dans

l'année sont régis par des mécanismes extrêmement élaborés qui ont été étudiés en détail.

En conclusion, il se trouve qu'à chaque invasion de noctuelles, le haut potentiel biotique des souches émergentes résulterait de la rencontre temporelle des facteurs trophiques et climatiques privilégiés.

## Discussion

### L'existence de races physiologiques est-elle bien prouvée ?

On observe dans l'année, deux types de femelles : des femelles très fertiles et des femelles peu fertiles qui se succèdent dans la nature. On se fonde ici sur des différences de potentiel reproducteur des souches. De même à certaines périodes de l'année, on observe des différences de colorations alaires notamment au niveau des taches. En autoécologie expérimentale, si on modifie les conditions de l'élevage (température, hygrométrie...) et d'alimentation des chenilles, on obtient la même différenciation dans les pigmentations alaires et dans les potentiels reproducteurs des souches.

# Comportement de sélection de la plante hôte par la cochenille farineuse du manioc *P. manihoti* : rôle des composés biochimiques

S. RENARD<sup>(1)</sup>, B. LE RÜ<sup>(2)</sup>, P.-A. CALATAYUD<sup>(3)</sup>, G. LOGNAY<sup>(4)</sup>, C. GASPAR<sup>(1)</sup>

(1) Faculté des sciences agronomiques, UER de zoologie générale et appliquée, 2 passage des déportés, 5030 Gembloux, Belgique.

(2) Centre ORSTOM, BP 1286, Pointe-Noire, république du Congo.

(3) ORSTOM, LIN-BGP, parc scientifique Agropolis II, Bt B5-B6, 34397 Montpellier Cedex 5, France.

(4) Faculté des sciences agronomiques, UER de chimie générale et organique, 2 passage des déportés, 5030 Gembloux, Belgique.

## Introduction

Le manioc, *Manihot esculenta* Crantz (*Euphorbiaceae*), originaire d'Amérique latine, représente à l'heure actuelle un aliment de base dans les zones forestières de l'Afrique centrale. Depuis les années 1960-1970, à la suite de l'introduction en Afrique de boutures contaminées, le manioc subit de graves dommages dus à la cochenille farineuse *Phenacoccus manihoti* Matile-ferrero (*Hom.*, *Pseudococcidae*). Cet insecte piqueur-suceur, phloémophage et oligophage, inféodé au genre *Manihot*, est en effet doté d'un important pouvoir de multiplication.

## Méthodologie

Le sujet de notre travail s'inscrit dans le cadre général de l'étude des interactions multitrophiques manioc-cochenille farineuse-auxiliaires. Il s'intègre plus particulièrement dans le contexte de l'étude de la résistance des plantes, afin d'identifier les caractéristiques du manioc susceptibles d'induire une réduction des effectifs des cochenilles. Il se propose d'analyser le comportement de fixation de la cochenille sur sa plante hôte en relation avec son équipement

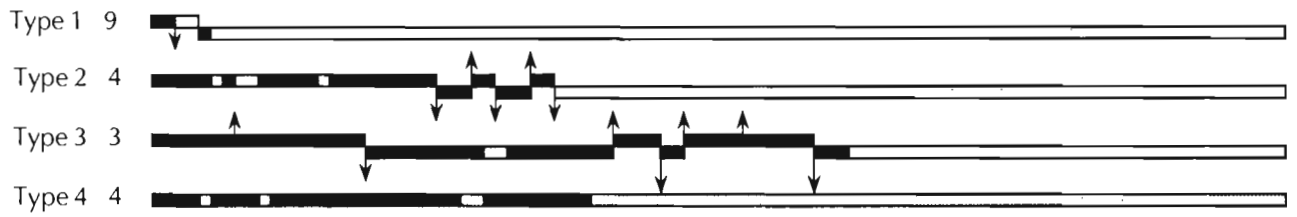
sensoriel et les caractéristiques physiques et chimiques de la surface des feuilles. L'étude est réalisée sur plusieurs génotypes de manioc et sur le talinum (*Talinum triangulare* Jack, *Portulacaceae*) héberge parfois des populations de cochenilles sur le terrain et il constitue une excellente plante de substitution au laboratoire (NEUENSCHWANDER et MADOJEMU, 1986 ; IZIQUEL, 1990). Ces plantes ont été choisies d'après leur degré de résistance antixénotique à l'égard de la cochenille (au sens de PAINTER, 1951) établi lors de criblages variétaux au champ et au laboratoire (TERTULIANO *et al.*, 1993 ; LE RÜ et TERTULIANO, 1993).

## Résultats et discussion

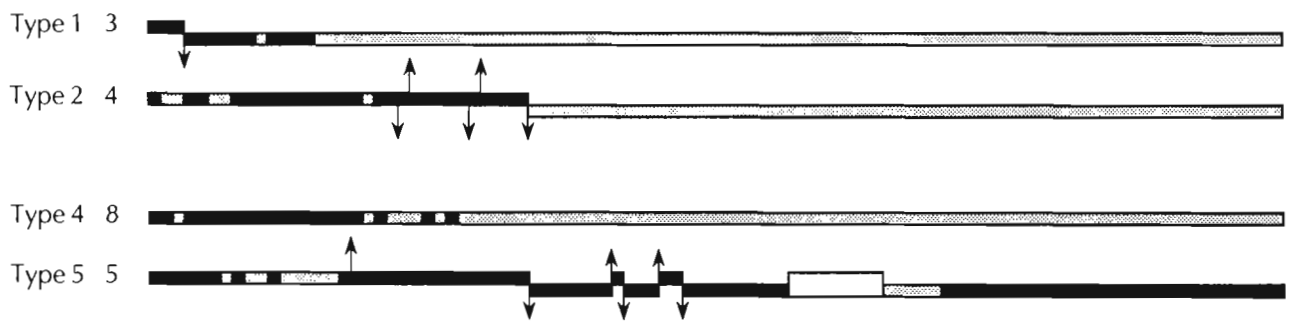
Le comportement de reconnaissance de la plante par la cochenille a été décrit d'après les observations à l'œil nu de cochenilles de stade L1 pendant 90 minutes sur des feuilles entières. Nous avons représenté les résultats sous forme d'éthogrammes (figure 1). Ces expériences ont conduit à une nouvelle classification des plantes selon leur degré de reconnaissance (antixénose) et à l'observation de mouvements particuliers suggérant que les organes sensoriels de la cochenille sont mobilisés. Par des techniques de microscopie électronique à balayage et



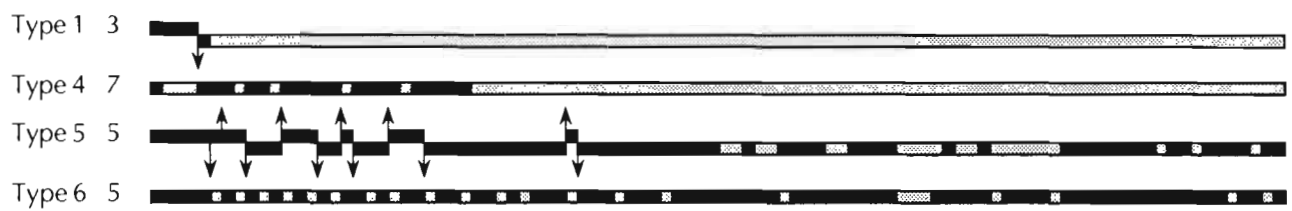
## Incoza



## M'Pembé



## Faux-caoutchouc



## Talinum

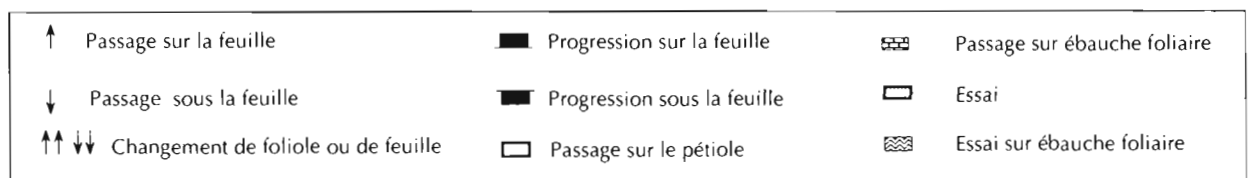
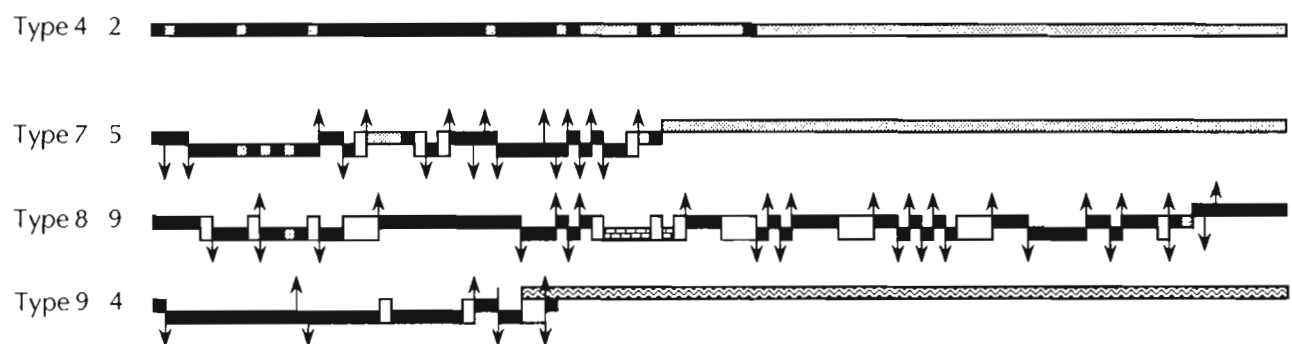


Figure 1. Ethogrammes caractéristiques du comportement de fixation de la cochenille du manioc avant l'arrêt sur les feuilles des variétés M'Pembé et Incoza, de l'hybride Faux-caoutchouc et du Talinum. Observations de 90 minutes.

à transmission, nous avons alors décrit la structure externe et interne des sensilles de l'antenne, de la patte et du labium. Nous avons ainsi montré que les fonctions mécaniques, gustatives et olfactives sont bien représentées sur le labium et sur les antennes, tandis que seule la fonction mécanique est retrouvée sur la patte.

L'observation détaillée sur écran vidéo (caméra adaptée à la loupe binoculaire) du comportement d'acceptation de l'hôte, c'est-à-dire des différentes étapes rencontrées après l'arrêt de la cochenille sur le végétal, a mis en évidence une succession de phases typiques, quelle que soit la plante (figure 1).

Ces observations ont été complétées par un enregistrement électrique de la pénétration des stylets dans la plante. Nous avons montré qu'une progression des stylets s'effectue au cours des différentes phases observées au cours de l'enregistrement vidéo et que les signaux électriques peuvent être associés aux items comportementaux. La comparaison des maniocs, en ce qui concerne les fréquences d'association « signaux électriques-items comportementaux » et la durée des signaux, a montré que le cheminement des stylets entre (et dans) les cellules jusqu'au phloème est plus difficile pour la variété la plus antixénotique et que le nombre de *potential drops* (courtes piqûres dans les cellules) est significativement plus élevé pour cette même variété.

L'observation de la surface des différentes plantes, étudiées en microscopie électronique à balayage, n'a mis en évidence aucune différence structurale majeure entre les trois maniocs. Les seules variations retrouvées concernent l'épaisseur de la couche de cires épicuticulaires et la taille des cellules épidermiques. Actuellement, nous nous attachons à corrélérer les caractéristiques chimiques de la surface de la feuille aux résultats de tests biologiques : l'extraction des substances foliaires à l'aide de solvants de polarités diverses fournit d'une part des extraits sélectifs soumis à l'analyse chimique et, d'autre part, un « substrat biologique modifié » soumis au test comportemental classique de reconnaissance. Les premiers résultats ont révélé la présence de linamarine, l'un des glycosides majeurs du manioc. Elle a été mise en évidence pour la première fois à la surface de la feuille et son rôle phagostimulant a été suggéré par CALATAYUD *et al.* (1994).

## Conclusion

Dans l'état actuel de nos connaissances, nous pouvons dire que la cochenille du manioc est pourvue d'un équipement sensoriel composé d'un petit nombre de sensilles mais très diversifiées, qui lui permettent de faire la distinction entre des plantes

hôtes et non hôtes. Cela signifie que les plantes qu'elle rencontre lui fournissent un ensemble d'informations qui la conduisent à l'acceptation ou au rejet de la plante.

Il est donc essentiel de comprendre les mécanismes liés à la reconnaissance, c'est-à-dire de déterminer les stimuli physiques et surtout chimiques qui influencent son choix.

## Références bibliographiques

CALATAYUD P.-A., RAHBE Y., TJALLINGI W.F., TERTULIANO M., LE RÜ B., 1994. Electrically recorded feeding behaviour of Cassava mealybug on host and non-host plants. *Entomol. Exp. Appl.* 72 : 219-232.

IZIQUEL Y., 1990. Le parasitisme de la cochenille du manioc par l'*Encyrtidae Epidinocarsis lopezi* : un exemple d'interactions hôte-parasitoïde chez les insectes. Thèse de doctorat, université de Rennes I, France, 75 p.

LE RÜ B., TERTULIANO M., 1993. Tolerance of different host-plants to the cassava mealybug *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero (*Homoptera, Pseudococcidae.*) *Int. J. of Pest Management* 39 (4) : 379-384.

NEUENSCHWANDER P., MADOJEMU E., 1986. Mortality of the Cassava mealybug *Phenacoccus manihoti* (*Hom., Pseudococcidae*) associated with an attack by *Epidinocarsis lopezi* (*Hym., Encyrtidae*). *Bull. Soc. Suisse* 59 : 57-62.

PAINTER R.H., 1951. *Insect resistance in crops plants.* The University press of Kansas, Lawrence, Kansas, Etats-Unis, 520 p.

TERTULIANO M., DOSSOU-GBETE S., LE RÜ B., 1993. Antixenotic and antibiotic components of the resistance to the cassava mealybug *Phenacoccus manihoti* in various host-plants. *Insect. Sci. Applic.* 14 : 657-665.

---

## Discussion

### Quelle est la durée des enregistrements EPG ?

La durée est de 22 minutes. Elle correspond à celle des séquences comportementales filmées antérieurement et a été choisie en fonction de l'atténuation marquée de l'activité des cochenilles à la fin de cette période.

### **Les insectes supportent-ils bien l'éclairage ?**

Oui.

### **Observation du comportement de la cochenille sur les différentes variétés de manioc étudiées**

Il apparaît que le comportement de *test probing* est plus confus sur la variété la moins préférée. Cela se traduit par une agitation plus importante de la cochenille et une plus grande diversité d'items.

### **Pourquoi focaliser l'étude sur l'analyse des composés de surface ?**

Leur influence sur les insectes, que cela concerne la nutrition ou l'oviposition, ne fait plus de doute. Puisque l'insecte est d'abord confronté à la surface de la plante, c'est déjà à ce moment-là qu'une non préférence peut-être observée.

# Réaction du pin sylvestre aux agressions par les scolytes et leurs champignons associés : action des composés phénoliques sur les agresseurs

E. BOIS, F. LIEUTIER, A. YART

INRA, station de zoologie forestière, 45160 Ardon, France.

## Introduction

Une attaque de scolytes (*Tomicus piniperda*) et de leurs champignons associés (*Leptographium wingfieldii*) sur pin sylvestre est généralement stoppée par une réaction induite du phloème. Cette réaction matérialisée par une zone elliptique longitudinale est imprégnée de divers métabolites secondaires.

## Etude des composés phénoliques

L'étude de la composition phénolique de cette zone a permis de mettre en évidence des différences entre phloème sain et réactionnel. Trois composés totalement absents du phloème non agressé sont néosynthétisés : la pinosylvine (PS), son monométhyléther (PSM) et la pinocembrine (PC). D'autres composés présents dans le liber sain voient leur concentration modifiée. La catéchine augmente dans la réaction alors que les dérivés de l'acide hydroxycinnamique diminuent. La taxifoline et son glycoside ont des concentrations qui varient selon les arbres. Afin de mieux comprendre le rôle de ces différents composés phénoliques dans la réaction, nous avons entrepris de tester leur action sur les agresseurs : *L. wingfieldii* et *T. piniperda*.

## Etude de la croissance de *L. wingfieldii*

La croissance de *L. wingfieldii* en présence des divers composés a été testée en micro-plaque et mesurée par spectrophotométrie. La pinosylvine, son monométhyléther et la pinocembrine inhibent la croissance du champignon. En revanche, la catéchine stimule la croissance, et la taxifoline n'a aucun effet. Diverses combinaisons ont aussi été testées. Lors de mélanges des différents composés inhibiteurs, l'inhibition est amplifiée. En présence de taxifoline, l'inhibition due à la PC et à la PS est identique à celle de ces composés introduits seuls. En revanche, la taxifoline diminue l'inhibition induite par la PSM. De plus, l'analyse par HPLC du milieu de culture en fin d'expérience a permis d'évaluer la stabilité des composés et l'action du champignon sur ces derniers. *L. wingfieldii* est capable de dégrader les différents composés inhibiteurs, PS, PSM et PC. Cependant, au-delà d'une certaine dose seuil, cette action n'est pas observée, le champignon est alors totalement inhibé. En revanche, *L. wingfieldii* ne dégrade pas les composés qui ont un effet positif (catéchine) ou neutre (taxifoline) sur sa croissance.

## Action des composés sur *T. piniperda*

L'utilisation d'un milieu artificiel à base de phloème a permis d'étudier l'action de ces composés sur *T. piniperda*. Les tests ont été réalisés en boîte de

Pétri avec une rondelle de milieu artificiel. La consommation du milieu obtenue par pesée est identique quelle que soit la concentration en composés phénoliques présents dans le milieu nutritif. Dans tous les cas, la mortalité est très faible.

