

**Conséquences évolutives des relations entre le puceron et son
 prédateur en présence de substances allélochimiques chez les
 Brassicacae**

F. FRANCSIS

Unité de Zoologie générale et appliquée, Faculté universitaire des Sciences
 agronomiques, Passage des Déportés 2, B-5030 Gembloux (Belgique)
 E-mail : francis.f@fsagx.ac.be

RÉSUMÉ :

Les Brassicacae représentent une large gamme de plantes cultivées incluant des
 espèces oléagineuses et maraichères. La présence de composés secondaires
 (glucosinolates) et de leurs produits de dégradation (isothiocyanates) conditionne
 l'infestation et le développement des ravageurs de ces cultures. Le but de cette étude
 est de mettre en évidence les effets de ces substances allélochimiques sur les
 pucerons *Myzus persicae* Sultzer (généraliste) et *Brevicoryne brassicae* L.
 (spécialiste) ainsi que sur leur prédateur naturel *Adalia bipunctata* L.
 (Coccinellidae). Les stratégies évolutives au niveau de chaque intervenant de ce
 modèle tritrophique sont développées.

Mots-clés : *Myzus persicae*, *Brevicoryne brassicae*, *Adalia bipunctata*,
 glucosinolates, tritrophique

**SUMMARY : Evolutionary consequences of aphid - predator relations in
 presence of allelochemicals from Brassicacae**

Many Brassicacae species are cultivated as vegetable or oilseed plants. Secondary
 plant compounds (glucosinolates) and their degradation products (isothiocyanates)
 are present in this botanical family. Pest infestation and development depend on the
 occurrence of these allelochemicals in Brassicacae crops. The aim of this work is to
 underline the effects of secondary plant substances on both specialist (*Brevicoryne
 brassicae* L.) and generalist (*Myzus persicae* Sultzer) aphids but also on their
 predator, *Adalia bipunctata* L. Evolutionary strategies at each level of this tritrophic
 model are discussed.

Key words : *Myzus persicae*, *Brevicoryne brassicae*, *Adalia bipunctata*,
 glucosinolates, tritrophic

Tableau 1 - Analyse du comportement du modèle sur 18 essais indépendants
 Analysis of the model results on 18 independent experiments

Avis du modèle / Réalité	Traitement nécessaire	Traitement inutile
Traiter	10 cas / 18 Gain : 572 F	5 cas / 18 Perte : 79 F
Ne pas traiter	0 cas / 18 Perte : 722 F	3 cas / 18 Perte : 71 F

CONCLUSION

Cette étude montre qu'un mode de raisonnement bayésien appliqué à un modèle
 déterministe de dynamique des populations s'avère être une approche intéressante en
 information incomplète (aucune information sur le virus).

Cette étude a montré qu'une stratégie de protection raisonnée fondée sur
 l'utilisation du modèle (gain moyen de 284 F/ha/an) semble plus avantageuse que
 l'option "protection systématique" (gain moyen de 233 F/ha/an, sous l'hypothèse
 d'un coût de 200F/ha/an pour un traitement de semence systématique).

Cependant de nombreux points restent à améliorer. Ainsi, la prise en compte du
 pouvoir virulifère des pucerons ailés au piège à succion devraient améliorer
 sensiblement la qualité de la prédiction (les 5 cas sur 18 pour lesquels le modèle se
 trompe). De même, la connaissance de la proportion de femelles virginoformes seules
 susceptibles d'infester les semis de céréales d'hiver pourrait améliorer la fiabilité
 lors de l'utilisation des données de captures au piège à succion. Enfin, l'approche
 bayésienne offre un cadre méthodologique adéquat susceptible de faciliter la prise en
 compte de la variabilité des scénarios climatiques possibles.