## Conclusion

Les composés phénoliques néosynthétisés dans la zone de réaction semblent donc avoir un effet fongistatique alors que celui dont la concentration augmente aurait un effet stimulateur sur *L. wingfieldii*. Cependant, cette action n'a été observée qu'*in vitro* en absence de phloème. Contrairement à leur champignon associé, les insectes ne semblent pas gênés par la présence de ces composés dans leur milieu nutritif. La méthodologie utilisée pour les insectes n'est cependant peut-être pas assez précise pour permettre l'observation de différences entre les traitements. De plus, il serait intéressant de tester l'action des composés phénoliques sur les stades larvaires de *T. piniperda*.

# Influence de la plante sur les caractéristiques démographiques d'*Epidinocarsis lopezi*, parasitoïde de la cochenille farineuse du manioc

R. SOUISSI<sup>(1)</sup>, P.-A. CALATAYUD<sup>(2)</sup>, B. LE RÜ<sup>(3)</sup>

(1) Université de Rennes I, laboratoire d'écobiologie des insectes parasitoïdes, campus de Beaulieu, 35042 Rennes Cedex, France.

(2) ORSTOM, LIN-BGP, parc scientifique Agropolis II, Bt B5-B6, 34397 Montpellier, Cedex 5, France.

(3) ORSTOM, laboratoire d'entomologie agricole, BP 1286, Pointe-Noire, République du Congo.

## Introduction

Depuis quelques années, dans un contexte de lutte intégrée faisant appel à la lutte variétale et biologique, l'étude de l'incidence de la résistance des plantes sur l'efficacité des parasitoïdes se développe. Parmi les différentes catégories de résistance définies par PAINTER (1958), il semble que l'antibiose soit davantage susceptible d'agir négativement sur le troisième niveau trophique (VAN EMDEN, 1991). Nous nous proposons dans la présente étude de déterminer dans quelle mesure des plantes caractérisées par différents degrés de résistance antibiotique à la cochenille *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero (Homoptera : Pseudococcidae) influencent l'efficacité du parasitoïde *Epidinocarsis lopezi* De Santis (Hymenoptera : Encyrtidae). Cet effet est apprécié au travers du calcul du taux intrinsèque d'accroissement naturel ( $r_m$ ) (BIRCH, 1948) qui intègre les différentes composantes du développement du parasitoïde telles que la durée de développement, la fécondité, la mortalité et le sex ratio.

## Matériel et méthodes

Quatre plantes hôtes ont fait l'objet de notre étude : Incoza et Zanaga (MM 79). Deux variétés de manioc *Manihot esculenta* Crantz (Euphorbiaceae) sont testées : Faux-caoutchouc, hybride de *M. esculenta* et de *M. glazovii* Mull. Arg. et Talinum, *Talinum*

*triangularae* Jacq (Portulacaceae). Les souches du parasitoïde et de la cochenille, maintenues depuis trois ans au laboratoire, proviennent du Congo.

Les expériences se sont déroulées sur des plants entiers, simultanément sur 9 à 12 femelles disposant chacune de 20 cochenilles L3 par jour. A la momification, les cochenilles sont mises une par une en gélules. A l'émergence, les adultes sont dénombrés, le sexe déterminé, et leur durée de développement totale notée. Les cochenilles non momifiées sont observées à la loupe binoculaire afin d'observer un éventuel phénomène d'encapsulation. La fécondité journalière du parasitoïde est assimilée à la somme des nombres de momies et de parasitoïdes encapsulés obtenus chaque jour.

## Résultats et discussion

L'espèce de plante et la variété influencent significativement le succès reproducteur d'*E. lopezi* : le taux intrinsèque d'accroissement naturel  $r_m$  est significativement plus élevé sur Zanaga et Talinum que sur Incoza et Faux-caoutchouc (tableau I). Parmi les différents paramètres qu'intègre  $r_m$ , on note que seul le sex ratio n'est pas modifié par la plante (tableau II).

La variété de manioc Incoza, qui est la plante où l'on enregistre la fécondité la plus élevée, 1,4 fois plus importante que celle du Faux-caoutchouc est celle où le taux de mortalité préimaginaire est le plus important. Les substances secondaires ingérées par les

**Tableau I.** Comparaison du taux net de reproduction ( $r_o$ ) du temps de génération ((T), et du taux intrinsèque d'accroissement naturel ( $r_m$ ) d'*E. lopezi* et de *P. manihoti*.

| Conditions répertoriées         | Température et humidité relative | Plante              | $r_o$<br>(F/F/génération) | Temps génération<br>(jours) | $r_m$           |
|---------------------------------|----------------------------------|---------------------|---------------------------|-----------------------------|-----------------|
| <b><i>E. lopezi</i></b>         |                                  |                     |                           |                             |                 |
| Etude de SOUISSI, CALATAYUD     | 25 °C, 70 %                      | Incoza              | 37,4 ± 7,4 a              | 30,1 ± 1,2 a                | 0,120 ± 0,008 a |
|                                 |                                  | Zanaga              | 53,0 ± 17,0 b             | 29,9 ± 1,2 a                | 0,131 ± 0,013 b |
|                                 |                                  | Faux-caoutchouc     | 35,7 ± 7,7 a              | 31,3 ± 1,5 b                | 0,114 ± 0,008 a |
|                                 |                                  | Talinum             | 54,0 ± 24,7 b             | 29,4 ± 1,2 a                | 0,132 ± 0,012 b |
| IZIQUEL, Le RU, 1992            | 26 °C, 64 %                      | Talinum             | 269,9                     | 33,9                        | 0,213           |
| LÖHR <i>et al.</i> , 1989       | 27 °C, 60 %                      | <i>M. esculenta</i> | 24,6                      | 19,9                        | 0,166           |
| <b><i>P. manihoti</i></b>       |                                  |                     |                           |                             |                 |
| TERTULIANO <i>et al.</i> , 1992 | 25 °C, 70 %                      | Incoza              | 295,6                     | 20,8                        | 0,133           |
|                                 |                                  | Zanaga              | 299,1                     | 18,1                        | 0,155           |
|                                 |                                  | Faux-caoutchouc     | 401                       | 18,8                        | 0,141           |
|                                 |                                  | Talinum             | 287,6                     | 20,8                        | 0,15            |
| SCHULTHESS <i>et al.</i> , 1987 | 8 °C, 65-95 %                    | n° 91934            | 357,4                     | 39,8                        | 0,157           |
| LEMA et HERREN, 1985            | 27 °C, 72 %                      | <i>M. esculenta</i> | 443,2                     | 32,9                        | 0,2             |

**Tableau II.** Comparaison de la fertilité, de la durée de développement de la mortalité préimaginale et du sex ratio d'*E. Lopezi* sur quatre plantes hôtes.

| Plante          | Fécondité<br>œufs/femelle | Durée de développement<br>des femelles (jours) | Mortalité préimaginale<br>(%) | Sex ratio      |
|-----------------|---------------------------|--|-------------------------------|----------------|
| Incoza          | 129 ± 19,2 a              | 23,8 ± 0,4 a                                   | 30,7 ± 7,9 a                  | 62,99 ± 0,68 a |
| Zanaga          | 115 ± 21,4 a              | 24,3 ± 0,4 ab                                  | 18,5 ± 10,4 bc                | 64,95 ± 1,29 a |
| Faux-caoutchouc | 94 ± 12,5 b               | 24,3 ± 0,3 bc                                  | 22,7 ± 6,1 b                  | 62,14 ± 0,58 a |
| Talinum         | 118 ± 33,6                | 24,8 ± 0,5                                     | 14,8 ± 2,9 c                  | 60,45 ± 2,78 a |

insectes phytophages sont souvent invoquées pour expliquer un tel effet négatif de la plante sur la biologie et le développement des parasitoïdes (VAN EMDEN, 1991). En ce qui concerne le couple manioc-cochenille, CALATAYUD *et al.* (1994) ont pu observer que la rutine transportée par la sève phloémienne de la plante serait ingérée et métabolisée par la cochenille. Il est permis de se demander si la rutine ou le produit d'hydrolyse de ce glycosyde — la quercétine — ne perturbe pas le développement du parasitoïde. En effet, la plus forte mortalité pré-imaginale d'*E. lopezi* est enregistrée sur la variété de manioc Incoza précisément celle présentant la plus forte teneur en rutine : 10,9 mg/g de matière sèche contre 7,0 et 8,1 respectivement chez Zanaga et Faux-caoutchouc. Cette hypothèse reste à vérifier en étudiant les caractéristiques écobiologiques d'*E. lopezi* se

développant sur des cochenilles élevées sur un milieu artificiel holidique dans lequel on fera varier les teneurs en rutine.

Dans notre étude, la plante est responsable d'une variation du  $r_m$  du parasitoïde de près de 16 %. La comparaison de nos résultats avec ceux rapportés dans la littérature indiquent des variations de valeur du  $r_m$  bien supérieures allant jusqu'à près de 84 % (tableau I). Les différences observées ne résultent probablement pas de la seule plante mais de facteurs tels que la densité de l'hôte, l'alimentation des femelles, la température expérimentale, l'écotype du parasitoïde, voire la méthode d'estimation de la fécondité.

A température égale et sur les mêmes plantes hôtes, le  $r_m$  d'*E. lopezi* est sensiblement inférieur à celui de la cochenille (tableau I). Le  $r_m$ , qui peut être utilisé comme un indice du *fitness* du parasitoïde, est



souvent comparé à celui de son hôte (GODFRAY, 1994). En lutte biologique, certains auteurs considèrent qu'un parasitoïde peut être efficace, quand son  $r_m$  est supérieur ou égal à celui de son hôte (BIGLER, 1989). Fondés sur ce critère, les résultats présentés dans le tableau I suggèrent une certaine inefficacité d'*E. lopezi*.

En définitive, nos résultats montrent que le  $r_m$  d'*E. lopezi* est modifié significativement par des plantes exprimant différents niveaux de résistance antibiotique à *P. manihoti*. Ils indiquent notamment que la forte résistance exprimée par Incoza est défavorable au parasitoïde, dont elle affecte la mortalité et la durée de développement préimaginales. Dans l'optique d'un renforcement de la lutte biologique à l'aide de variétés résistantes, l'utilisation de variétés de manioc présentant des caractéristiques de résistance comparable à Zanaga apparaît souhaitable. Toutefois, nos observations ayant été réalisées sur une seule génération du parasitoïde au laboratoire, il conviendrait de les confirmer à long terme sur plusieurs générations du parasitoïde et en conditions expérimentales de terrain, avant d'envisager de recommander telle ou telle caractéristique de la plante à des sélectionneurs.

## Références bibliographiques

- BIGLER F., 1989. Quality assessment and control in entomophagous insects used for biological control. *J. Appl. Entomol.* 108 : 390-400.
- BIRCH L.C., 1948. The intrinsic rate of natural increase of an insect population. *J. Anim. Ecol.* 17 : 15-26.
- CALATAYUD P.-A., RAHBE Y., DELOBEL B., KHUONG-HUU F., TERTULIANO M., LE RÜ B., 1994. Influence of secondary compounds in the phloem sap of cassava on expression of antibiosis towards the mealybug *Phenacoccus manihoti*. *Entomol. Exp. Appl.* 72 : 47-57.
- GODFRAY H.C.J., 1994. Parasitoids : Behavioural and evolutionary ecology. KREBS, J.R. and T. CLUTTON-BROCK (Eds), Princeton University Press, Etats-Unis, 473 p.
- IZIQUEL Y., LE RÜ B., 1992. Fecundity, longevity and intrinsic natural rate of increase of *Epidinocarsis lopezi* (De Santis) (Hym. Encyrtidae). *Can. Entomol.* 124 : 115-121.
- PAINTER R.H., 1951. Insect resistance in crops plants. The University press of Kansas, Lawrence, Kansas, Etats-Unis, 520 p.
- VAN EMDEN H.F., 1991. The role of host plant resistance in Insect Pest Management. *Bull. Ent. Res.* 81 : 123-126.

# Influence de la présence des fourmis ou des *Phycitinae* sur la production de corps nourriciers par *Cecropia obtusa* Trecul. (*Cecropiaceae*) en Guyane française

P.-J. SOLANO, M. BELIN-DEPOUX

Université Paris VI, laboratoire de biologie végétale tropicale, 12 rue Cuvier, 75005 Paris, France.

## Introduction

*Cecropia obtusa*, plante pionnière de Guyane française est un myrmécophyte associé communément aux fourmis *Azteca* dans une relation stricte, symbiotique. L'élément trophique fondamental produit par la plante est le corps de Müller, corpuscule blanchâtre, ovoïde, réunissant des cellules gorgées de réserves. Les entre-nœuds sont transformés en domaties abritant la colonie. Sur chaque entre-nœud, à l'opposé de l'insertion foliaire se situe une zone légèrement invaginée, le prostoma. Ce dernier est percé par la reine au moment de la fondation de la colonie. La base de chaque pétiole porte un tissu spécialisé, la trichilium, lieu d'origine des corps nourriciers protégés par des poils pluricellulaires unisériés, les paraphyses. La production des corps nourriciers survient toujours dans un même nyctémère, trois heures avant la tombée de la nuit, et se poursuit jusqu'au crépuscule. L'émission des corps nourriciers suit toujours ce rythme, que l'individu soit occupé ou non par les fourmis, habité par des chenilles ou cultivé en serre.

## Etude de la production des corps de Müller

L'étude s'est déroulée sur le site de Petit Saut à proximité du barrage EDF sur le Sinnamary. Deux espèces d'*Azteca* vivent en association avec *Cecropia obtusa*, *A. traili* et *A. alfari*. Cette dernière, nettement

majoritaire, est présente dans plus de 60 % des arbres. Avant l'occupation par les fourmis, les entre-nœuds peuvent être habités par des chenilles de *Pyralidae phycitinae* qui se nourrissent des corps nourriciers. La production des corps de Müller a été suivie pendant vingt jours (SOLANO, 1995) sur dix arbres occupés par les fourmis (figure 1), dix autres habités par les chenilles (figure 2), et enfin dix arbres

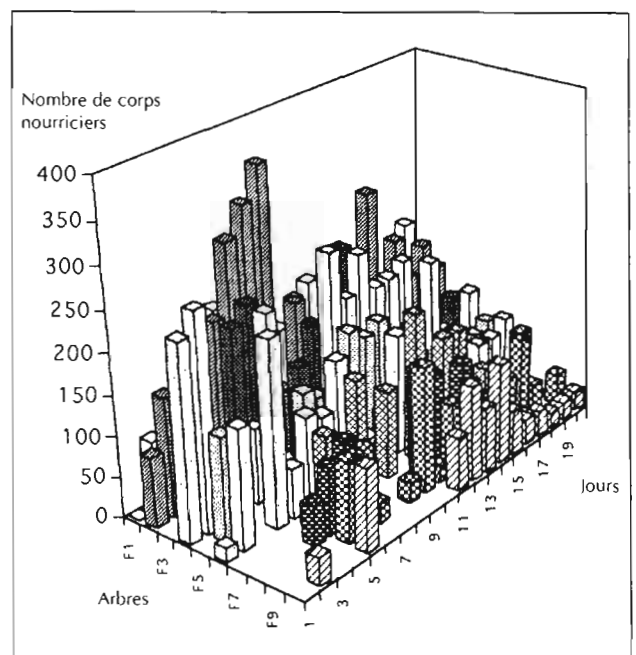


Figure 1. Production de corps nourriciers par *Cecropia obtusa* occupés par des *Azteca*, pendant 20 jours.

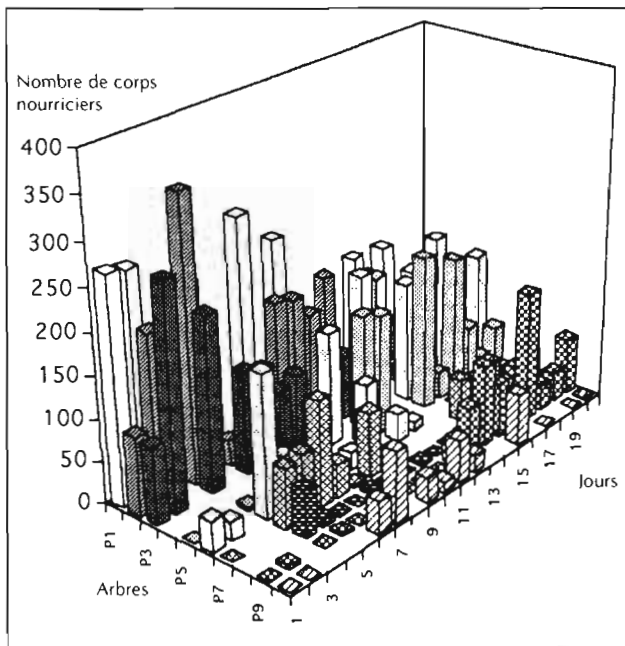


Figure 2. Production de corps nourriciers par *Cecropia obtusa* occupés par des chenilles, pendant 20 jours.

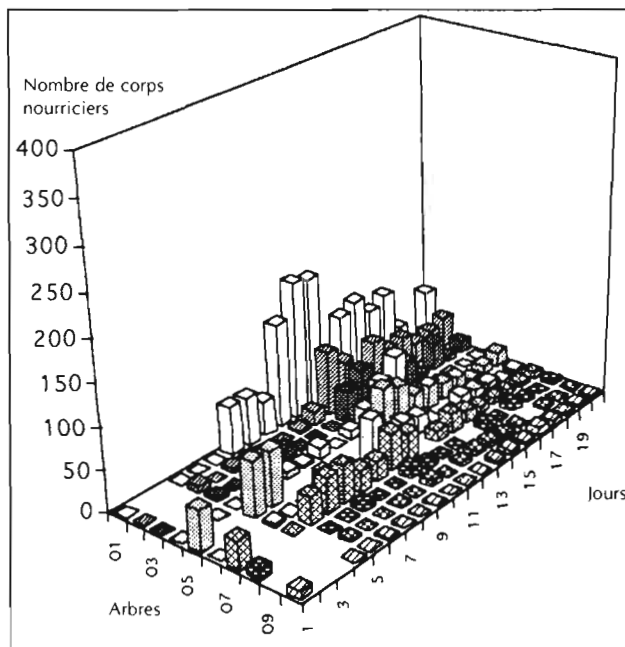


Figure 3. Production de corps nourriciers par *Cecropia obtusa* non occupés, pendant 20 jours.

non occupés (figure 3). La supériorité de la production des *Cecropia* occupés par les fourmis ou par les chenilles est manifeste. Cependant la production est maximale en présence des fourmis (en moyenne, plus

de cent corps nourriciers par jour et par feuille). Elle reste importante (70) lorsque les chenilles sévissent et diminue considérablement (19) lorsque le *Cecropia* est inoccupé. Cependant un écart de production de deux catégories d'arbres occupés par les chenilles apparaît. Les *Cecropia*, habités par les fourmis, montrent une croissance accélérée par rapport à ceux qui ne le sont pas (TOUZET, 1993), conséquence possible de la récupération de nutriments contenus dans les déchets des fourmis ou de l'utilisation du CO<sub>2</sub> accumulé dans les domaties. Cet apport énergétique pourrait également être responsable de l'accroissement de la production des corps de Müller. Dans une population presque monospécifique âgée de dix-huit mois (BELIN-DEPOUX *et al.*, 1995) avant l'occupation par les *Azteca*, la présence de chenilles de *Phycitinae* dans les entre-nœuds n'entraîne qu'exceptionnellement l'endommagement des feuilles, la consommation des corps nourriciers étant prioritaire. En l'absence de fourmis, le feuillage est donc protégé par les corps de Müller. Dans les *Cecropia* plus âgés, habités par les fourmis, les feuilles sont souvent endommagées. Cependant, la production foliaire accrue dans le cas des individus occupés compense la perte en surface photosynthétisante des feuilles adultes. Ainsi, une protection phénologique, conséquence de la modification physiologique de la plante, engendrée par la présence des fourmis, pourrait suppléer la protection biotique déficiente.

## Références bibliographiques

BELIN-DEPOUX M., DEJEAN A., CORBARA B., WICKERS S., PASCAL L., TOUZET M.-C., MC KEY D., DUREDON J., 1995. Les interactions plantes pionnières-fourmis en Guyane française. Rôle dans la protection biotique. Rapport programme SOFT 1993-94, 70 p.

SOLANO P., 1995. Dynamique du système *Cecropia obtusa* Trécul. (*Cecropiaceae*)-*Azteca* Emery (*Formicidae*) en Guyane française. DEA biologie des populations et éco-éthologie, université François RABELAIS, Tours, France, 29 p.

TOUZET M.-C., 1993. Biologie des *Cecropia guyanais*. Comportement des espèces myrmécophiles et non myrmécophiles dans le milieu naturel. DEA d'écologie générale et production végétale, université Paris VI, France, 32 p.

# Résistance du pin sylvestre au champignon *Ophiostoma ips* (naturellement associé au scolytide *Ips sexdentatus*), effets de diverses modalités de stress hydrique

L. CROISÉ<sup>(1) (2)</sup>, F. LIEUTIER<sup>(1)</sup>, E. DREYER<sup>(2)</sup>

(1) INRA, station de zoologie forestière, 45160 Ardon, France.

(2) INRA, unité de recherche écophysio-physiologie forestière, équipe de bioclimatologie et écophysio-physiologie forestière, 54280 Champenoux, France.

## Introduction

Les équipes de recherche, travaillant sur divers modèles « conifère hôte/scolytides et leurs champignons associés » aux Etats-Unis, en Scandinavie et en France, s'accordent pour attribuer à la fois une importance primordiale au système de défense localisé à proximité des points d'agressions (la réaction de défense induite) et au rôle prédisposant du stress hydrique sur les possibilités de défense naturelle des conifères hôtes lors d'attaques de scolytides. Toutefois, l'état des connaissances sur le rôle précis du stress hydrique, dans les dépérissements observés consécutivement à des périodes de sécheresse marquée, reste très insuffisant pour envisager des moyens d'actions efficaces en pareilles situations. Les mécanismes orientant la résistance sont ainsi quasiment inconnus. Cependant, le coût élevé de l'élaboration de la réaction induite (via les métabolites secondaires : terpènes et phénols) et la relation étroite entre la contrainte hydrique et le niveau de photosynthèse font que le concept des relations source-puits de carbone est souvent utilisé pour interpréter des résultats obtenus sur ces modèles d'étude. Les recherches entreprises sur le modèle *Pinus sylvestris*-*Ophiostoma ips* (un des champignons pathogène associé avec une fréquence élevée au scolytide *Ips sexdentatus*) visaient deux principaux objectifs : caractériser les variations de la réaction de défense induite (longueur et composition phénolique) pour différentes modalités de stress hydrique bien déterminées, et tenter de tester la relation entre le niveau de photosynthèse et la variabilité de la réaction.

## Etude des réactions aux déficits hydriques et aux inoculations

### Méthodes

De jeunes plants de pin sylvestre, âgés de six ans et installés en serre, ont été soit soumis à des périodes successives de déficit hydrique, soit constamment bien arrosés avant d'être inoculés avec le pathogène. Trois séries successives d'inoculations ont été réalisées sur les mêmes arbres, au tout début du dessèchement, au plus fort du déficit et immédiatement après réarrosage. L'état hydrique des plants a été mesuré fréquemment par le potentiel hydrique foliaire de base ( $\Psi_{wp}$ ), et l'assimilation nette de  $CO_2$  (A) a été mesurée deux fois par semaine pendant la période de croissance. A partir de ces données brutes d'assimilation photosynthétique, un indice de déficit cumulé d'assimilation nette de  $CO_2$  (DA) a été calculé entre les arbres stressés et les témoins pour mieux prendre en compte le facteur durée de développement de la réaction induite dans le liber. Trois semaines après inoculation, la longueur des réactions à la surface du liber a été mesurée individuellement. Une moitié longitudinale de chaque réaction a été prélevée pour déterminer l'extension du pathogène dans les tissus, et l'autre moitié a été congelée dans l'azote liquide pour le dosage des phénols par HPLC et par précipitation des protéines. Parallèlement à l'analyse des phénols présents dans les réactions, des dosages dans des échantillons de liber non réactionnel ont été

réalisés au moment des inoculations comme de la lecture des réactions.

## Résultats

Un stress hydrique modéré ( $\Psi_{wp} > -1,5$  MPa) a provoqué une augmentation de la longueur des réactions induites tandis qu'un stress plus important ( $\Psi_{wp} < -1,5$  MPa) a induit une diminution de cette longueur. Toutes les situations correspondant à des inoculations réalisées, soit au tout début d'une phase de dessèchement, soit juste après réarrosage, n'ont mis en évidence aucune différence entre les longueurs de réaction des arbres témoins et celles des arbres stressés. En outre, aucune relation n'a été observée entre le développement du pathogène dans la réaction et l'état hydrique de l'hôte. En première analyse, l'effet « stress hydrique » est faible sur les douze composés phénoliques étudiés. Il ressort néanmoins des résultats déjà traités, qu'une forte accumulation de catéchine et d'autres composés non identifiés (P8) est observée entre le liber sain et le liber réactionnel, indépendamment des traitements hydriques. On observe également que deux stilbènes (la pinosylvine et son monométhyléther) et une flavonoïde (la pinocembrine) apparaissent systématiquement dans la réaction induite. Enfin, pour un stress modéré, on observe dans la réaction, une forte augmentation des quantités d'un dérivé de l'acide hydroxycinnamique (l'ester de l'acide paracoumarique) et une augmentation moindre (non significative) des deux stilbènes. Dans les mêmes conditions, les deux flavonoïdes analysés — le glucoside de la taxifoline et la pinocembrine — présentent, comme la catéchine et le composé P8, une légère diminution dans la réaction induite des arbres stressés.

Une relation linéaire négative a été obtenue entre les variations de longueur de réaction des arbres stressés par rapport à celle des témoins et le déficit cumulé d'assimilation de  $CO_2$  calculé pendant le développement des réactions.

Les résultats marquants de cette étude montrent l'importance de l'intensité du stress hydrique sur les modifications de la longueur de la réaction induite, mais également du moment des agressions par rapport à la phase du cycle de dessèchement. Le pin sylvestre semble ainsi capable de moduler de manière très précise l'allocation d'énergie vers la réaction induite par le pathogène. En particulier, le retour à des conditions hydriques favorables après une période déficitaire en eau, intense mais courte, indique une très bonne faculté de récupération de ses mécanismes de défense. Ces résultats soulignent l'importance fondamentale de la synchronisation entre les périodes de déficit hydrique et l'existence des phases d'attaque des scolytes.

Les relations source-puits de carbone et les modifications de l'importance relative des différents puits en fonction du statut hydrique de l'hôte nous fournissent une trame utile pour interpréter nos résultats. L'augmentation de la longueur de la réaction induite lors d'une contrainte hydrique modérée peut ainsi résulter d'un report des assimilats carbonés des processus de croissance vers l'élaboration de la réaction tant que la photosynthèse reste appréciable. Au contraire, une contrainte hydrique plus forte induit à la fois un arrêt de la croissance et un arrêt de la photosynthèse, il n'est donc pas surprenant d'observer une diminution de la longueur de réaction. Ce type d'interprétation suppose que l'énergie utilisée pour l'élaboration de la réaction induite provient du flux courant d'assimilats photosynthétiques et non pas des réserves carbonées. La corrélation négative obtenue entre le déficit cumulé d'assimilation photosynthétique et la longueur de la réaction renforce effectivement cette hypothèse.

En terme purement statistique, les résultats sur les modifications de la composition phénolique dues aux stress semblent décevants. Le rôle majeur de ces métabolites secondaires dans la limitation du développement du pathogène suggérait en effet des variations de concentrations marquées dans la réaction en fonction du stress hydrique. Deux remarques peuvent cependant être faites : la première porte sur l'impact biologique réel des variations observées des concentrations en phénols. Une légère variation même non significative au sens statistique peut avoir un effet inhibiteur important sur le pathogène et par conséquent sur les dimensions de la réaction induite. Des tests biologiques en cours permettront d'évaluer le bien fondé de cette remarque (cf. communication de Bois E.). La deuxième remarque se rapporte au protocole de prélèvement des échantillons de liber. La moitié de la réaction dans le sens longitudinal a été analysée globalement. Des travaux récents montrent cependant l'existence d'un gradient de concentration en phénols depuis le point d'inoculation jusqu'à l'extrémité de la réaction visible. Une analyse globale peut donc entraîner un phénomène de dilution, ou une perte d'information susceptible de masquer des différences réelles dues au stress hydrique mais réduites par la procédure d'échantillonnage.

## Conclusion

Nos travaux permettent de considérer le pin sylvestre comme beaucoup mieux armé contre le pathogène étudié pendant un stress hydrique que ne le laissait supposer la littérature forestière fondée sur des observations de terrain. Enfin, les relations source-puits de carbone semblent effectivement être très utiles dans l'analyse de la variabilité de la résistance du pin sylvestre lors d'une contrainte hydrique.

# Influence du statut hydrique de jeunes pommiers en pots sur l'abondance de l'araignée rouge *Panonychus ulmi*

M.-H. SAUGE, G. FAUVEL

INRA-ENSAM-ORSTOM, UFR d'écologie animale et de zoologie agricole, section d'acarologie,  
2 place Viala, 34060 Montpellier Cedex 1, France.

## Problématique

Les pullulations d'acariens phytophages sont généralement observées en période de forte chaleur et de sécheresse. A partir de ce constat, diverses expérimentations en conditions contrôlées ont été réalisées pour évaluer l'influence du stress hydrique sur la dynamique des populations d'acariens. Parmi les nombreux couples étudiés, seuls *Tetranychus urticae* Koch sur soja et *Panonychus ulmi* (Koch) sur pommier répondent négativement au stress hydrique.

## Objectifs

Il s'agit de confirmer l'effet du statut hydrique de jeunes pommiers en pot sur l'abondance de l'araignée rouge, avec une attention particulière portée aux modifications microclimatiques foliaires de la plante hôte.

## Matériel et méthodes

### Dispositif

Les pommiers d'un an sont greffés et plantés en pot de 30 litres sous tunnel plastique ; trois traitements d'irrigation sont appliqués : 33 %, 66 % et 100 % de la capacité au champ (CC), quantité d'eau ajustée tous les deux jours par pesée ; chaque traitement répété 26 fois dans un dispositif complet randomisé. La durée de l'expérimentation est de trois semaines.

## Mesures sur le végétal

Les mesures effectuées sur pommier sont les suivantes :

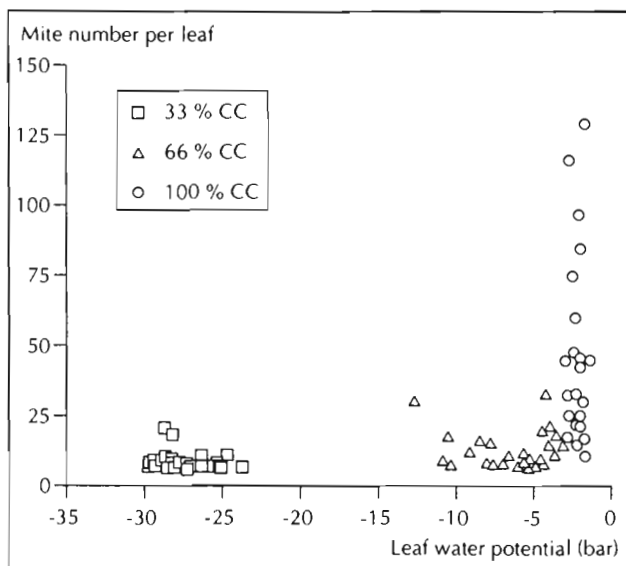
- potentiel hydrique foliaire de base, avec chambre de Scholander, deux fois par semaine ;
- la conductance stomatique, avec poromètre à diffusion de vapeur, une fois par semaine ;
- la teneur en eau, par dessiccation à 130 °C à la fin de l'expérimentation ;
- la température foliaire avec thermocouples connectés à un enregistreur automatique. Cette mesure est effectuée toutes les trois minutes sur une période de vingt-quatre heures.

## Suivi des populations de *P. ulmi*

Sur chaque arbre expérimental, l'infestation est contrôlée par dépôt de trois femelles adultes par feuille, avec trois feuilles par arbre. Chacune de ces trois feuilles est prélevée respectivement 1, 2 et 3 semaines après le jour de dépôt et le nombre d'acariens (œufs, immatures et adultes) est compté sous loupe binoculaire.

## Résultats

Les résultats sont mentionnés dans les tableaux I et II et dans la figure 1.



**Figure 1.** Relation entre le potentiel hydrique foliaire de base et le nombre d'acariens par feuille trois semaines après infestation en fonction des traitements hydriques appliqués.

## Discussion

Dans la littérature, il existe deux hypothèses pour expliquer l'effet positif du stress hydrique sur les populations :

– l'accroissement de la vitesse de développement via celui de la température foliaire ;

– l'amélioration des qualités nutritionnelles de la plante via l'augmentation de la quantité de solutés (osmorégulation).

Dans la situation étudiée, on se trouve en présence des conditions suivantes :

– un stress hydrique défavorable ;

– une relation non linéaire (figure 1) avec un seuil de potentiel hydrique (-5 bars), en deçà duquel les populations sont très réduites. L'explication possible est que la plupart des processus physiologiques et biochimiques chez les plantes stressées sont affectés dans la fourchette 0 et -10 bars (HSIAO, 1973) ;

– dans la couche limite foliaire, la diminution de l'hygrométrie des arbres stressés apparaît plus déterminante que l'accroissement de la température. Le comportement de ponte est modifié. La proportion d'œufs en face inférieure (présence de stomates) augmente avec le stress hydrique. La troisième semaine, la conductance stomatique explique 49 % de la variance du nombre d'acariens (régression non linéaire) ;

– des difficultés pour dissocier les effets des facteurs abiotiques de ceux des facteurs biochimiques. Dans la littérature, on trouve peu ou pas de résultats significatifs concernant les produits azotés et les sucres. Quel est le rôle possible de l'acide abscissique ? La structure chimique est proche de celle de la *JH* (*Juvenil hormone*), elle servirait chez les criquets de signal pour synchroniser la reproduction de l'insecte avec l'état physiologique de la plante hôte (VISSCHER-NEUMANN, 1980).

**Tableau I.** Moyenne des mesures réalisées sur les pommiers en pots selon les différents traitements hydriques.

| Mesures effectuées                     | Traitement hydrique |               |               | F       |
|--|---------------------|---------------|---------------|---------|
|  | 33 % CC             | 66 % CC       | 100 % CC      |         |
| Potentiel hydrique (bar)               | -27,7 ± 1,7 a       | -6,6 ± 2,6 b  | -2,1 ± 0,5 c  | 1 420,2 |
| Conductance stomatique (cm/s)          | 0,014 ± 0,027 a     | 0,23 ± 0,19 b | 1,34 ± 0,62 c | 92,9    |
| Teneur relative en eau (% poids frais) | 55,1 ± 2,6 a        | 57,3 ± 2,3 b  | 58,1 ± 2,4 b  | 10,2    |
| Température foliaire diurne (°C)       | 30,4 ± 1,1 a        | 28,9 ± 1,2 b  | 28,9 ± 0,8 b  | 5,5     |

CC : capacité au champ.

Les moyennes (± écart-type) suivies d'une même lettre sur une même ligne ne sont pas significativement différentes à  $P \leq 0,05$ , test de Duncan.

**Tableau II.** Nombre moyen (log(n+1)) d'acariens par feuille, 1, 2 et 3 semaines après infestation.

| Dates de mesure | Traitement hydrique |                |               | F    |
|-----------------|---------------------|----------------|---------------|------|
|                 | 33 % CC             | 66 % CC        | 100 % CC      |      |
| Semaine 1       | 0,98 ± 0,41 a       | 1,10 ± 0,33 ab | 1,25 ± 0,27 b | 4,1  |
| Semaine 2       | 0,59 ± 0,35 a       | 0,92 ± 0,32 b  | 1,19 ± 0,36 c | 19,4 |
| Semaine 3       | 0,26 ± 0,35 a       | 0,68 ± 0,43 a  | 1,49 ± 0,34 b | 72,3 |

Les moyennes (± écart-type) suivies d'une même lettre sur une même ligne ne sont pas significativement différentes à  $P \leq 0,05$ , test de Duncan.