BIBLIOGRAPHIE

- BANKS, P. M., DAVIDSON, J. L., BARIANA, H., LARKIN P. J. (1995) -
 Effects of BYDV on the yield of winter wheat. *Aust. J. Agric. Res.* 46, 935-946.
- ELLOIT, N. C., KIECKEFER, R. W. (1989) - Effects of constant and
 fluctuating temperatures on immature development and age-specific life tables of
Rhopalosiphum padi L. *Can. Entomol.* 121, 131-140.
- GELMAN, A., CARLIN, J. B., STERN, H. S., RUBIN, D. B. (1995) - Bayesian
 data analysis. Ed Chapman & Hall. *Col. Texts in Statistical Science*, 526 pp.
- PLANTÉGENEST, M., PIERRE, J. S., VAN WAETERMEULEN, X.,
 ASTRUC, E. (1999) - Colibri : les bases scientifiques d'un modèle de prévision
 des populations du puceron des épis *Sitobion avenae*. *Phytoma* 516, 45-47.
- PLUMB, R. T. (1983) - Barley yellow dwarf virus : a global problem.
 In « Advances in Disease Vector Research », 6. Eds by R. T. Plumb ; Springer
 Verlag, New York, Inc, 162-171.
- WILLIAMS, C. T. (1980) - Low temperatures mortality of cereal aphids. *Bull.*
OILB/SKOP, III, 63-66.

Introduction

Les glucosinolates, composés thioglucosides, sont présents dans tous les organes des espèces cultivées de Brassicaceae. Ces substances ont été détectées dans 11 familles de dicotylédone (Fenwick *et al.*, 1983). L'enzyme myrosinase (thioglucosidase) est également présent dans la plante mais stocké séparément des glucosinolates. Tout processus réduisant l'intégrité cellulaire des tissus végétaux engendre l'induction de la dégradation des glucosinolates par cet enzyme (Heaney et Fenwick, 1995). Lorsque les tissus sont endommagés, les produits toxiques d'hydrolyse sont relâchés. La nature de ces composés peut varier : thiocyanates, nitriles et isothiocyanates (ITC), ces derniers contribuent en partie au système de défense de la plante (Porter *et al.*, 1991).

Les glucosinolates et/ou leurs produits de dégradation peuvent présenter des propriétés répulsives ou toxiques pour certains insectes et animaux herbivores (Lamb, 1989). La plupart des insectes qui s'attaquent aux Brassicaceae sont attirés, stimulés à se nourrir ou à pondre par la présence d'ITC ou de glucosinolate (Blau *et al.*, 1978). Même si ces ravageurs phytophages sont inféodés aux crucifères comme plante hôte, certains d'entre eux perçoivent ces produits de dégradation comme étant toxiques. Les insectes spécialistes de Brassicaceae ont dû évoluer de manière à minimiser l'effet toxique de ces composés lors de l'infestation de leur plante hôte et ont adopté ces substances comme signal d'identification de l'espèce végétale qu'ils attaquent (Lamb, 1989).

Les principaux mécanismes de détoxification chez les animaux et les plantes sont l'hydrolyse, l'oxydation et la conjugaison visant à la production de composés présentant des propriétés hydrophiles pouvant être plus facilement excrétés. Les glutathion S-transférases (GST) appartiennent à cette dernière catégorie et catalysent la conjugaison du glutathion réduit (GSH), via la formation d'un lien thioether, avec un grand nombre de composés électrophiles (Hayes *et al.*, 1990). Finalement, la formation d'acide mercapturique mène à la métabolisation et l'élimination de xenobiotiques. Cette capacité accrue de métaboliser de nombreuses substances toxiques, lorsque l'activité de ces GST est induite, peut mener à des résistances à de nombreuses molécules chimiques dont de nombreux pesticides (Clark, 1990).

La compréhension de l'écologie chimique est essentielle pour déterminer les relations existant entre niveaux trophiques (Pickett *et al.*, 1992). Si les substances secondaires de plante démontrent un rôle majeur dans les infestations de ravageurs phytophages (Bratsten, 1988), elles peuvent également influencer les performances des auxiliaires. En considérant le troisième niveau trophique (les ennemis naturels des phytophages), les aspects non seulement écologiques mais également d'amélioration des moyens de contrôle biologique doivent être pris en compte (Poppy, 1997). Si l'effet des glucosinolates et de leurs produits d'hydrolyse sur le

comportement des phytophages a été étudié (Lamb, 1989), l'impact de ces substances allélochimiques sur les prédateurs des ravageurs de Brassicaceae n'a jamais été déterminé.