## Références bibliographiques

HSIAO T.C., 1973. Plant response to water stress. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 24 : 519-570.

VISSCHER-NEUMANN S., 1980. Regulation of grasshopper fecundity, longevity and egg viability by plant growth hormones. *Experientia* 36 : 130-131.



# Composition biochimique de la sève phloémienne de la luzerne et performances du puceron du pois : effet d'un déficit hydrique

C. GIROUSSE

INRA, laboratoire de zoologie, 86600 Lusignan, France.

## Introduction

Les modifications de la physiologie des végétaux liées à des déficits hydriques ont fait l'objet de nombreux travaux (BRADFORD et HSIAO, 1982), mais les études sur les conséquences de telles modifications sur les relations entre les plantes hôtes et les insectes sont moins nombreuses. En particulier, les résultats d'un déficit hydrique subi par les plantes hôtes sur le développement des aphides se sont révélés contradictoires, entraînant parfois une augmentation des populations de pucerons (ZUNIGA et CORCUERA, 1986) et d'autres fois une diminution (DE VRIES et MANGLITZ, 1982). Bien qu'une étude comparative de ces différents travaux soit délicate en raison de la rareté des précisions expérimentales portant en particulier sur l'application des déficits hydriques, il semble ressortir de ces quelques travaux que les effets d'un déficit hydrique des plantes hôtes sur le développement des aphides dépendent de plusieurs facteurs :

- du système plante-aphide ;
- de la façon dont se développe le déficit hydrique (intermittent ou continu) ;
- du temps passé par les pucerons sur les plantes stressées ;
- de l'âge de l'organe végétal sur lequel les pucerons sont suivis.

En outre, les études tentant d'élucider les mécanismes qui conduisent à des changements de la physiologie de la plante aux modifications des populations de pucerons sont encore moins nombreuses. Une des hypothèses est qu'un déficit hydrique subi par la plante hôte altère la composition biochimique de la sève phloémienne de la plante (réel substrat alimen-

taire des aphides), entraînant ainsi une modification du taux de multiplication des pucerons. Dans ce cadre, ce travail avait pour objectif d'étudier les caractéristiques biologiques d'*Acyrtosiphon pisum* sur des plantes de luzerne déficitaires en eau et de les relier aux variations concomitantes de la composition biochimique des plantes stressées hydriquement.

## Matériels et méthodes

Les plantes de *Medicago sativa* utilisées sont des boutures d'un clone d'un hybride Flamand Douze. Elles sont entretenues en serre jusqu'à leur utilisation en conditions contrôlées (20 °C, 16 h de photophase) où elles sont transférées à l'âge de six mois. Elles sont utilisées au stade végétatif (5-8 entre-nœuds). Les plantes sont réparties en deux lots : les plantes témoins sont arrosées quotidiennement *ad libitum* ; les plantes stressées hydriquement sont arrosées avec un volume d'eau diminué de moitié chaque jour jusqu'au total arrêt de l'arrosage. L'état hydrique des plantes est évalué par mesure du potentiel hydrique de base ( $\Psi$ ) de feuilles trifoliolées adultes à l'aide d'une chambre à pression (SCHOLANDER *et al.*, 1965), soit juste après la collecte de la sève, soit les différents jours de relevés des performances aphidiennes. La sève phloémienne est collectée par stylectomie et les teneurs en saccharose et en acides aminés libres totaux sont mesurées (GIROUSSE *et al.*, 1991). Indépendamment, le développement des aphides est étudié par des tests d'antibiose. Les aphides dont on suit les caractéristiques biologiques sont des virginopares adultes aptères de *Acyrtosiphon pisum* Harris élevés

en conditions contrôlées. On évalue sur quatorze jours (aux jours J, J + 7, J + 14) le poids des adultes installés individuellement sur des tiges appartenant aux deux lots de plantes. On évalue à ces mêmes dates la fécondité des adultes ainsi que le poids de leur descendance et les éventuelles mortalités.

## Résultats

Les plantes témoins présentent un potentiel hydrique compris entre -0,3 et -0,5 MPa et les plantes stressées hydriquement, un potentiel hydrique compris entre -0,55 et -1,9 MPa. Un tel déficit hydrique entraîne une diminution de la vitesse moyenne d'élongation des tiges de plus de 50 % après quatorze jours d'expérimentation (GIROUSSE, 1992).

## Déficit hydrique et performances aphidiennes

Quelle que soit la semaine d'expérimentation considérée, ni le poids des adultes, ni leur fécondité ne sont affectées par le déficit hydrique de la plante hôte (tableau I). Si la biomasse larvaire est identique entre traitements au jour J + 7 de l'expérience, elle est au jour J + 14, significativement ( $P > F = 0,03$ ) plus faible sur les plantes ayant subi un stress hydrique que sur les plantes témoins. De plus, la survie des aphides installés sur les différentes plantes n'est pas significativement modifiée (tableau I).

Il faut préciser que lors d'une expérience conduite de manière indépendante, sur treize jours, en conditions contrôlées et sur des plantes dont le potentiel hydrique variait de -0,3 MPa (plantes non déficitaires) à -1,3 MPa, nous avons trouvé des résultats similaires alors même que le déficit hydrique était appliqué postérieurement (72 h) à l'infestation aphidienne (BADENHAUSSER *et al.*, 1994). En effet, le seul paramètre aphidien affecté de manière significative après treize jours d'expérience est la biomasse totale.

## Déficit hydrique et composition biochimique de la sève phloémienne

En ce qui concerne le saccharose, plus la plante subit une contrainte hydrique intense, plus la sève phloémienne s'enrichit en saccharose. De plus, quand le potentiel hydrique diminue de -0,3 à -1,9 MPa, on note une augmentation significative de la teneur en acides aminés totaux, liée à l'augmentation en certains acides aminés (figure 1) : Pro, Val, Ile, Leu, Glu, Asp, Thr (par ordre décroissant d'augmentation). La teneur en asparagine et celles des autres acides aminés restent stables. L'augmentation la plus spectaculaire est celle de la proline dont la concentration est multipliée par 60 quand le potentiel hydrique baisse de -0,9 à -1,9 MPa. Sur le plan qualitatif, le spectre des acides aminés reste semblable à celui décrit en conditions de non contrainte.

## Conclusion

Ce travail nous permet de constater qu'en conditions de *mild stress*, les performances biologiques mesurées du puceron du pois sur luzerne ne sont pas affectées, hormis la biomasse larvaire à la fin de la seconde semaine d'expérimentation (ce dernier élément constituant peut être le début d'une réponse).

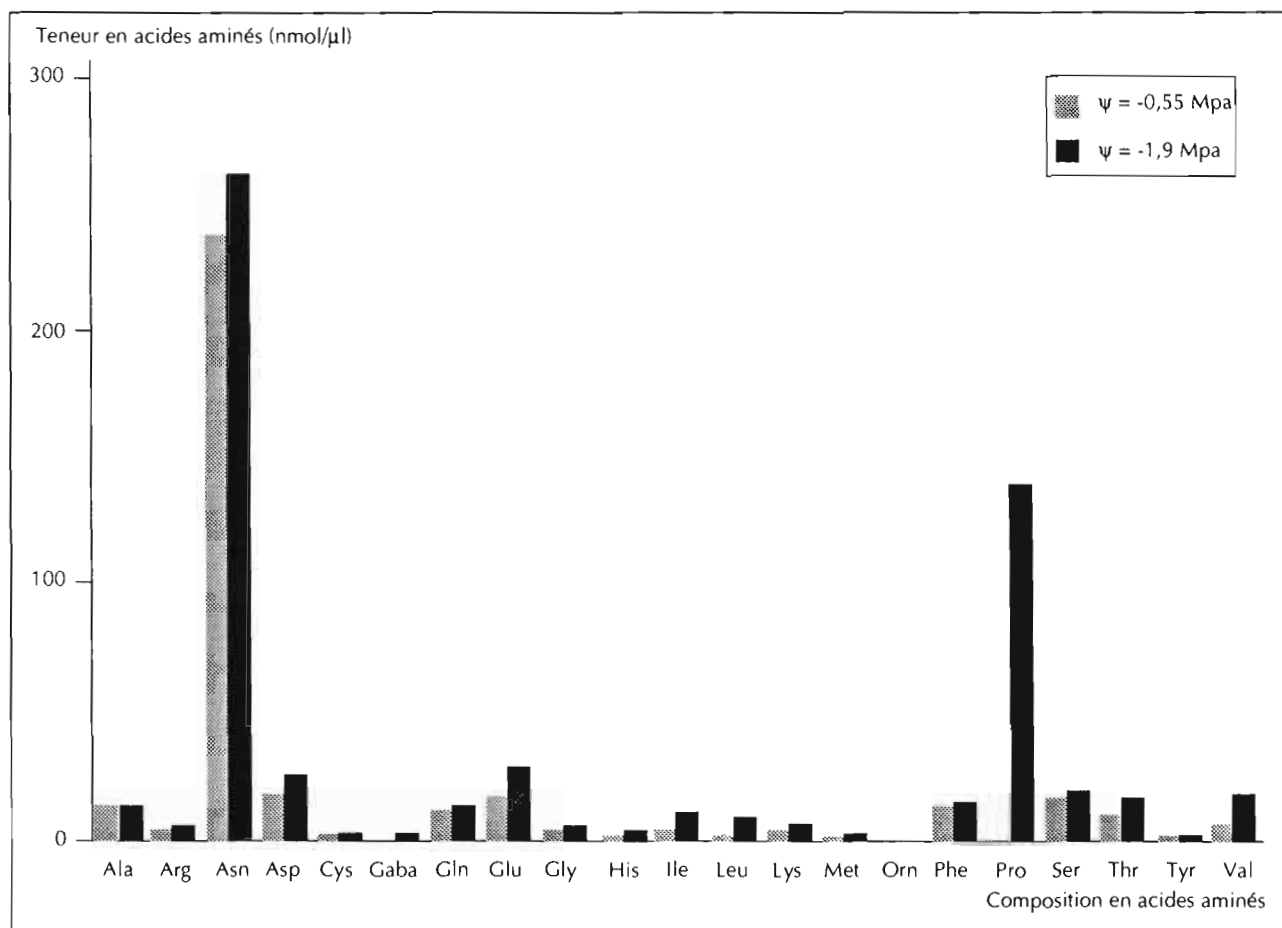
Plusieurs hypothèses sont avancées pour expliquer la quasi absence de réponse du puceron du pois à un déficit hydrique ( $\Psi$  compris entre -0,6 MPa et -1,9 MPa) de sa plante hôte :

- une réelle absence de relation entre teneurs en sucres et en acides aminés et performances des pucerons. Cette hypothèse est étayée par une étude de la résistance variétale de la luzerne au puceron du pois qui n'a pas mis en évidence de lien entre la composition en sucres et en acides aminés de la sève phloémienne de différents génotypes de luzerne et leur sensibilité au puceron (GIROUSSE et BOURNOVILLE, 1994) ;

**Tableau I.** Caractéristiques biologiques (exprimées par individu survivant) d'*A. pisum* sur des luzernes témoins ou déficitaires en eau (moyenne  $\pm$  écart-type).

| Traitement  | Poids de l'adulte (mg) |           |           | Biomasse larvaire (mg) |            | Fécondité (♀/♀) |            |            |            |
|-------------|------------------------|-----------|-----------|------------------------|------------|-----------------|------------|------------|------------|
|             | Date                   | J         | J + 7     | J + 14                 | J + 7      | J + 14          | J + 7      | J + 14     | Totale     |
| Témoins     |                        | 2,9 a     | 3,5 a     | 2,6 a                  | 45,9a      | 42,7 a          | 58,6 a     | 44,0 a     | 102,6 a    |
| Ecart-type  |                        | $\pm 0,4$ | $\pm 0,7$ | $\pm 1,4$              | $\pm 15,2$ | $\pm 17,3$      | $\pm 10,2$ | $\pm 11$   | $\pm 17,3$ |
| Déficitaire |                        | 3,0 a     | 3,5 a     | 2,2 a                  | 49,4 a     | 32,7 b          | 55,5 a     | 43,4 a     | 98,9 a     |
| Ecart-type  |                        | $\pm 0,5$ | $\pm 0,9$ | $\pm 0,8$              | $\pm 10,6$ | $\pm 14,2$      | $\pm 9,2$  | $\pm 10,2$ | $\pm 14,7$ |

Par colonne, les moyennes suivies d'une même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 5 %.



**Figure 1.** Composition en acides aminés de la sève phloémienne de deux tiges de luzerne ayant des déficits hydriques très différents.

- une insuffisance (en termes qualitatifs et quantitatifs) des variations de composition de la sève phloémienne induites par le déficit ;
- une compensation d'une moindre ingestion de sève (vitesse d'exsudation diminuée) par une augmentation de sa qualité (augmentation des teneurs globales en sucres et en acides aminés).

## Références bibliographiques

- BADENHAUSSER I., BOURNOVILLE R., DEVAL R., DURAND J.-L., LERIN J., 1994. Pea aphid (*Homoptera : Aphididae*) and water deficit interaction on alfalfa stem growth. *J. Econ. Entomol.* 87 : 1 689-1 695.
- BRADFORD K.J., HSIAO T.C., 1982. Physiological Responses to moderate water stress. In *Encyclopedia of Plant Physiology*, NS Vol. 12B. O.L. LANGE, NOBEL P.S., OSMOND C.B., ZIEGLER H. (Eds), Springer Verlag, New York, Etats-Unis, p. 263-324.
- GIROUSSE C., 1992. Composition en sucres et en acides aminés de la sève phloémienne de la luzerne (*Medicago sativa* L.) : effets de facteurs écophysio-logiques et conséquences sur les relations luzerne / puceron du pois (*A. pisum* Harris). Thèse de doctorat, université de Poitiers, France, 136 p.
- GIROUSSE C., BOURNOVILLE R., 1994. Role of phloem sap quality and exudation characteristics on performance of pea aphid grown on lucerne genotypes. *Entomol. Exp. Appl.* 70 : 227-235.
- GIROUSSE C., BONNEMAIN J.-L., DELROT S., BOURNOVILLE R., 1991. Sugar and amino acid composition of phloem sap of *Medicago sativa* : a comparative study of two collecting methods. *Plant Physiol. Biochem.* 29 : 41-49.
- SCHOLANDER P.F., HAMMEL H.T., BRADSTREET E.D., HEMMINGSEN E.A., 1965. Sap pressure in vascular plants. Negative hydrostatic pressure can be measured in plants. *Science* 148 : 339-346.
- DE VRIES NEL, MANGLITZ G.R., 1982. Spotted alfalfa aphid (*Therioaphis maculata*) (*Homoptera : Aphididae*) : water stress, amino acid content and plant resistance. *J. Kans. Entomol. Soc.* 55 : 57-64.
- ZUNIGA G.E., CORCUERA L.J., 1987. Glycine-betaine in wilted barley reduces the effects of gramine on aphids. *Phytochemistry* 26 : 3 197-3 200.

# Influence de l'état physiologique du colza sur le potentiel reproducteur de deux charançons phytophages

J. LERIN

INRA, centre de Poitou-Charentes, laboratoire de zoologie, 86600 Lusignan, France.

## Introduction

Le colza, *Brassica napus* L., var. *oleifera* Metzger, est une crucifère originaire de l'ancien monde associée à un cortège de ravageurs spécialistes nombreux et bien adaptés à leur plante hôte. Le terme bien adapté signifie que l'insecte peut exploiter au maximum la plante sans empêcher sa pérennité, c'est-à-dire sa multiplication. De son côté, la plante alloue une partie non négligeable de son potentiel à la tolérance aux insectes. En termes plus agronomiques, l'indice de récolte est faible.

C'est la raison pour laquelle on a souvent constaté que la plupart des insectes adaptent leur ponte à la vigueur de la plante. Le charançon de la tige, *Ceutorhynchus napi* Gyll., pond plus d'œufs dans les plantes massives, dont le métabolisme, mesuré par thermoluminescence, est le plus actif (DMOCH et LAGOWSKA, 1978). Le méligèthe du colza, *Meligethes aeneus* F., est plus abondant sur les plantes à fort potentiel que sur les autres (LARSEN *et al.*, 1985). Le baris du colza, *Baris coerulescens* Scop., ravageur des racines, adapte également sa ponte à la vigueur de la plante, mesurée par son diamètre au collet (KOUBAITI, 1992 ; KOUBAITI et LERIN, 1992) et la relation est *density dependent* (LERIN et KOUBAITI, 1995). Enfin, on constate une corrélation forte ( $R^2 = 0,52$ ) entre le nombre de siliques et le nombre de larves par plante chez le charançon des siliques, *Ceutorhynchus assimilis* Payk. (LERIN, 1982).

Mais d'autres facteurs que la taille (vigueur) de la plante — qui agit sur la répartition des œufs — peuvent avoir une influence directe sur la fécondité

globale des insectes et leur comportement de ponte. Par exemple, la durée de floraison chez *C. assimilis* ou le potentiel hydrique de la plante sur l'ovogenèse de *B. coerulescens*.

## Matériel et méthodes

Des expériences en cage ont été menées pour évaluer la fécondité des femelles de *C. assimilis* en fonction de la durée de la floraison. Des plantes, cultivées en pot ou en pleine terre, placées dans des cages grillagées, ont été infestées artificiellement avec des insectes prélevés dans la nature au moment du vol d'infestation. On a noté la durée de floraison moyenne d'une cage et le nombre de trous de sortie (soit le nombre de larves par cage).