Matériel et méthodes

Élevage des insectes et culture des plantes

La fève de marais (*Vicia fabae*) exemple de glucosinolate, la moutarde blanche (*Sinapis alba*) contenant 120 $\mu\text{mol/g}$ de sinalbine et le colza (*Brassica napus*, variété Alaska) incluant 20 $\mu\text{mol/g}$ de glucosinolates ont été cultivés dans des pots en plastique de 10 cm de diamètre dans une chambre conditionnée à la température de $20 \pm 2^\circ\text{C}$ et une photopériode de 16 heures de lumière par jour. Les fèves sont semées dans des pots contenant un mélange de perlite / vermiculite alors que les espèces de Brassicaceae sont cultivées dans du compost ordinaire.

La coccinelle *Adalia bipunctata* L. et le puceron *Myzus persicae* Sulzer sont en élevage permanent depuis plusieurs années au laboratoire. Quelques individus d'une souche de *Brevicoryne brassicae* L. ont été collectés sur le terrain à l'automne 1998, et multipliés dans les mêmes conditions que les insectes cités précédemment. *M. persicae* et *B. brassicae* sont élevés sur fève, moutarde blanche et colza lorsque les plantes ont une taille suffisante, c'est-à-dire 4-6 feuilles pour les Brassicaceae et 4-5 cm de haut pour *V. fabae*. Les pucerons sont élevés au moins deux semaines sur leur plante hôte avant d'être utilisés comme nourriture pour *A. bipunctata*.

Produits et réactifs

Le 1-Chloro-2,4-dinitrobenzène (CDNB) est préparé dans de l'éthanol à une concentration de 200 mM. La solution de glutathion réduit (GSH) est dissoute dans de l'eau distillée et est utilisée à la concentration de 100 mM. Les différents produits ont été fournis par les firmes Fluka Chemical ou Vel. La solution de sinigrine est préparée dans un tampon acétate (0.05 M et pH 5.0) à la concentration de 0.15 mM.

Détermination de l'activité glutathion S-transférases

Les dosages enzymatiques ont été réalisés sur des coccinelles nourries avec diverses combinaisons espèce de puceron / plante hôte durant leur cycle larvaire ainsi que trois semaines après l'émergence des adultes. En ce qui concerne les pucerons, ceux-ci se sont alimentés au moins deux semaines sur la plante hôte étudiée avant d'être utilisés.

Résultats

Détermination de l'activité glutathion S-transférases chez les pucerons

L'activité GST de *M. persicae* croît en fonction de la teneur en glucosinolates de la plante hôte (Figure 1). En effet, le colza (B.n.) correspond à une situation intermédiaire (48.29 nmoles/min/mg de protéines) entre V.f. (43.52 nmoles/min/mg de protéines) et S.a. (61.26 nmoles/min/mg de protéines). L'activité enzymatique de ce puceron élevé sur S.a. est significativement différente de celles correspondant à V.f. et B.n. (respectivement $t = 3.116$ et $P = 0.0055$; $t = 2.393$ et $P = 0.027$). La comparaison des résultats relatifs à *M. persicae* ayant colonisé B.n. et V.f. ne révèle aucune différence significative ($t = 0.9103$ et $P = 0.2585$). Bien que l'activité enzymatique de *B. brassicae* soit supérieure chez les insectes inféodés à la moutarde blanche, cette différence n'est pas significative ($F = 0.46$ et $P = 0.505$). Si on compare les activités GST des deux espèces aphidiennes inféodées à la même plante hôte, les mesures effectuées chez *B. brassicae* sont significativement inférieures à celles réalisées chez *M. persicae* ($F = 140.83$ et $P = 0.000$; $F = 27.87$ et $P = 0.000$ respectivement pour S.a. et B.n.).

Détermination de l'activité myrosinase

La détermination de l'activité myrosinase est basée sur la mesure du taux de décroissance de l'absorbance de la sinigrine à 227 nm pendant l'hydrolyse enzymatique (Palmieri et al, 1987). Le but de cette manipulation est d'effectuer un dosage qualitatif permettant de conclure à l'absence ou à la présence significative de la myrosinase chez les insectes étudiés. Les coccinelles et les pucerons (50 mg) sont broyés dans de l'eau distillée à l'aide d'un potter dans un tube à centrifuger. Les homogénats sont ensuite centrifugés à 10000 g pendant 10 minutes. Deux cent microlitres d'extrait enzymatique sont ensuite ajoutés au 1.8 ml de substrat (solution de sinigrine). La mesure de la décroissance de l'absorbance s'effectue à température ambiante en utilisant un spectrophotomètre Shimadzu 2100.

Traitements statistiques

Les résultats des dosages d'activités enzymatiques ont été traités en effectuant des analyses de la variance (ANOVA) suivies, si nécessaire, par des comparaisons de moyennes en utilisant la méthode de la plus petite différence significative. Les moyennes d'activités GST sont calculées sur base d'au moins dix mesures spectrophotométriques. Le logiciel MINITAB (vs 11.2) a été utilisé pour réaliser le traitement statistique des données. Afin de faciliter la compréhension de ces dernières, des abréviations sont utilisées pour les plantes hôtes. *Vicia fabae*, *Sinapis alba* et *Brassica napus* sont remplacées respectivement par V.f., S.a. et B.n.

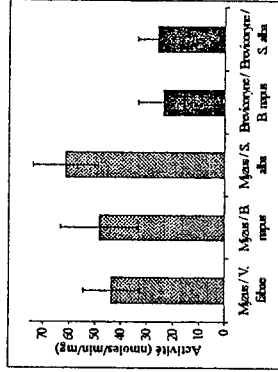


Figure 1 : évolution de l'activité glutathion S-transférases des espèces de puceron, *Myzus persicae* et *Brevicoryne brassicae* en fonction de leur plante hôte

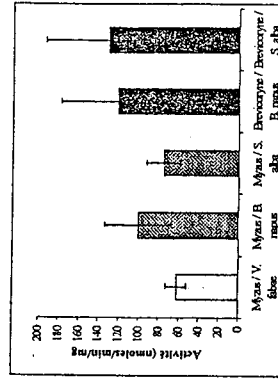


Figure 2 : évolution de l'activité glutathion S-transférases d'*Adalia bipunctata* en fonction des combinaisons espèce puceron / plante hôte

Détermination de l'activité glutathion S-transférases chez *Adalia bipunctata*

Chez la coccinelle, l'activité GST évolue également en fonction de la teneur en glucosinolates de la plante hôte de pucerons (Figure 2). *B. brassicae* élevé sur S.a. et B.n. engendrent de fortes augmentations d'activité enzymatique chez *A. bipunctata* (respectivement 121.02 et 130.44 nmoles/min/mg de protéines). Des résultats identiques sont observés avec *M. persicae* (100.3 et 77.3 nmoles/min/mg de protéines respectivement pour B.n. et S.a. comparées aux 62.1 du témoin *Myzus* /

Les coccinelles sont broyées individuellement à l'aide de petit potter dans un tube eppendorf de 1,5 ml contenant 600 µl de tampon phosphate (pH 7,0). Les homogénats sont ensuite centrifugés à 4°C et 15000 g pendant 15 minutes en utilisant un Rotor Sigma 2K15. Cinquante microlitres de supernatant sont ajoutés aux 930 µl de tampon phosphate, 10 µl de solution GSH et aux 10 µl de solution mère de CDNB. L'échantillon témoin est constitué de 980 µl de tampon et de 10 µl des solutions de GSH et de substrat. La concentration en protéine des homogénats est déterminée par la méthode de Lowry. Une série de dilutions de BSA (bovine serum albumine) est utilisée pour établir la droite d'étalonnage qui détermine les coefficients d'extinction. Un spectrophotomètre Shimadzu UV-160A est utilisé pour mesurer l'activité enzymatique (à 340 nm) et la concentration en protéine (à 750 nm). Les dosages enzymatique et protéinique relatifs aux pucerons sont effectués en prélevant environ 50 mg d'insectes sur la plante hôte considérée. Ces derniers sont directement broyés et homogénéisés dans les mêmes conditions que les coccinelles.