Des expériences en chambre de culture ont été conduites, à 20 °C, avec une photopériode de 16 h, pour évaluer l'influence d'un stress hydrique sur la ponte et la production ovarienne de *B. coerulescens*. Des pivots de plantes arrosées ou non arrosées pendant quatre ou huit jours ont été présentés à des couples de baris pendant quatre jours. Le pivot a été renouvelé pour une deuxième période de quatre jours. Les pivots étaient repiqués dans de la vermiculite humide, permettant une réhydratation partielle, ou dans de la vermiculite sèche, aggravant le dessèchement du pivot. Enfin des couples, ayant subi pendant huit jours des plantes stressées pendant huit jours, ont été remis durant quatre jours sur des pivots témoins arrosés.

## Résultats

Le charançon des siliques pond de préférence dans les siliques jeunes, juste après la chute des pétales. Les siliques âgées, de taille supérieure à 5 cm, inhibent la ponte (LERIN, 1991). Une floraison lente, fournissant de jeunes siliques sur une longue période pourrait donc être plus favorable à une fécondité abondante des femelles. Ces conditions permettront également une production ovarienne soutenue, les femelles se nourrissant sur des organes jeunes lors du forage du trou de ponte. C'est bien ce que l'on constate : plus la durée de floraison est longue, plus la fécondité du charançon des siliques augmente. Il existe une fécondité minimale d'environ 50 œufs, obtenue avec des floraisons de quatre semaines et une fécondité maximale d'environ 200 œufs pour une durée de floraison de huit semaines environ (figure 1). Des infestations différées en cours de floraison, la même année, induisent également une réduction de la fécondité des insectes : les triangles sur la figure 1 correspondent à trois dates d'infestation. Les insectes ayant été maintenus à basse température, la diminution de la fécondité n'est pas due au vieillissement des femelles. Ce résultat explique pourquoi, dans les zones où du colza de printemps est cultivé en même temps que du colza d'hiver (la floraison des deux types étant décalée), les

problèmes liés à ce ravageur sont beaucoup plus importants que dans les zones où seul le colza d'hiver est cultivé. Cela confirme que la sélection du colza pour la production humaine a réduit la durée de la floraison par rapport aux crucifères sauvages, comme les ravenelles (plante hôte alternative du charançon des siliques), dont la floraison commence avant celle du colza et finit bien après, comme on peut le constater dans les champs où elles sont présentes.

Le baris introduit ses œufs un par un dans la plante au niveau du collet ou dans la partie supérieure de la racine, sous l'épiderme, après avoir consommé le végétal pour dégager une cavité. La femelle peut donc, pour chaque œuf, estimer la qualité hydrique de la plante. En conditions sèches, l'insecte tend à pondre de plus en plus bas sur la racine, probablement pour retrouver un environnement hydrique qui lui convienne mieux.

La ponte sur quatre jours du baris diminue en fonction du stress hydrique des plantes. La réduction de la ponte est plus marquée lors de la deuxième période de quatre jours (figure 2), la réduction étant d'autant plus forte que le stress est important comme on peut le voir pour les plantes stressées huit jours et repiquées dans de la vermiculite sèche. Cela s'explique par le fait que la production ovarienne, après huit jours passés sur les plantes stressées, est stoppée ou

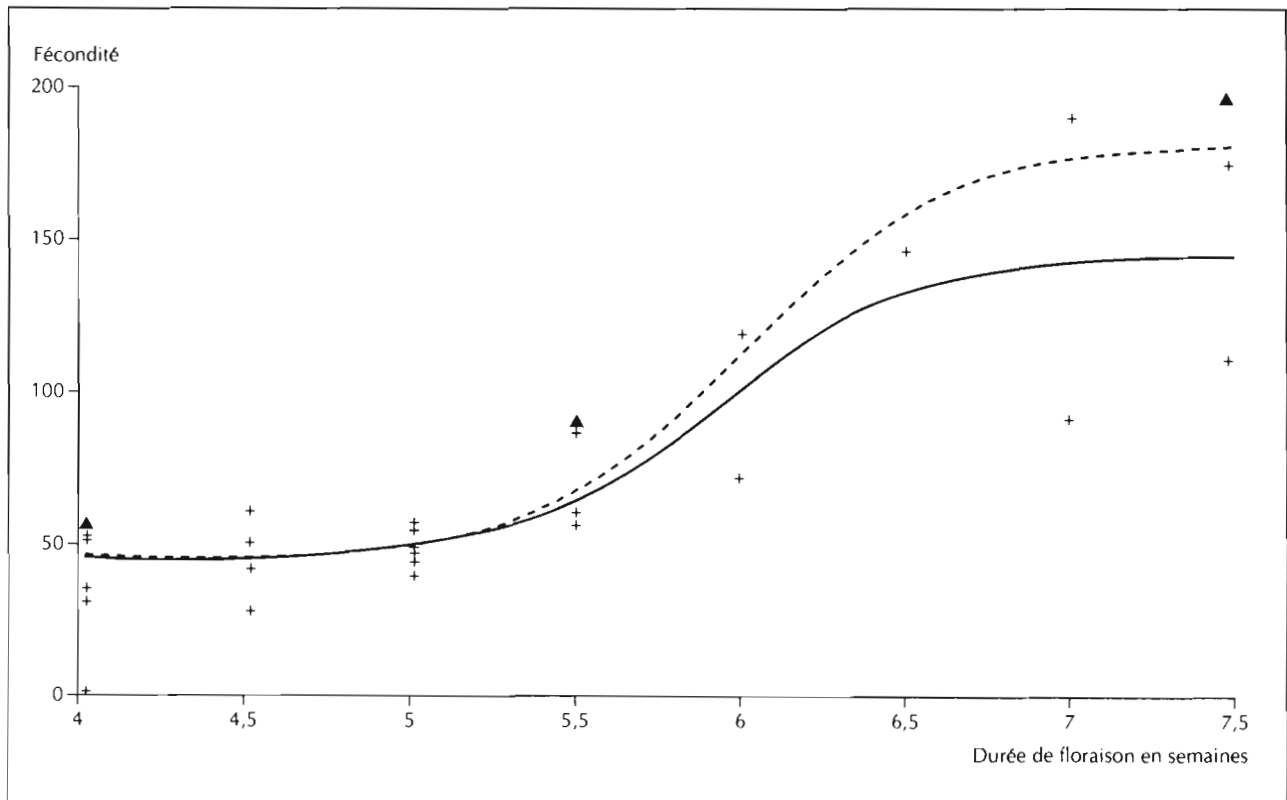


Figure 1. Relation entre la durée de floraison et la fécondité (▲ : points supplémentaires de 1978).

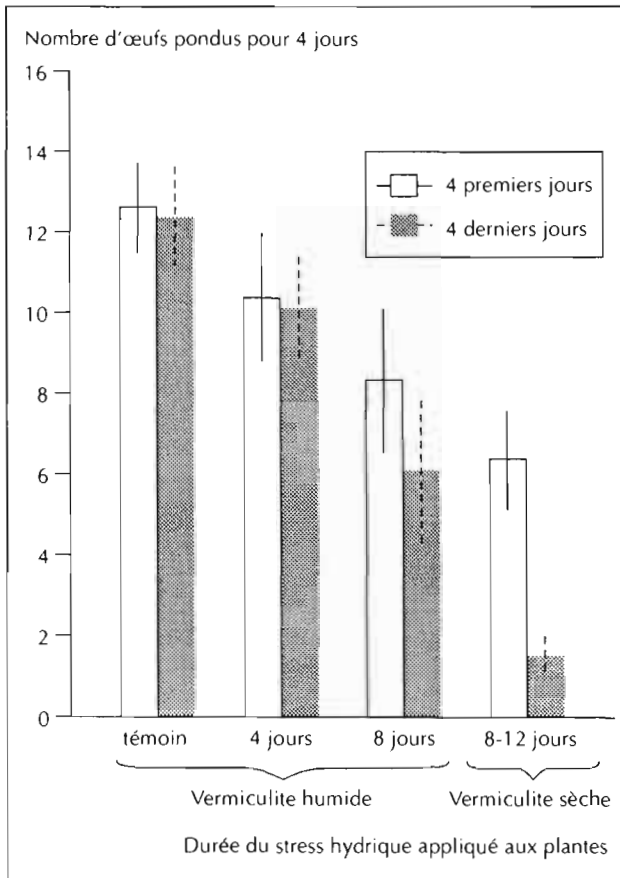


Figure 2. Ponte de *B. coerulescens* en fonction du stress hydrique des plantes (moyenne  $\pm$  erreur standard).

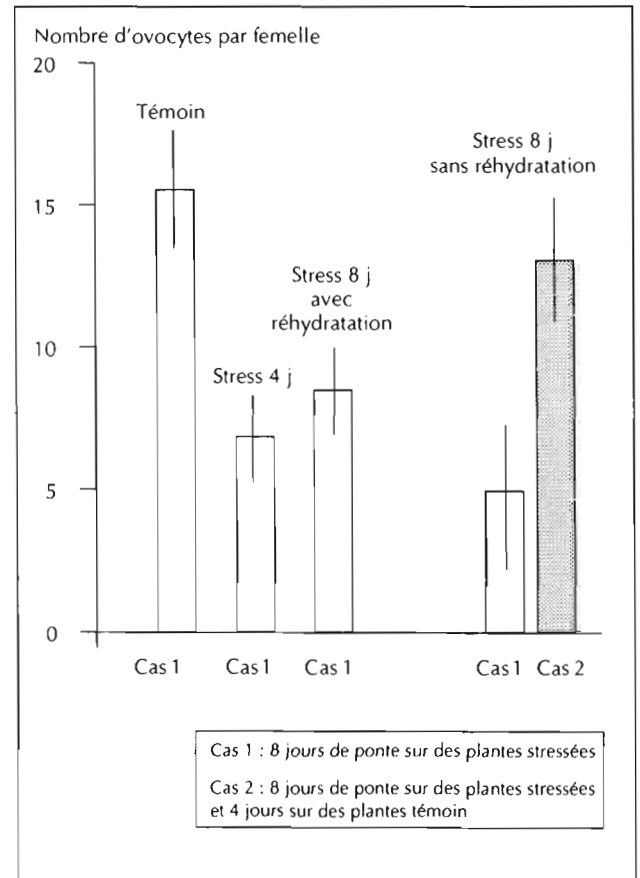


Figure 3. Production d'ovocytes en fonction du stress de la plante hôte (moyenne  $\pm$  erreur standard).

fortement diminuée, le nombre d'ovocytes présents dans les voies génitales des femelles, constaté après dissection, est plus faible que dans les témoins régulièrement arrosés (figure 3). Ce phénomène est rapidement réversible, en moins de quatre jours, chez les insectes qui survivent au stress hydrique le plus drastique (50 % de survie) (figure 3, à droite). La réduction de la ponte déposée dans les plantes en fonction du déficit hydrique a pu être également constatée en conditions naturelles.

Cette adaptation de la ponte aux conditions hydriques permet une meilleure survie des œufs. Cette hypothèse a été confirmée par la comparaison du taux d'éclosion d'œufs posés sur du papier filtre humide ou sec en boîte de Pétri.

On peut voir sur ces deux exemples d'effet de la plante hôte sur la fécondité que, dans un cas, l'insecte est en présence d'un artefact humain, qui l'empêche le plus souvent de réaliser sa fécondité potentielle, alors que, dans l'autre cas, on est en présence d'une adaptation efficace permettant apparemment la survie du plus grand nombre de descendants. En fait, dans le cas du baris et parce que le développement larvaire est lent et nécessite des températures

supérieures à 10 °C, la sélection a également perturbé la stratégie en réduisant la durée du cycle de la plante pour obtenir des récoltes précoces. La plupart du temps, seuls les premiers œufs pondus pourront donner des larves suffisamment âgées pour se nymphoser avant la récolte. La récolte crée, de plus, un choc thermique et provoque le dessèchement très rapide des pivots restés dans le sol entraînant la mortalité de toutes les jeunes larves issues d'œufs pondus tardivement.

## Références bibliographiques

- DMOCH J., LAGOWSKA A., 1978. Investigations on the cabbage weevil (*Ceuthorrhynchus napi* Gyll.). II. Insect-plant relationships and influence on the yield of winter rape (en polonais). Roczn. Nauk. Roln., ser. E 8 (2) : 137-150.
- KOUBAITI K., 1992. Reproduction, développement et nuisibilité de *Baris coerulescens* Scop. (Col., Curculionidae) au contact du colza (*Brassica napus* variété oleifera). Thèse de doctorat, université F. RABELAIS, Tours, France, 85 p.

KOUBAITI K., LERIN J., 1992. Fecundity and egg laying dynamics of *Baris coerulescens* on oilseed rape: effect of cultivar and plant size, in controlled conditions. J. Appl. Ent. 114 : 289-297.

LARSEN L. M., NIELSEN J.K., PLOGER A., SORENSEN H., 1985. Responses of some beetles species to varieties of oilseed rape and to pure glucosinolates. In Advances in the production and utilization of cruciferous crops. SORENSEN (Ed.) Gravenhage, Martinus NIJHOFF, Dr W. JUNK Publishers, p. 230-244.

LERIN J., 1982. Estimation de l'action du charançon des siliques (*Ceuthorrhynchus assimilis* Payk.) sur la productivité du colza d'hiver. I. Aspects méthodologiques. Agronomie 2 (10) : 1 005-1 014.

LERIN J., 1991. Influence de la phénologie de la plante hôte sur la reproduction de *Ceuthorrhynchus assimilis* Payk. J. Appl. Ent. 111 : 303-310.

LERIN J., KOUBAITI K., 1995. Effect of temperature and plant size on the infestation dynamics of oilseed rape plants by *Baris coerulescens* Scop. (Col., Curculionidae) in fields conditions. J. Appl. Ent. 119 : 149-156.

# La vigueur accroît la sensibilité du pin maritime à la pyrale du tronc, *Dioryctria sylvestrella*

H. JACTEL, P. MENASSIEU, M. KLEINHERT

INRA, laboratoire d'entomologie forestière, Pierroton, BP 45, 33611 Gazinet Cedex, France.

## Introduction

Un consensus semble prévaloir chez les forestiers pour considérer que toute sylviculture qui tend à accroître la vigueur des arbres favorise la résistance des peuplements aux attaques parasites. Cette conviction est sans doute justifiée pour un certain nombre de xylophages secondaires ou de défoliateurs pour lesquels l'ampleur des dégâts dépend des réserves énergétiques mobilisables par l'arbre pour se défendre. Mais de nombreux exemples montrent au contraire une augmentation des attaques sur des arbres de fort diamètre (scolytes) ou de croissance rapide (tordeuses, hylobes). La sensibilité accrue de ces arbres est souvent interprétée comme la conséquence d'une augmentation de la quantité et de la qualité des tissus nourriciers qui favoriserait la survie larvaire. Nous voudrions présenter un insecte ravageur pour lequel la vigueur favoriserait également l'attractivité et donc la sélection de l'arbre hôte.

## Observations

Les peuplements de pin maritime en lande humide, moins soumis au stress hydrique et manifestant une forte productivité forestière, sont trois fois plus attaqués que les peuplements en lande sèche (figure 1).

Le taux d'infestation des peuplements augmente significativement avec leur vigueur, définie comme l'accroissement annuel en surface des cernes (à 1,3 m) des arbres (figure 2).

A l'intérieur d'un même peuplement, les arbres les plus vigoureux sont préférentiellement attaqués (figure 3).

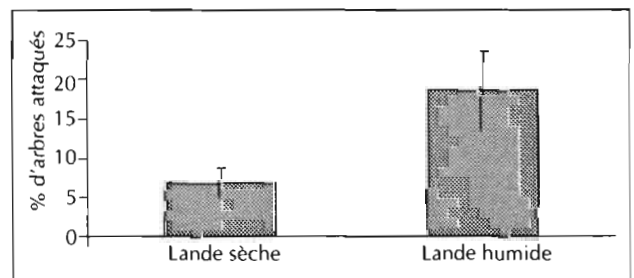


Figure 1. Type de lande et taux d'infestation des peuplements par *Dioryctria sylvestrella* (12 parcelles).

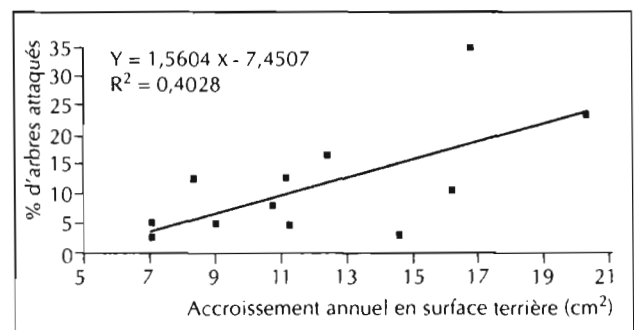
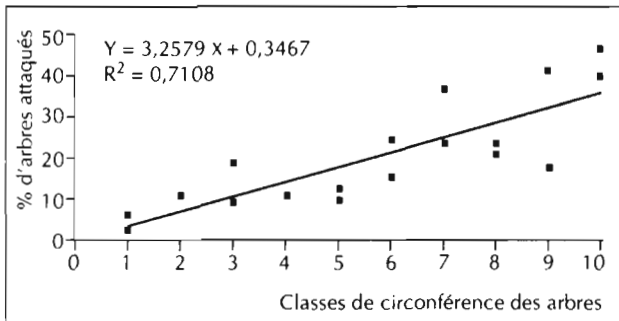


Figure 2. Vigueur et taux d'infestation des peuplements par *Dioryctria sylvestrella* (12 parcelles suivies sur 4 ans).





**Figure 3.** Taux d'infestation par *Dioryctria sylvestrella* par classe de circonférence, dans un peuplement de 15 ans en lande humide.

La présence d'attaques plus fréquentes sur des arbres vigoureux peut être due à une meilleure réussite des infestations. Les larves doivent en effet pénétrer, au premier stade, à travers l'écorce, puis se nourrir au dépend du phloème. Les arbres à forte croissance présenteraient alors une fissuration du rhytidome et une épaisseur de liber suffisante pour permettre une bonne survie larvaire. La distribution des niveaux d'attaque dans l'arbre montre d'ailleurs que les entrenœuds les plus souvent atteints sont ceux âgés de trois à cinq ans, pour lesquels le compromis entre une écorce fine et un phloème épais paraît le meilleur.