V.f.). Les comparaisons des activités GST de coccinelles nourries avec *Myzus* S.a. / *Myzus* B.n. ; *Myzus* V.f. / *Myzus* B.n. et *Myzus* V.f. / *Myzus* S.a. se révèlent toutes significativement différentes les unes des autres (respectivement $t = 3.466$ et $P = 0.0014$; $t = 5.541$ et $P = 0.000$; $t = 2.582$ et $P = 0.0156$). Si on compare les activités d'*A. bipunctata* nourries avec les deux espèces aphidiennes élevées sur la même plante, aucune différence significative n'est observée dans le cas de *B.n.* (F = 2.08 et P = 0.154) alors que les mesures correspondant à *B. brassicae* sont supérieures dans le cas de S.a. (F = 22.60 et P = 0.000).

Détection de l'activité myrosinase

Une forte activité myrosinase a pu être observée chez le puceron *B. brassicae* (Figure 3a). Par contre, aucune activité enzymatique n'a pu être détectée chez *M. persicae* et *A. bipunctata* (Figure 3b et c). L'absence d'activité myrosinase lors de l'analyse de *M. persicae* inféodé à une Brassicaceae permet de conclure à la nature endogène de la myrosinase chez *B. brassicae*.

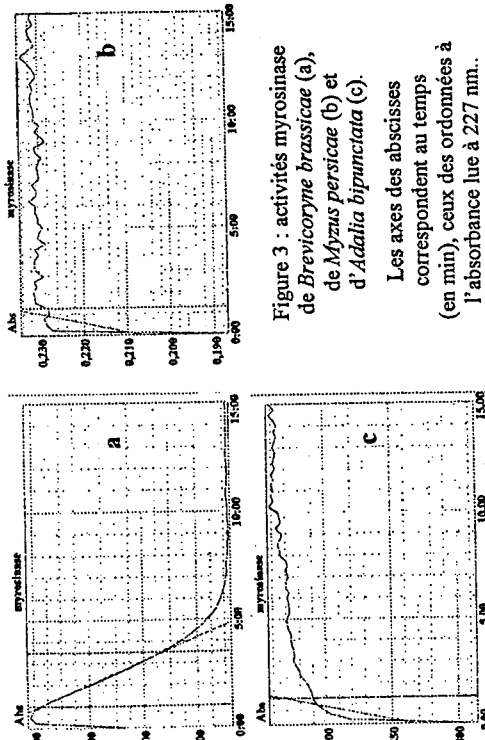


Figure 3 - activités myrosinase de *Myzocoryne brassicae* (a), de *Myzus persicae* (b) et d'*Adalia bipunctata* (c).

Les axes des abscisses correspondent au temps (en min), ceux des ordonnées à l'absorbance lue à 227 nm.

Discussion - Conclusion

Les résultats des observations des paramètres biochimiques étudiés dans ce travail permettent d'établir une ébauche de modèle évolutif des différents protagonistes auxquels nous nous sommes intéressés (Figure 4).