Cependant, la raison pour laquelle un arbre est infesté ne semble pas dépendre uniquement des chances de survie larvaire. En effet, nous avons montré que les arbres élagués sont plus attaqués que les autres — indépendamment de leur diamètre — et que le risque d'attaque est proportionnel au nombre de branches vivantes coupées, ce mode d'infestation étant non contagieux. Il semble donc que la sélection de l'arbre hôte corresponde à une attraction primaire, individuelle, à l'égard de l'insecte.

## Les composés olfactifs attractifs

L'attraction serait liée à la présence de composés olfactifs, sans doute de nature terpénique, émanant de la résine qui s'écoule des blessures de l'écorce. Par la suite, la vigueur, traduite par une forte croissance radiale, pourrait aussi, en augmentant la fissuration de l'écorce, favoriser l'écoulement résinique, ce qui augmenterait l'émission du signal attractif.

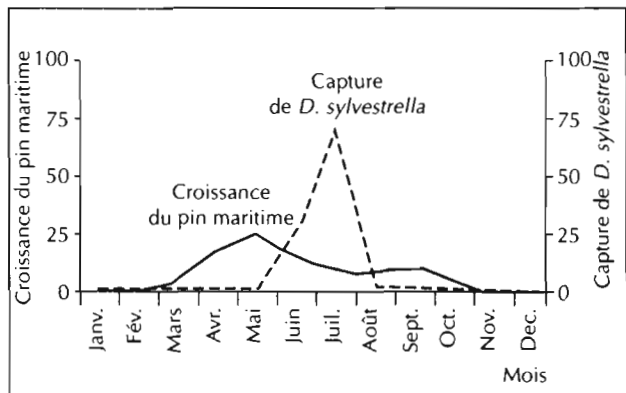
Un premier argument de type phénologique semble étayer cette hypothèse : la période d'attaque du ravageur suit immédiatement dans le temps la période de plus forte croissance radiale de l'arbre hôte, pendant laquelle une importante fissuration du rhytidome est observée — la composition terpénique de la résine restant inchangée au cours de l'année (figure 4).

La notation des attaques de pyrale, des mesures dendrométriques et l'analyse de la composition terpénique de la résine ont été réalisées sur 200 arbres correspondant à 10 familles de pleinfères. Pour chacun des 13 mono et sesquiterpènes identifiés, un taux d'émission par arbre a été calculé comme étant le produit de la proportion relative de ce terpène par la proportion de surface d'écorce fissurée.

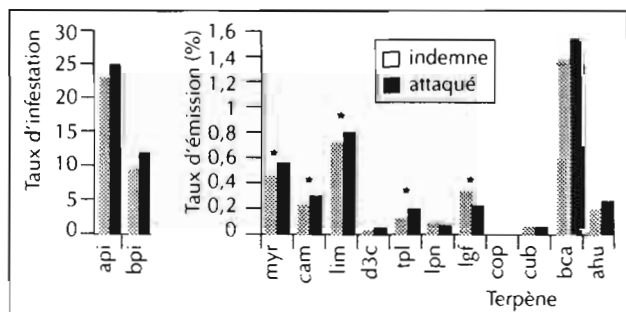
Alors qu'il n'existe aucune différence significative entre arbres indemnes et attaqués pour les proportions de terpènes, les taux d'émission du myrcène, du camphène, du limonène et du terpinolène sont significativement supérieurs pour les arbres infestés (figure 5).

En analyse discriminante, l'utilisation simultanée des données dendrométriques et des proportions de terpènes permet de prédire si l'arbre sera indemne ou attaqué avec un risque d'erreur de 22 % seulement.

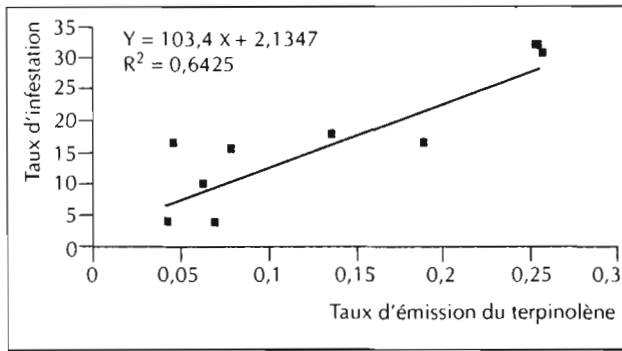
Le taux d'infestation par famille est significativement corrélé au taux d'émission moyen de terpinolène.



**Figure 4.** Proportions de croissance radiale du pin maritime (sur 3 ans et 28 placettes) et de capture de papillons (sur 7 ans) au cours de l'année.



**Figure 5.** Moyenne des taux d'émission de terpènes pour les arbres indemnes et attaqués (\* : différence significative, test t).



**Figure 6.** Relation entre le pourcentage d'arbres attaqués par famille et le taux d'émission moyen de terpinolène des arbres de la famille.

Il est entièrement expliqué ( $r \leq 0,99$ ) par la combinaison linéaire des taux d'émission de cinq terpènes ( $\beta$ -pinène, myrcène, limonène, terpinolène et  $\alpha$ -3 carène) (figure 6).

## Conclusion

La sélection de l'arbre hôte par *D. sylvestrella* dépendrait donc de l'interaction de deux facteurs limitants : la présence d'un signal attractif, dépendant des proportions d'un ou de plusieurs terpènes, et l'émission effective de ce signal dans l'atmosphère, dépendant de la perméabilité de l'écorce. La vigueur qui se traduit par une forte croissance radiale et une importante fissuration de l'écorce contribuerait donc

à augmenter la sensibilité des arbres en favorisant la survie larvaire mais aussi en augmentant leur attractivité. La sylviculture intensive du pin maritime, dont toutes les actions visent à augmenter la croissance des arbres (drainage, fertilisation, plantations à faible densité, éclaircies vigoureuses) pourrait donc avoir pour conséquence un accroissement sensible des dégâts de la pyrale du tronc.

## Discussion

### Comment les larves peuvent-elles se défendre contre la résine ?

Les larves vivent dans cette résine, se nymphosent même à l'intérieur de la coulée de résine. Elles montrent une capacité de résistance remarquable. La résine n'a pas d'effet direct sur celles-ci. DUCASSE (1936) a étudié les raisons pour lesquelles les chenilles de la pyrale du pin maritime ne sont pas engluées dans la résine qui enduit leurs galeries. Elle évoque une couche de substance transparente sur la cuticule des larves, correspondant à une sécrétion cutanée de nature cireuse et protectrice, ainsi qu'une sécrétion basique blanchâtre, produite par les glandes mandibulaires et qui protégerait également la chenille de l'action des acides résiniques.

# Nouvelle technique de sélection des cacaoyers tolérants aux mirides.

## Relation entre les résultats de microtests et les données d'observations en champ

J. NGUYEN-BAN

CIRAD-CP, unité de recherche défense des cultures, BP 5035, 34032 Montpellier Cedex 1, France.

### Introduction

L'étude de la résistance génétique du cacaoyer aux attaques du miride, *Sahlbergella singularis* (Hagl.), repose jusqu'à présent, sur des observations au champ du comportement des cultivars face à ce dangereux ennemi de la cacaoculture en Afrique tropicale. Intéressante dans la mesure où cette approche a permis de guider les programmes de sélection, il n'en demeure pas moins que les observations sur plantes pérennes sont longues (trois à quatre ans en moyenne) et coûteuses en investissements humains. Ce constat nous a amenés à normaliser une méthode de microtests en salle, fondée sur l'étude des préférences alimentaires des mirides (PIART, 1972) pour quantifier les niveaux d'attractivité des cacaoyers à des conditions contrôlées et donnant des résultats reproductibles.

### Deux niveaux d'étude

En vue d'établir une concordance entre les données de laboratoire et celles collectées au champ, une approche à deux niveaux a été entreprise :

- tri préliminaire des cultivars en salle opéré au moyen de microtests ;

- couplage avec un programme d'observations sur huit ans dans deux zones écologiques différentes de la Côte d'Ivoire — en bordure lagunaire (Bingerville) et sous forêt éclaircie de la Basse Côte (Divo).

Dans les blocs expérimentaux, les clones-têtes de sélection, ainsi que les hybrides qui en étaient issus, furent suivis individuellement pendant toute la période d'activité des mirides dans les agrosystèmes.

Après trois séquences d'observations successives sur le terrain, l'analyse comparative des résultats a révélé une bonne similitude entre les réponses des cultivars en microtests et celles obtenues en plein champ.

En Côte d'Ivoire, les réponses des cultivars aux attaques de mirides révèlent l'existence de deux groupes comportementaux au sein du matériel végétal sélectionné, par ordre d'attractivité croissante, les *Forasteros* (haut et bas amazoniens) et les *Trinitarios*. Au Cameroun, les microtests ont révélé un polymorphisme comportemental dans les cultivars testés. C'est ainsi que les plants de même origine sont susceptibles d'avoir des réactions fort différentes aux punaises (exemple les SNK).

### Conclusion

Rapide et simple à réaliser, la technique de microtests peut être efficace pour la sélection précoce d'un matériel végétal tolérant aux mirides.

# La résistance des caféiers à la chenille mineuse des feuilles, *Perileucoptera coffeella* Guérin-Méneville. Validation des tests précoces

B. DECAZY

CIRAD-CP, unité de recherche défense des cultures, BP 5035, 34032 Montpellier Cedex 1, France.

Cette étude a été conduite par O. GUERREIRO-FILHO lors de la préparation de sa thèse de doctorat présentée à l'ENSA de Montpellier.

## Introduction

La chenille mineuse des feuilles, *Perileucoptera coffeella* Guérin-Méneville, est considérée comme l'un des principaux ravageurs du caféier au Brésil. Elle peut entraîner une chute importante des feuilles à l'origine de fortes diminutions de production. Outre la lutte chimique fort développée, la vulgarisation de variétés résistantes semble être la méthode idéale, puisque le genre *Coffea* présente au champ une grande diversité génétique pour cette résistance. Afin de l'évaluer, des tests de laboratoire ont été mis au point. Encore doit-on s'assurer de la conformité des résultats.

## Résultats

### La résistance des caféiers au champ

Les informations sur la sensibilité de *C. arabica* sont parfois assez contradictoires. Cependant, la grande majorité des résultats montre que toutes les variétés sont sensibles à la chenille mineuse. Dans une étude conduite par MEDINA FILHO *et al.* (1977), lors de fortes

infestations naturelles au champ, le pourcentage de feuilles minées par les insectes fut très élevé : les cultivars catuai Vermelho, Mundo Novo, Acaia, Bourbon Vermelho et Bourbon Amarelo ont eu plus de 75 % de leurs feuilles attaquées ; tandis que chez d'autres variétés comme le Tipica, San Ramon, Caturra Vermelho, Caturra Amarelo et Maragogipe, le pourcentage d'infestation se trouve autour de 50 %. Certaines lignées sub-spontanées d'Ethiopie, centre d'origine de l'espèce, montrent, en conditions de champ, une bonne tolérance à la mineuse.

Le plus haut niveau de résistance à la mineuse des feuilles est observé chez l'espèce *C. stenophylla*. Dans les feuilles de cette espèce, les larves, après éclosion des œufs, meurent rapidement sans faire de galerie, cette résistance semble due à la composition biochimique des tissus foliaires.

Au champ, certains cultivars de l'espèce *C. canephora*, les espèces *C. liberica*, *C. dewevrei*, *C. eugenoides*, *C. kapakata*, *C. salvatrix* montrent une certaine résistance. Cette résistance se traduit par une baisse du pourcentage d'infestation (les galeries formées sont généralement plus petites), mais surtout par une baisse marquée du taux de reproduction de l'insecte, ce qui diminuerait le potentiel d'inoculation pour le prochain cycle d'infestation.

*C. racemosa* allie une bonne résistance à la mineuse à des caractères agronomiques intéressants pour la culture du café : floraison abondante, croisement facile avec l'arabica. Aussi cette espèce a-t-elle été utilisée dans des programmes de caféiers arabica résistants à la mineuse.

## La résistance des caféiers en laboratoire

Le matériel végétal utilisé est constitué par des semenceaux de caféiers élevés en pépinière et âgés de quelques mois. Après une étude préliminaire de conformité pour les paramètres biotiques de la chenille mineuse entre un élevage sur feuille et un élevage sur disque de feuille, il a été retenu, pour plus de commodité, de travailler avec des disques de feuilles.

Pour chaque espèce ou pour chaque cultivar de caféier, les paramètres mesurés sont les potentialités biotiques de l'insecte (durée du cycle de développement, viabilité des diverses stades, etc.), ainsi que la forme et la taille des galeries (NPA, échelle de 0 à 4) et la surface foliaire détruite (SFD, en mm). A titre d'exemple, le tableau I montre le comportement de divers caféiers.

Ce tableau montre que le cultivar Catuai de *C. arabica* est très sensible : les lésions sont grandes et à peu près circulaires. Les autres espèces de caféiers sont moins sensibles. Les espèces *C. stenophylla* et *C. kapakata* sont très résistantes,

aucune galerie ne parvient à se former. L'espèce *C. racemosa* est intermédiaire, elle présente tout de même une bonne résistance, les lésions sont de type filiforme et très petites.

## Discussion et conclusion

Les résultats des tests précoces en laboratoire confirment totalement les observations faites au champ dans le passé. On peut donc utiliser ces techniques de laboratoire pour les actions suivantes :

- évaluer un matériel végétal nouvellement créé ;
- cribler le matériel végétal existant lorsque ce matériel, sélectionné pour certains critères agronomiques intéressants, doit être mis en place dans des zones d'endémie de la chenille mineuse.

Dans le cadre du programme de transformation génétique du caféier, des techniques de tests plus précoces sur des caféiers *in vitro* sont en cours de mise au point pour le rendre résistant à *Perileucoptera coffeella*, grâce à l'introgession de gènes de *Bacillus thuringiensis*.

**Tableau I.** Résultats des mesures effectuées sur différentes variétés de caféiers : forme et taille des galeries (NPA, échelle de 0 à 4) ; surface foliaire détruite (SFD, mm).

| Espèce de caféier     | NPA     | Surface foliaire détruite |
|-----------------------|---------|---------------------------|
| <i>C. arabica</i>     | 3,97 a  | 2,13 a                    |
| <i>C. canephora</i>   | 3,39 ab | 1,76 abc                  |
| <i>C. congensis</i>   | 3,14 ab | 1,55 bc                   |
| <i>C. liberica</i>    | 1,60 cd | 0,83 de                   |
| <i>C. dewevrei</i>    | 1,18    | 0,57                      |
| <i>C. stenophylla</i> | 0,06 e  | 0,03 f                    |
| <i>C. racemosa</i>    | 0,49    | 0,28                      |

## Références bibliographiques

- GUERREIRO FILHO O., 1994. Identification de gènes de résistance à *Perileucoptera coffeella* en vue de l'amélioration de *Coffea arabica* : Potentiel d'espèces diploïdes du genre *Coffea* ; gènes de *Bacillus thuringiensis*. Thèse de doctorat, ENSA, Montpellier, France, 173 p.
- MEDINA FILHO H.P., CARVALHO A., MEDINA D.M., 1977. Melhoramento do cafeeiro. Observações sobre a resistencia do cafeeiro ao bicho mineiro. Bragançia, Campinas, Brésil 37 (36) : 131-137.

# E

## tude du comportement du riz vis-à-vis de *Chilo suppressalis*

B. VERCAMBRE, M. BETBÉDER-MATIBET<sup>†</sup>, M. RENAND  
CIRAD-CA, unité de recherche entomologie appliquée, BP 5035, 34032 Montpellier Cedex 1, France.

### Introduction, objet

Mettre au point un test rapide de sensibilité du riz à la chenille *Chilo suppressalis* (Lep., Pyralidae) en vue d'orienter le sélectionneur pour la mise au point de variétés résistantes et tolérantes afin d'envisager la limitation, voire la suppression des traitements insecticides sur la deuxième génération du foreur en Camargue.

### Matériel et méthode

Ils sont décrits dans le tableau I.

**Tableau I.** Présentation des essais au laboratoire et au champ, mesures des dégâts de pyrale.

|                       | Laboratoire   | Plein champ   |
|-----------------------|---|---|
| Année                 | 1992  | 1992  |
| Lieu                  | Insectarium<br>CIRAD-CA,<br>Montpellier   | Station du Mas-Adrien<br>CFR-Arles  |
| Dispositif            | Terrines<br>comportant<br>16 pots de 5 tiges                                      | Collection de référence<br>chaque variété<br>étant représentée<br>par 3 lignes de 2,5 m                       |
| Infestation           | artificielle<br>(100 œufs/16 pots)<br>non choix                                   | naturelle, choix<br>possible, attaque tout<br>au long du cycle<br>végétatif du riz                            |
| Jour<br>d'infestation | Semis + 34 j  | Date de semis du riz :<br>début mai   |
| Observations          | % tiges attaquées<br>(mortes) à 3 dates<br>(4, 10, 18 jours<br>après infestation) | % tiges attaquées<br>après dissection<br>à 3 dates (début,<br>mi-septembre,<br>et à la récolte<br>mi-octobre) |

### Résultats

Les résultats sont présentés dans la figure 1.

### Conclusion

Globalement, on remarque le même classement des variétés.

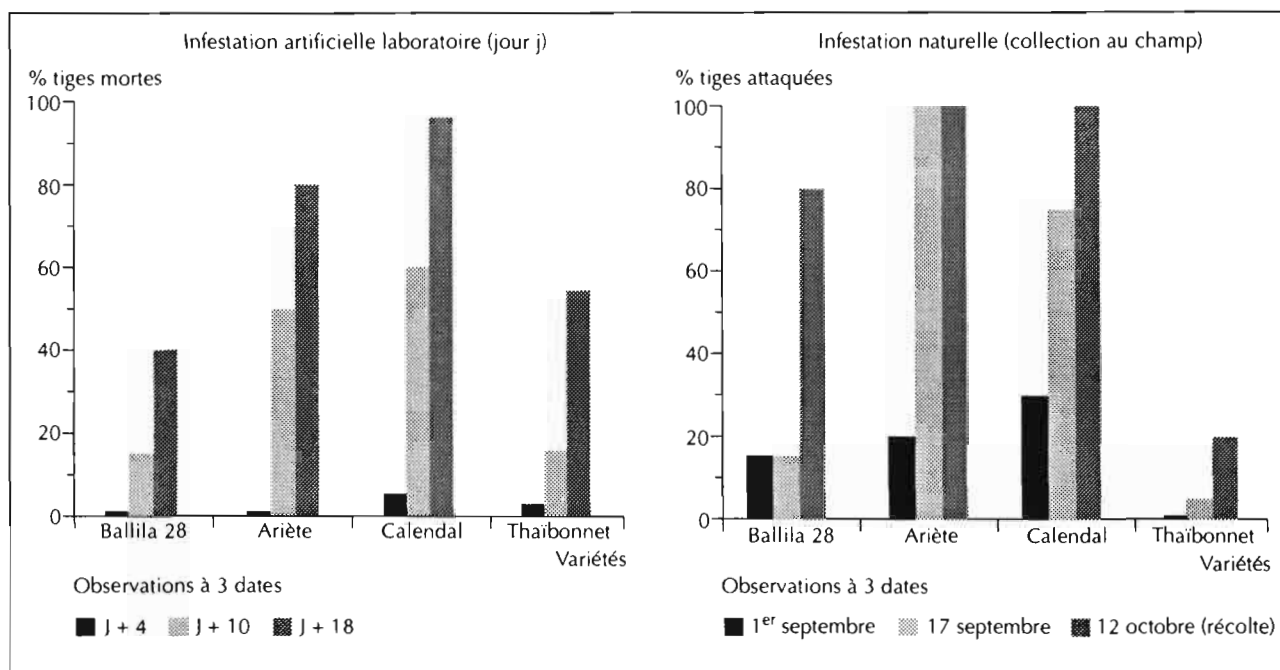
Dans le détail, des différences apparaissent (choix, non choix, croissance végétative très différente, stade phénologique différent).

Les résultats demandent une confirmation sur un plus grand choix de variétés.

### Discussion

#### Quelle est la liaison entre les composés anthocyanés et le comportement de la chenille ?

On ne connaît pas très bien cette liaison. L'anthocyanane est un composé phénolique. Ces composés sont importants dans le comportement des insectes. Dans le cas du riz, les anthocyanes sont particulièrement développés, ce qui se traduit par des symptômes importants lors de stress hydrique, lors d'attaques d'insectes... Les composés anthocyanés sont localisés dans les tissus à l'état juvénile, dans les zones de croissance intense, dans les entre-nœuds. Il n'y a pas nécessairement un lien entre la présence de composés anthocyanés et une résistance ou une sensibilité au stress. Dans le cas des cacaoyers, la pigmentation rouge attire plus les mirides. Cela est contradictoire avec le fait que l'on sait que les insectes « voient » très mal le rouge.



**Figure 1.** Observation des dégâts de *Chilo suppressalis* sur 4 variétés de riz (Ballila 28, Ariète, Calendal, Thaïbonnet), à trois dates, après infestation artificielle au laboratoire, en infestation naturelle au champ.

# Résistance de *Cucumis melo* L. à *Liriomyza trifolii* (Burgess), *Diptera* : *Agromyzidae*

D. BORDAT<sup>(1)</sup>, M. PITRAT<sup>(2)</sup>, C. DOGIMONT<sup>(2)</sup>, C. PAGÈS<sup>(1)</sup>

(1) CIRAD-FHLOR, laboratoire d'entomologie, BP 5045, 34032 Montpellier Cedex 1, France.

(2) INRA, station d'amélioration des plantes maraîchères, BP 94, 84143 Montfavet Cedex, France.

## Introduction

*Liriomyza trifolii* est un diptère, dont les adultes piquent le végétal pour se nourrir et pondre. Les larves minent le parenchyme des feuilles, diminuant ainsi l'efficacité de la photosynthèse d'un grand nombre de plantes cultivées. *L. trifolii* est devenue résistante à de nombreux insecticides, l'étude de la résistance est devenu un secteur clé de son contrôle.

## Matériel et méthodes

Deux essais comparatifs ont été menés en laboratoire et en serre sous infestations contrôlées pour étudier la résistance de trois génotypes de melon : Védrantais, Nantais Oblong et B 66-5 à la mineuse *L. trifolii*.

En laboratoire, il a été réalisé des infestations de 10 plants de melon au stade de deux feuilles bien développées. De plus, l'essai était réalisé sous cage : 25 °C, 75 % d'humidité, photopériode 12h/12h.

Sous serre, il a été disposé 5 blocs de 3 parcelles de 6 plants par génotype, répartis au hasard. L'infestation a eu lieu sur des plants palissés de 13 à 18 feuilles, en disposant 400 pupes de *L. trifolii* au centre de chaque parcelle. La température moyenne était de 18-20 °C, sous photopériode annuelle.

Dans les deux cas, on note le nombre de mines par feuilles, avec larves vivantes ou mortes, à six et treize jours respectivement.

## Résultats et discussion

Le nombre moyen de mines obtenues par plante fut similaire dans les deux expérimentations : laboratoire 16,3 ; serre 15,2 avec un nombre moyen de femelles infestantes par plante de 2,5 et 29 respectivement. Mais le nombre de mines obtenues fut significativement différent entre les trois génotypes (tableaux I et II, figure 1). Le génotype Nantais a un

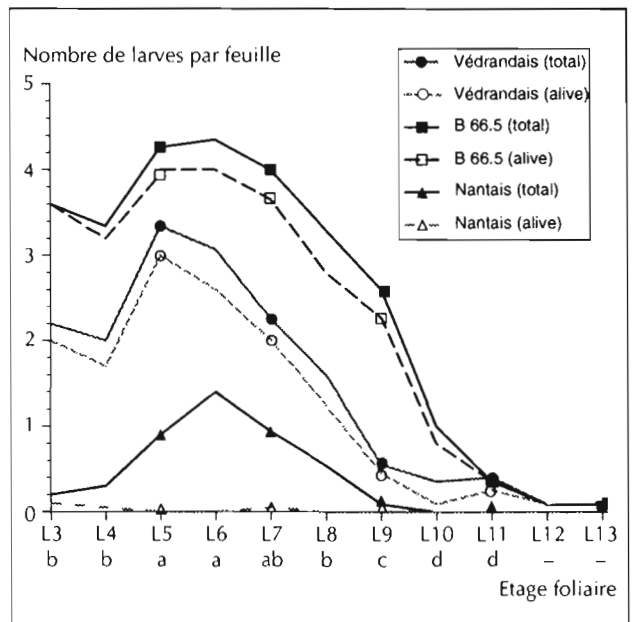


Figure 1. Nombre de larves de *L. trifolii* observées sur les feuilles de trois variétés de melons. Les étages foliaires ayant des lettres différentes sont significativement différents au seuil de 5 % d'après le test de Newman-Keuls.



nombre significativement plus faible de mines que B 66-5, la différence étant plus élevée pour les plantes en serre que les plants en laboratoire, le rapport est de 0,17 et 0,59 respectivement. Le pourcentage de mortalité larvaire fut total chez Nantais dans les deux tests, les mines ne dépassant pas 1 à 2 mm (L1). On en conclut que ce génotype présente

une résistance par antibiose, dont il reste à découvrir la nature. Ce génotype ayant des qualités agronomiques intéressantes pourra être utilisé comme source de résistance. La stabilité de cette résistance doit être vérifiée à l'égard d'autres populations de *L. trifolii*.

**Tableau I.** Nombre moyen de mines de *L. trifolii* observées sur les plantes au stade 2<sup>e</sup> feuille pour trois variétés de melon (10 plantes par essai).

| N° du test | B 66.5 |       |      | Védrantais |       |      | Nantais |      |      |
|------------|--------|-------|------|------------|-------|------|---------|------|------|
|            | m      | ext.  | d.s. | m.         | ext.  | d.s. | m.      | ext. | d.s. |
| 42-1       | 22,8   | 5-59  | 14,9 | 16,8       | 3-30  | 9,6  | 24,1    | 6-47 | 11,6 |
| 42-2       | 21,3   | 6-48  | 15,3 | 21,4       | 13-30 | 4,8  | 28,7    | 3-61 | 18,9 |
| 43-1       | 21,2   | 8-39  | 10,3 | 15,3       | 11-21 | 3,1  | 6,3     | 1-14 | 4,6  |
| 43-2       | 17,0   | 6-25  | 5,7  | 15,2       | 11-28 | 4,9  | 7,4     | 5-15 | 3,4  |
| 44-1       | 20,9   | 12-46 | 11,5 | 11,8       | 8-17  | 3,0  | 5,2     | 1-18 | 5,2  |
| 44-2       | 16,0   | 7-30  | 6,4  | 11,8       | 3-20  | 4,9  | 8,6     | 1-24 | 6,1  |
| 45-1       | 13,2   | 4-32  | 10   | 15         | 11-23 | 3,8  | 6,9     | 3-12 | 3,5  |
| 45-2       | 16,3   | 3-45  | 13,3 | 17         | 11-24 | 4,3  | 4,3     | 1-11 | 3,7  |
| 46-1       | 20,6   | 9-34  | 7,4  | 12,2       | 8-17  | 3,3  | 14,3    | 6-31 | 10   |
| 46-2       | 14,8   | 4-29  | 7,1  | 12,8       | 8-29  | 7,4  | 12,1    | 4-23 | 7,6  |
| 47-1       | 34,9   | 18-52 | 11,7 | 18,2       | 3-38  | 9,8  | 11,9    | 6-23 | 5,4  |
| 47-2       | 33,5   | 17-53 | 11,7 | 17,8       | 9-27  | 5,9  | 18,2    | 9-37 | 9,3  |
| Moyenne    | 21,0 a |       |      | 15,3 b     |       |      | 12,3 c  |      |      |
| D.s.       | 12,8   |       |      | 6,25       |       |      | 11,09   |      |      |

Les nombres suivis de lettres différentes sont différents au seuil de 5 % d'après le test de Newman-Keuls, m, moyenne ; ext. valeurs extrêmes ; d.s. déviation standard.

**Tableau II.** Nombre de mines par plantes et pourcentage de mortalité larvaire de *L. trifolii* après infestation de plants de melons au stade récolte dans les serres (13<sup>e</sup>-18<sup>e</sup> stade foliaire).

| Essais                | B 66.5          |             | Védrantais      |               | Nantais         |               |
|-----------------------|-----------------|-------------|-----------------|---------------|-----------------|---------------|
|                       | Nombre de mines | % mortalité | Nombre de mines | % mortalité   | Nombre de mines | % mortalité   |
| 1                     | 33,0            | 2,9         | 16,2            | 6,2           | 3,5             | 100           |
| 2                     | 21,3            | 2,6         | 17,8            | 14,2          | 5,8             | 100           |
| 3                     | 27,3            | 5,7         | 14,0            | 9,5           | 3,0             | 70,3          |
| 4                     | 24,0            | 15,5        | 16,5            | 13,3          | 6,8             | 100           |
| 5                     | 24,2            | 15,9        | 12,3            | 22,7          | 2,7             | 100           |
| Nombre moyen de mines | 26,0 a (8,3)    |             | 15,4 b (6,5)    |               | 4,4 c (3,2)     |               |
| % mortalité           |                 | 8,5 f (7,4) |                 | 14,5 e (10,0) |                 | 94,0 d (17,2) |

Les nombres suivis de lettres différentes sont différents au seuil de 5 % d'après le test de Newman-Keuls.

# Effets sur le manioc de la défoliation artificielle et naturelle par le criquet puant (*Zonocerus variegatus* L.)

P. LE GALL<sup>(1)</sup>, Y.-R. SOUZA<sup>(2)</sup>

(1) ORSTOM c/o IITA, BP 08-0932, Cotonou, Bénin.

(2) ORSTOM, BP 181, Brazzaville, République du Congo.

## Introduction

Il est difficile d'estimer les pertes induites par les acridiens (WEWETZER *et al.*, 1993). L'analyse au champ par des questionnaires est compliquée par la labilité de la présence acridienne dans les cultures. Le laboratoire offre deux techniques pour déterminer l'effet de la perte de feuillage : la simulation par prélèvement de feuilles à l'aide de ciseaux et l'infestation artificielle par des insectes. Nous avons comparé ces deux techniques dans le même protocole expérimental, car les discussions autour des potentialités de récupération des plantes après défoliations restent d'actualité (BELSKI *et al.*, 1993 ; TRUMBLE *et al.*, 1993).

## Matériel et méthodes

En phase 1, les boutures (tiges de treize mois, variété MM 79) sont placées dans des sacs plastiques remplis de terre stérilisée à 200 °C et laissées en végétation jusqu'aux stades 5 à 6 feuilles (trois semaines) et 9 à 10 feuilles (cinq semaines), en conditions de laboratoire de température moyenne de 25 °C et d'humidité relative moyenne de 80 %. Aucun traitement n'est apporté aux pots sauf un arrosage bi-hebdomadaire de 400 ml d'eau par pot.

En phase 2, les plants de même âge (trois et cinq semaines) sont soumis à 1, 3 ou 5 criquets mâles adultes. Des plants identiques ont leurs feuilles coupées à moitié aux ciseaux.

En phase 3, les plants sont retirés des cages 48 h après infestation afin d'être suivis. Ceci correspond au temps  $t_0$  des mesures sur le développement aérien du manioc.

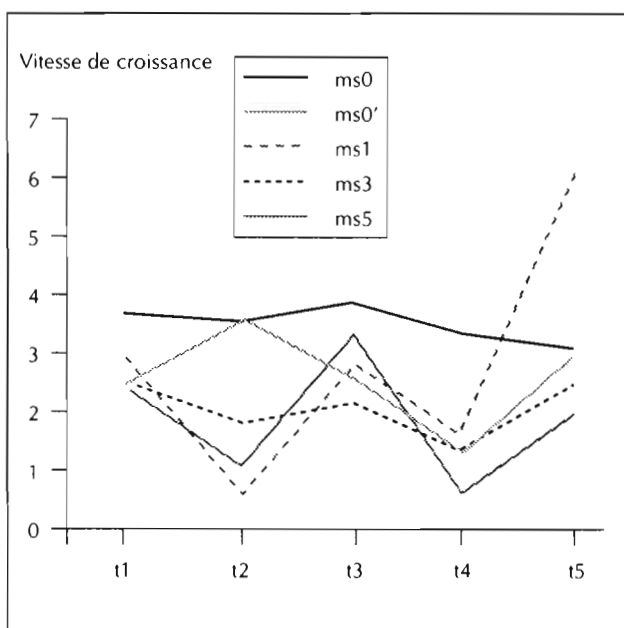
Le dispositif statistique expérimental utilisé est le dispositif complètement aléatoire ou dispositif en randomisation. Chaque traitement est répété dix fois. Les témoins sont représentés par 9 lots de 10 plantes.

## Résultats

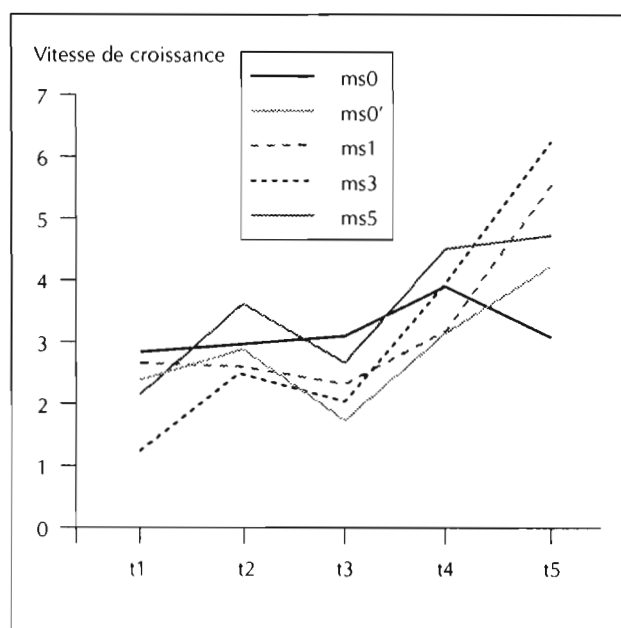
Le criquet consomme principalement les feuilles, et suivant le nombre d'individus, la défoliation varie de 20 à 60 % du feuillage (tableau I). La linéarité de la croissance du manioc lors des sept premières semaines est vérifiée par l'analyse des lots témoins. La vitesse de croissance de la plante est modifiée par les traitements (figures 1 et 2). Elle subit une baisse, suivie d'une récupération plus ou moins importante. La vitesse de croissance de l'entre-nœud de base est modifiée chez les plants âgés de trois semaines (figure 3) : stable chez les témoins, elle apparaît en dents de scie chez les plants traités. A cinq semaines, elle est nulle que ce soit chez les témoins ou chez les plants traités. L'apparition des entre-nœuds n'est généralement pas modifiée et se maintient à un entre-nœud pour trois jours.