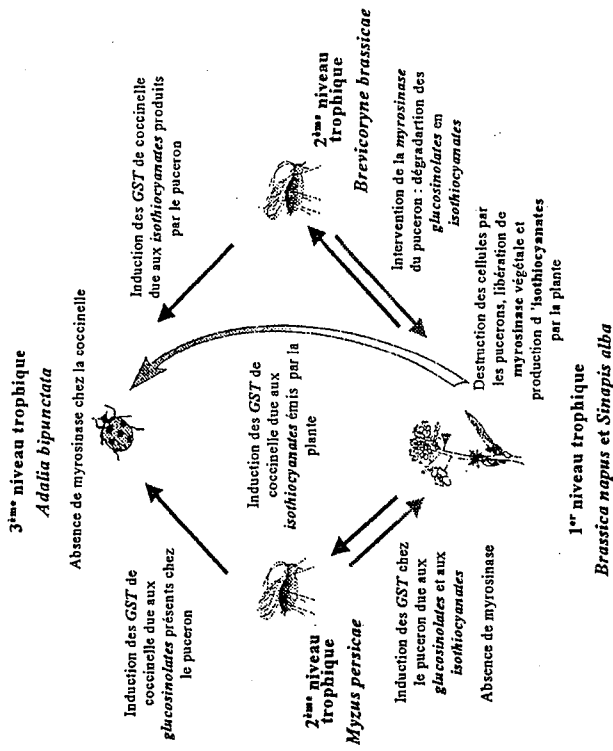


Figure 4 : schéma présentant la co-évolution plante - pucerons - coccinelle

Pour faire face à la présence de ces substances secondaires de Brassicaceae, deux types de réponses ont été développés par les phytophages. D'un côté, les insectes généralistes présentent des inductions du système détoxification GST (*M. persicae*), de l'autre, les spécialistes des crucifères possèdent le système myrosinase. L'augmentation des quantités de GST chez *M. persicae* lui permet de détoxifier les glucosinolates, de les métaboliser et de les excréter par le miellat qu'il produit en grande quantité. Des études basées sur l'alimentation de rats avec différentes quantités de Brassicaceae ont permis d'établir une relation linéaire entre la quantité de choux dans la ration alimentaire et l'induction des GST (Bogaards *et al.*, 1990). L'autre espèce aphidienne considérée, *B. brassicae* dégrade les glucosinolates en isothiocyanates volatiles grâce à la myrosinase qu'il synthétise. Peu de miellat est retrouvé sur les surfaces foliaires des plantes colonisées par cette espèce de puceron. Lorsqu'on s'intéresse au niveau trophique supérieur, le prédateur aphidiphage s'est également adapté à la présence des allélochimiques : *A. bipunctata* produit des quantités accrues de GST lorsqu'elle est alimentée de pucerons colonisant des Brassicaceae. L'exposition des coccinelles à des ITC induit également ce système de détoxification (Francis *et al.*, 1999). Elle ne possède cependant pas le système myrosinase catalysant la dégradation des glucosinolates en produits volatiles.

MODÉLISATION DE L'INFESTATION DES PLANTES DE COLZA
D'HIVER PAR *BARIS COERULESCENS*

J. LÉRIN

Unité de Zoologie. INRA Poitou-Charentes - 86600 LUSIGNAN

RÉSUMÉ

Les larves de *Baris coerulescens* Scopoli attaquent la racine du colza d'hiver. Les femelles pondent dans le collet pendant environ 3 mois. Les œufs s'accumulent donc lentement dans les plantes. Le nombre total d'individus immatures par plante (œuf à nymphe) a été déterminé pendant 6 ans, du début à la fin de la ponte. La densité d'insectes, exprimée en proportion cumulée variant dans l'intervalle [0,1], en fonction d'une échelle en degrés-jours en base 10, varie en fonction des années. Le maximum d'infestation est atteint plus rapidement, à température égale, lors des années humides que lors des années sèches. Un modèle, basé sur une fonction de Weibull, décrit la croissance de la densité d'insectes par plante en fonction d'une échelle en degrés-jours corrigée selon le bilan hydrique du sol superficiel. Cette correction assure une bonne concordance entre les années et les lieux.

Mots-clés : modèle, *Baris coerulescens*, *Brassica napus*, dynamique des populations
SUMMARY: MODELING WINTER OIL-SEED RAPE PLANT INFESTATION
BY *BARIS COERULESCENS*

Baris coerulescens Scopoli is a pest attacking the tap root of winter oilseed rape. Females lay eggs in the root crown for >3 mo. Therefore eggs slowly accumulate in plants. The total number of immature individuals per plant (egg to pupa) was assessed throughout the whole reproduction period during a 6 yr study. Total insect density, expressed as the cumulative proportion of individuals found in plants, ranging in the interval [0,1], varies among years when plotted on a degree-days scale in base 10. The maximum of infestation was reached sooner during wet than during dry years. A model, based on a Weibull function describes the growth of insect density per plant as a function of degree-days corrected by a coefficient linked to the upper soil water content. This correction ensured a good concordance among years and places and the model was validated.