**Tableau I.** Nature des organes de manioc attaqués par *Zonocerus variegatus* et appréciation des dégâts.

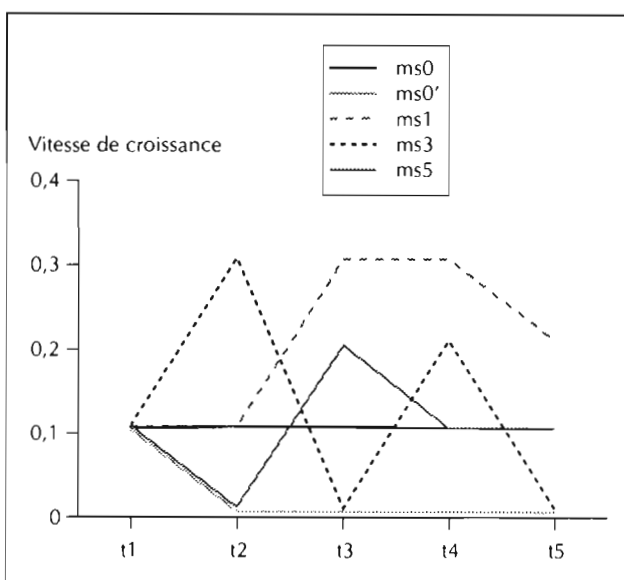
| Age manioc | Densité criquet | Apex   | Tige   | Feuilles           |
|------------|-----------------|--------|--------|--------------------|
| 3 semaines | 1               | nulle  | nulle  | moyenne (20 %)     |
|            | 3               | faible | nulle  | forte (50 %)       |
|            | 5               | faible | nulle  | sévère (60 %)      |
| 5 semaines | 1               | nulle  | nulle  | moyenne (22 %)     |
|            | 3               | nulle  | faible | assez forte (33 %) |
|            | 5               | nulle  | nulle  | forte (50 %)       |



**Figure 1.** Vitesse de croissance de plants de manioc de trois semaines soumis à l'action mécanique (*ms0'*) ou à 1 (*ms1*), 3 (*ms3*) ou 5 (*ms5*) criquets. *ms0* : témoins.



**Figure 2.** Vitesse de croissance de l'entre-nœud de base de plants de manioc soumis à l'action mécanique (*ms0'*) ou à 1 (*ms1*), 3 (*ms3*) ou 5 (*ms5*) criquets, *ms0* : témoins.



**Figure 3.** Vitesse de croissance de plants de manioc de cinq semaines soumis à l'action mécanique (*ms0'*) ou à 1 (*ms1*), 3 (*ms3*) ou 5 (*ms5*) criquets, *ms0* : témoins.

## Discussion

La phytophagie influence largement la chimie et la physiologie de la plante (KARBAN et MYERS, 1989). La réponse du manioc au comportement alimentaire peut être induite par une telle relation. La forte variabilité et la rusticité du manioc compliquent toute tentative de généralisation des résultats. Nous avons opté pour un échantillon témoin très important constitué de 9 lots de 10 plantes suivies sur sept semaines. La variabilité observée alors est assez faible et les variations expérimentales mieux estimées. Notre expérience se place dans une période de la vie de la plante où elle est encore sensible aux attaques. Les taux de défoliation artificielle choisis sont compatibles avec les taux de consommation des feuilles par les criquets. Les paramètres de la croissance du manioc sont affectés de façon différente, lorsque la plante est consommée par des criquets ou lorsqu'on simule la défoliation par une action mécanique. La vitesse de croissance de la plante est

affectée aussi bien chez les plants traités à trois semaines qu'à cinq semaines. En revanche, la vitesse de croissance de l'entre-nœud de base n'est susceptible d'être modifiée qu'à l'âge de trois semaines. L'apparition de nouveaux entre-nœuds n'est pas perturbée par les traitements. L'action sur les jeunes plants est déterminée par le traitement subi. L'importance et la nature de l'attaque induisent des réactions plus ou moins fortes.

## Références bibliographiques

BELSKY A.J., CARSON, W.P., JENSEN C.L., FOX G.A., 1993. Overcompensation by plants. Herbivore optimization or Rd Herring. *Evol. Ecol.* 7 (1).

KARBAN R., MYERS J., 1989. Induced plant responses to herbivory. *Ann. rev. Ecol. Syst.* 20 : 331-348.

TRUMBLE J.T., KOLODNY-HIRSCH D.M., TING I.P., 1993. Plant compensation for Arthropod herbivory. *Ann. Rev. Entomol.* 38 : 93-119.

WEWETZER KRALL S., SCHULZ F.A., 1993. Methods for the assesment of crop losses due to grasshoppers and locusts. *GTZ, Rossdorf, Allemagne*, 54 p.

---

## Discussion

### Comment découpez-vous les feuilles pour simuler la défoliation par le criquet ?

On coupe la moitié distale de la feuille à l'aide de ciseaux.

### Cela représente-t-il correctement les dégâts occasionnés par l'insecte ?

Afin de simuler au mieux les dégâts, il faudrait échelonner les attaques tout au long de la période de culture, soit deux ans. On tiendrait ainsi compte de la

progression et du cumul des attaques. La réponse de la plante diffère certainement suivant son évolution physiologique.

### Comment découper une feuille de manioc à 50 % ?

On coupe la moitié de chaque lobe. Mais cela ne simule pas véritablement l'attaque du criquet qui est plus progressive. Le criquet fait souvent deux ou trois repas par jour. Il mange, s'arrête, se déplace et recommence après quelques minutes ou quelques heures. Les dégâts sont disséminés sur l'ensemble de la plante, mais moins importants à l'apex, sur les très jeunes feuilles.

### Avez-vous une idée de l'impact sur la production en tubercule ?

Pour l'instant, on n'a pas de résultats cohérents sur la production en tubercule. Ces résultats restent très variables dans nos études préliminaires. En fait, nous avons concentré nos efforts sur l'analyse des effets de l'insecte sur la croissance de la plante.

### Qu'en est-il de la variabilité du manioc, comment l'avez-vous appréhendée ?

Les témoins sont constitués d'un nombre très important de répliques puisque l'on a 9 lots de 10 échantillons, soit 90 témoins. La grande homogénéité des paramètres mesurés sur ces témoins consolide la validité des différences observées sur les plants traités.

### Le criquet préfère-t-il les jeunes feuilles ou d'autres organes ?

Non, au contraire, il s'attaque préférentiellement aux feuilles âgées. On observe peu de dégâts sur les tiges. Lorsque le criquet arrive sur un plant de manioc de cinq ou six feuilles, il se dirige vers l'extrémité des feuilles bien développées. Il ne se nourrit ni sur les tiges, ni sur les bourgeons.

# Liste des participants

**BEAUDOIN LAURENCE**

CIRAD-CP,  
Unité de recherche défense des cultures,  
Avenue du Val de Montferrand,  
BP 5035,  
34032 Montpellier Cedex 1  
France

**BELIN-DEPOUX MONIQUE**

Université Paris VI,  
Laboratoire de biologie végétale  
tropicale,  
12 rue Cuvier,  
75005 Paris  
France

**BOHER BERNARD**

ORSTOM,  
Laboratoire de phytopathologie  
tropicale,  
911 avenue Agropolis,  
BP 5045,  
34032 Montpellier Cedex 1  
France

**BOIS EVELYNE**

INRA,  
Station de zoologie forestière,  
Ardon,  
45160 Olivet  
France

**BOIS JEAN-FRANÇOIS**

ORSTOM,  
CIRAD-CA,  
Laboratoire d'écophysiologie  
BP 5035,  
34032 Montpellier Cedex 1  
France

**BOISSOT NATHALIE**

INRA,  
Station d'amélioration  
des plantes maraîchères,  
BP 94,  
84143 Montfavet Cedex  
France

**BORDAT DOMINIQUE**

CIRAD-FLHOR,  
avenue du Val de Montferrand,  
BP 5035,  
34032 Montpellier Cedex 1  
France

**BORSA PHILIPPE**

ORSTOM,  
Laboratoire d'entomologie,  
BP 5045,  
34032 Montpellier Cedex 1  
France

**CALATAYUD PAUL-ANDRÉ**

ORSTOM,  
Laboratoire d'entomologie,  
parc scientifique Agropolis II,  
Bt B5-B6,  
34397 Montpellier Cedex 5  
France

**CROISÉ LUC**

INRA,  
Laboratoire de zoologie forestière,  
Ardon, 45160 Olivet  
France

**DECAZY BERNARD**

CIRAD-CP,  
avenue du Val de Montferrand,  
BP 5035,  
34032 Montpellier Cedex 1  
France

**FABRES GÉRARD**

ORSTOM,  
Milieu et activités agricoles,  
Unité de recherche dynamique  
des systèmes de production (3C),  
BP 5045,  
34032 Montpellier Cedex 1, France

**FAUVEL GUY**

INRA-ENSA,  
Laboratoire de zoologie,  
section acarologie,  
2 place Viala,  
34060 Montpellier Cedex 1  
France

**FEBVAY GÉRARD**

INRA-INSA,  
Laboratoire de biologie appliquée,  
406-20 avenue A. Einstein,  
69621 Villeurbanne Cedex  
France

**FERRON FRANÇOISE**

INRA-ENSAM,  
Laboratoire d'écophysiologie des plantes  
sous stress environnementaux,  
2 place Viala,  
34060 Montpellier Cedex 1  
France

**FORNASARI LUCA**

USDA-EBCL,  
Entomologie mauvaises herbes,  
Agropolis,  
BP 4168,  
34092 Montpellier  
France

**GAGNEPAIN CLAUDE**

Université Paris Sud (Paris XI),  
Laboratoire de biologie évolution  
dynamique de populations,  
Bt 446,  
91405 Orsay Cedex  
France

**GEIGER JEAN-PAUL**

ORSTOM,  
Laboratoire de phytopathologie  
tropicale,  
911 avenue Agropolis,  
BP 5045,  
34032 Montpellier Cedex 1  
France

**GIROUSSE CHRISTINE**

INRA,  
Laboratoire de zoologie,  
centre de Poitou-Charentes,  
86600 Lusignan  
France

**JACTEL HERVÉ**

INRA,  
Station de recherches forestières,  
Laboratoire d'entomologie,  
33611 Gazinet  
France

**LE GALL PHILIPPE**

ORSTOM,  
IITA (International Institute of Tropical  
Agriculture),  
BP 08-0932,  
Cotonou,  
Bénin

**LERIN JACQUES**

INRA,  
Laboratoire de zoologie,  
centre de Poitou-Charentes,  
86600 Lusignan  
France

**LIEUTIER FRANCOIS**

INRA,  
Station de zoologie forestière,  
Ardon,  
45160 Olivet  
France

**LOUVEAUX ALAIN**

Université Paris-Sud (Paris XI),  
Laboratoire de biologie,  
évolution dynamique de populations,  
Bt 446,  
91405 Orsay  
France

**MAINGUET ANNE-MARIE**  
Université Paris-Sud (Paris XI),  
Laboratoire de biologie évolution  
dynamique de populations,  
Bt 446,  
91405 Orsay Cedex  
France.

**MARTIN THIBAUD**  
CIRAD-CA,  
Unité de recherche entomologie  
appliquée,  
avenue du Val de Montferrand,  
BP 5035,  
34032 Montpellier Cedex 1  
France

**MATHIEU FRÉDÉRIC**  
INRA,  
Laboratoire des médiateurs chimiques,  
route de Saint-Cyr,  
78026 Versailles  
France

**N'GUYEN BAN JEAN**  
CIRAD-CP,  
avenue du Val de Montferrand,  
BP 5035  
34032 Montpellier Cedex 1  
France.

**NICOLE MICHEL**  
ORSTOM,  
Laboratoire de phytopathologie  
tropicale,  
911 avenue Agropolis,  
BP 5045,  
34032 Montpellier Cedex 1  
France

**PAGÈS CHRISTINE**  
CIRAD-FLHOR,  
BP 5035,  
34032 Montpellier Cedex 1  
France

**RAFAILAC JEAN-PIERRE**  
ORSTOM,  
Laboratoire d'écophysiologie  
CIRAD-CA,  
BP 5035,  
34032 Montpellier Cedex 1  
France

**RAT-MORRIS ELIZABETH**  
ENSH-ENITHP,  
2 rue Le-Nôtre,  
49045 Angers Cedex  
France

**RENARD SOPHIE**  
Faculté des sciences agronomiques,  
unité de recherche de zoologie  
générale et appliquée,  
2 passage des déportés,  
5030 Gembloux  
Belgique

**ROBERT PHILIPPE**  
INRA-ENSH,  
Station de phytopharmacie,  
route de St-Cyr,  
78026 Versailles Cedex  
France

**SAUGE MARIE-HÉLÈNE**  
INRA, Station de zoologie,  
Domaine Saint-Paul, site Agroparc,  
84914 Avignon Cedex 9  
France

**SAUVION NICOLAS**  
INRA-INSA,  
Laboratoire de biologie appliquée,  
406-20 avenue A. Einstein,  
69621 Villeurbanne Cedex  
France

**SOLANO P.**  
Université Paris VI,  
Laboratoire de biologie végétale  
tropicale,  
12 rue Cuvier,  
75005 Paris  
France

**SOUISSI RACHID**  
Université de Rennes I,  
Laboratoire d'écobiologie des insectes  
parasitoïdes,  
Campus de Beaulieu,  
35042 Rennes Cedex  
France

**THIERY DENIS**  
INRA-CNRS,  
Laboratoire de neurobiologie  
comparée des invertébrés,  
BP 123,  
91440 Bures-sur-Yvette  
France

**VAISSAYRE MAURICE**  
CIRAD-CA,  
Unité de recherche entomologie  
appliquée,  
avenue du Val de Montferrand,  
BP 5035,  
34032 Montpellier Cedex 1  
France

**VERCAMBRE BERNARD**  
CIRAD-CA,  
Unité de recherche entomologie  
appliquée,  
avenue du Val de Montferrand,  
BP 5035,  
34032 Montpellier Cedex 1  
France

**VIGOUROUX ANDRÉ**  
INRA-ENSAM,  
Laboratoire de pathologie végétale,  
2 place Viala,  
34060 Montpellier Cedex 1  
France

**WELCKER CLAUDE**  
INRA,  
Laboratoire de recherches  
en productions végétales,  
BP 515,  
97185 Pointe-à-Pitre  
France

**WU BEN-RUI**  
INRA,  
Laboratoire des médiateurs chimiques,  
Station de phytopharmacie,  
route de St-Cyr,  
78026 Versailles  
France

## La collection Colloques

---

La collection Colloques publie les actes de séminaires organisés  
ou coorganisés par le CIRAD

## Déjà parus

---

Analyse de la diversité des situations agricoles  
Conséquences sur la programmation de la recherche  
22-28 octobre 1993, Garoua, Cameroun

Coconut *Phytophthora*  
26-30 October 1992, Manado, Indonesia

La recherche européenne au service du cocotier/  
*European Research Working for Coconut*  
8-10 septembre 1993/*September 8-10, 1993, Montpellier, France*

Traitements statistiques des essais de sélection.  
Stratégies d'amélioration des plantes pérennes  
12-14 septembre 1994, Montpellier, France

Production et valorisation du maïs  
à l'échelon villageois en Afrique de l'Ouest  
25-28 janvier 1994, Cotonou, Bénin

Sustainable Land Management  
in African Semi-Arid and Subhumid Regions  
November 15-19, 1993, Dakar, Senegal

Rencontres cacao : les différents aspects de la qualité/  
*Cocoa meetings: the various aspects of quality*  
30 juin 1995, Montpellier, France

Fertilité du milieu et stratégies paysannes  
sous les tropiques humides.  
13-17 novembre 1995, Montpellier, France

## A paraître

---

Chameaux et dromadaires, animaux laitiers  
24-26 octobre 1994, Nouakchott, Mauritanie

Couplage de modèles en agriculture  
14-15 juin 1995, Montpellier, France

# Interactions insectes-plantes

Actes des 5<sup>e</sup> journées du groupe de travail relations insectes-plantes

**A** l'époque de l'expansion des produits chimiques, l'étude de la relation insecte-pesticide a été largement favorisée. Depuis l'essoufflement de cette méthode de contrôle, la communauté scientifique porte une attention renouvelée à la relation fondamentale « insectes-plantes ». On passe ainsi d'une pratique empirique ancienne à une analyse rationnelle des mécanismes physiologiques concernant les perceptions des plantes hôtes par les insectes ou de la réponse de celles-ci à leurs agresseurs. Afin de favoriser les échanges entre chercheurs nationaux, le groupe de travail « Relation insectes-plantes » s'est réuni pour la cinquième fois, à Montpellier. Cette année, le thème choisi a porté sur l'influence des modifications physiologiques de la plante en relation avec les facteurs environnementaux dans les relations plantes-insectes. Même si ce thème n'est pas nouveau, il reste toujours d'actualité. Ce document n'a pas la prétention de répondre aux questions que nous nous posons sur ce sujet, mais d'y apporter quelques réflexions. Il se trouve, d'une part que les réactions des plantes aux ravageurs relèvent de processus complexes et souvent communs à de nombreuses espèces végétales, et d'autre part, que ces réactions sont influençables par divers facteurs de l'environnement. Non seulement ces connaissances apporteront des alternatives en matière de lutte ou de production intégrée (nouvelle révolution verte rizicole en Asie), mais elles nous aideront à mieux préparer les équilibres biologiques du siècle prochain.

## Insect-Plant Interactions

Proceedings of the 5<sup>th</sup> Seminar of the Insect-Plant Workshop

**A**t the time when chemical use was increasing, the study of insect-pesticide relations was widely favoured. As this control method tails off, the scientific community is paying renewed attention to the fundamental relation "insect-plant". We pass thus from an ancient empirical practice to a rational analysis of the physiological mechanisms involved in the perception of host plants by insects and the response of host plant to attack. In order to favour exchanges between national researchers, the working group "plant-insect relations" met for the fifth time, in Montpellier. This year, the chosen theme concerned the influence on plant-insect relations of the physiological changes of the plant in relation to environmental factors. Although this is not a new theme, it remains topical. This document does not try to answer the questions we ask ourselves on the subject, but attempts to contribute a few thoughts. It is noted that the reactions of plants to pests involve complex processes often common to many plant species, and that these reactions can be influenced by various environmental factors. Not only will this knowledge offer alternatives in matters of integrated control and production (new green revolution on rice in Asia), but it will help us to better prepare the biological equilibria of the next century.



Institut français de recherche scientifique  
pour le développement en coopération



Centre de coopération internationale en recherche agronomique  
pour le développement

Diffusion : CIRAD-CA  
BP 5035, 34032 Montpellier Cedex 1, France

ISBN 2-7099-1346-1 (ORSTOM)  
ISBN 2-87-614-259-7 (CIRAD)  
ISSN 1264-112X