Keys words: model, *Baris coerulescens*, *Brassica napus*, population dynamics

La prospérité du développement des ravageurs de cultures illustre l'adéquation nutritionnelle et écologique entre insecte et plante hôte (Dethier, 1982). Les recherches concernant les interactions tritrophiques relatives aux arthropodes phytophages ne se sont développées que depuis peu (Vet & Dicke, 1992). De plus, un nombre réduit de ces études a été mené dans le cadre de systèmes de productions de végétales (van Emden, 1995). Ce travail a permis de souligner l'importance de l'écologie chimique dans les relations multitrophiques entre les insectes et la biomasse végétale : la plante hôte influence non seulement le comportement et la biologie des ravageurs phytophages mais également ceux de leurs prédateurs.

Références bibliographiques

- BLAU P.A., FEENEY P., CONTARDO L. & ROBSON D.S. (1978). Allylglucosinolate and herbivorous caterpillars : a contrast in toxicity and tolerance. *Science* 200, 1296-1298.
- BOGAARDS J.J.P., VAN OMMEN B., FALKE H.E., WILLEMS M.I. & VAN BLADEREN P.J. (1990). Glutathione S-transferases subunit induction patterns of Brussels sprouts, allyl isothiocyanate and goitrin in rat liver and small intestinal mucosa : a new approach for the identification of inducing xenobiotics. *Fd. Chem. Toxic.* 28, 81-88.
- BRATTSTEN L.B. (1988). Enzymatic adaptations in leaf-feeding insects to host plant allelochemicals. *J. Chem. Ecology* 14 : 10, 1919-1928.
- CLARK A.G. (1990). The glutathione S-transferases and resistance to insecticides. In: Glutathione S-transferases and drug resistance. *Proc. of 3rd Intern. GST Conf.*, Edinburgh 1989, 369-378.
- DETHIER V.G. (1982). Mechanism of host-plant recognition. *Ent. Exp. & App.* 31, 49-56.
- FENWICK G.R., HEANEY R.K. & MULLIN W.J. (1983). Glucosinolates and their breakdown products in food and food plants. *Critical Review in Food Science & Nutrition* 18, 123-201.
- FRANCIS F., HAUBRUGE E. & GASPAR C. (1998). Effects of isothiocyanates on the glutathione S-transferase activity from *Adalia bipunctata* L. (Coleoptera : Coccinellidae). *Med. Fac. Landbonw. Univ. Geni* (sous presse)
- HAYES J.D., PICKETT C.B. & MANTLE T.J. (1990). The glutathione S-transferases and their contributions to drug resistance in nature. In : Glutathione S-transferases and drug resistance. *Proc. of 3rd Intern. GST Conf.*, Edinburgh 1989, 3-15.
- HEANEY R.K. & FENWICK G.R. (1995). Natural toxins and protective factors in Brassica species, including rapeseed. *Natural Toxins* 3, 233-237.
- LAMB R.J. (1989). Entomology of oilseed Brassica crops. *Ann. Rev. Entomol.* 34, 211-229.
- PICKETT J.A., L.J. WADHAMS & WOODCOCK C.M. (1992). The chemical ecology of aphids. *Ann. Rev. Entomol.* 37, 67-90.
- POPPY G.M. (1997). Tritrophic interactions : improving ecological understanding and biological control? *Entomol. Exp. & App.* 21, 61-65.
- PORTER J.R., MORTON A.M., KIDDLE G., DOUGHTY K.J. & WALLSGROVE R.M. (1991). Variation in the glucosinolates content of oilseed rape (*Brassica napus* L.) leaves. Effect of leaf age and position. *Ann. Appl. Biol.* 118, 461-467.
- VAN EMDEN H.F. (1995). Host plant-Aphidophaga interactions. *Agr. Ecosys. Environ.* 52, 3-11
- VET L.E.M. & DICKE M. (1992). Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. *Annu. Rev. Entomol.* 37, 141-172