

Interaction entre la cochenille du manioc *Phenacoccus manihoti* et ses différentes plantes-hôtes: étude de la teneur de la sève en acide aminé et en sucre

M. Tertuliano & B. Le Rü

Laboratoire d'Entomologie Agricole, ORSTOM B.P. 181 Brazzaville, R. du Congo

Accepted: November 11, 1991

Key words: *Phenacoccus manihoti*, Pseudococcidae, resistance, amino acid, sugar, cassava, leaf extract, antibiosis

Résumé

L'analyse (acides aminés et sucres) d'extrait de feuille, de 5 variétés de manioc (*Manihot esculenta*), du Faux caoutchouc (Hybride de *M. esculenta* × *M. glaziovii*), du Poinsettia (*Euphorbia pulcherrina*) et du Talinum (*Talinum triangulare*), caractérisés par différents degrés de résistance par antibiose à la cochenille du manioc (*Phenacoccus manihoti* (Mat. Ferr.)) (Homoptera: Pseudococcidae), a été réalisée sur des extraits obtenus par centrifugation du matériel foliaire. Les teneurs en acides aminés, très différentes d'une plante à l'autre, apparaissent aussi importantes entre les variétés de l'espèce manioc qu'entre les différentes espèces végétales avec respectivement un rapport de variation de 4,5 et 5,5. De même, les teneurs en sucres (exprimées en équivalent saccharose), sont très différentes d'une plante à l'autre avec un rapport de variation de 1 à 33 entre les deux extrêmes, si l'on ne considère que l'espèce *M. esculenta*, il n'est plus que de 3,5.

Des différences dans les proportions relatives des acides aminés libres d'extrait de feuille sont observées aussi bien entre les variétés de manioc qu'entre les espèces végétales. Cependant pour toutes les plantes étudiées l'acide glutamique, la glutamine, l'éthanolamine, et l'alanine représentent près de 50% des acides aminés de l'extrait de feuille; l'acide aspartique, l'asparagine et la sérine près de 20% tandis que la tyrosine, la méthionine, l'isoleucine, la leucine et la lysine sont présents en très faibles pourcentages.

Le degré de résistance à la cochenille du manioc des différentes plantes-hôtes n'a pu être relié, ni à la teneur de leur extrait de feuille en acides aminés et en sucres, ni à leur composition relative en acides aminés. Il n'a pu être non plus relié au rapport Sucres/Acides aminés. Nos résultats suggèrent que des caractéristiques biochimiques autres que celles étudiées dans ce travail interviennent dans les mécanismes de résistance vis-à-vis de la cochenille du manioc.

Introduction

La cochenille farineuse du manioc (*Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero; Hom. Pseudococcidae) est l'un des principaux ravageurs du manioc

(*Manihot esculenta* Crantz; Euphorbiaceae) en Afrique tropicale depuis le début des années 1970 (Silvestre, 1973; Herren, 1987).

Après s'être orientées vers la lutte biologique, avec, dès 1982, le succès de l'introduction de

ORSTOM Fonds Documentaire

N° : 37638 ex 1

Cote : B

20 AVR. 1993

B 37638 ex 1

l'Encyrtidae sud-américain *Epidinocarsis lopezi* De Santis (Herren, 1987), les recherches se sont portées sur l'étude de la résistance naturelle de certaines variétés de manioc. En effet, l'un des meilleurs moyens pour renforcer l'impact des agents de lutte biologique consiste à sélectionner des variétés relativement peu favorables à la multiplication de leurs déprédateurs Van Emden et Wearing (1965), Starks *et al.* (1972), Dreyer et Campbell (1987), Auclair (1989). Cette stratégie, non seulement permet de limiter la reproduction du ravageur, mais augmente sa durée de développement, permettant ainsi une plus longue période d'intervention des entomophages. Dans ce contexte, l'un des objectifs de nos travaux est de préciser les relations existantes entre la cochenille du manioc et ses plantes-hôtes, afin de déceler chez certaines d'entre elles d'éventuels degrés de résistance.

Dans les conditions naturelles, la cochenille farineuse du manioc est inféodée au manioc et au Faux-caoutchouc (plante hybride de *M. esculenta* et de *M. glaziovii* Mull. Arg.) (Iheagwam, 1981); elle est également observée ponctuellement sur *Talinum* (*Talinum triangulare* Jacq., Portulacacae) (Neuenschwander *et al.*, 1986). En conditions de laboratoire elle peut également être maintenue sur *Poinsettia* (*Euphorbia pulcherrima* Willd., Euphorbiaceae) (Boussienguet, 1984). L'étude de la résistance de ses différentes plantes-hôtes vis-à-vis de *P. manihoti* a permis, au travers de la détermination de la capacité intrinsèque d'accroissement r_c (Laughlin 1965), de mettre en évidence différents degrés de résistance par antibiose (Le Rü *et al.*, 1991).

Parmi les mécanismes biochimiques d'une telle résistance, la teneur de la sève phloémienne des plantes, en acides aminés et en sucres, a été invoquée à maintes reprises, notamment chez les Homoptères Aphididae (Auclair *et al.*, 1957; Van Emden & Bashford, 1971; White, 1972, Dreyer & Campbell, 1987). Ainsi, la concentration en acides aminés libres et en sucres de la sève phloémienne de la luzerne *Medicago sativa* participe à sa résistance au puceron *Acyrtosiphon pisum* Harris (Febvay *et al.*, 1988). De même, le niveau de résistance des céréales, au puceron *Rhopalosiphum*

padi L., est corrélé positivement avec la concentration de certains acides aminés libres de leur sève phloémienne (Weibull, 1988). Aucune donnée n'est semble-t-il disponible sur Homoptère Coccoidea.

Cet article se propose de présenter les résultats d'analyses des acides aminés libres et des sucres d'extrait de feuille de différentes plantes-hôtes de la cochenille farineuse du manioc. Les résultats sont discutés en relation avec le degré de résistance de ces différentes plantes-hôtes, vis-à-vis du ravageur (Le Rü *et al.*, 1991).

Matériel et méthode

Les plantes-hôtes

Huit plantes-hôtes au total ont fait l'objet de notre étude. Elles ont été choisies à l'issue d'une expérimentation sur les relations d'antixénosis et d'antibiosis entre *P. manihoti* et ses plantes-hôtes (Le Rü *et al.*, 1991).

Les 5 variétés de manioc (*M. esculenta*) retenues pour cette étude couvrent l'ensemble de la gamme des valeurs prises par la capacité intrinsèque d'accroissement (r_c) (Laughlin, 1965) pour cette espèce: Incoza ($r_c = 0.133$), 3M8 ($r_c = 0.141$), M'pembe et 30M7 ($r_c = 0.150$) et 59M2 ($r_c = 0.153$). Bien que ces valeurs ne soient pas significativement différentes (Tableau 1), les différences significatives observées lors des criblages variétaux en terme d'antixénosis (Le Rü *et al.*, 1991) suggèrent que des différences nutritionnelles pourraient exister. Le Faux-caoutchouc ($r_c = 0.141$) héberge d'importantes populations de *P. manihoti* tout au long de l'année contrairement au manioc sur lequel elle n'est observée que pendant 3 à 5 mois. Le *Talinum* ($r_c = 0.150$) est une adventice des parcelles de manioc et héberge parfois d'importantes populations de cochenille du manioc (Neuenschwander *et al.*, 1986; Le Rü, unpubl.). Le *Poinsettia* ($r_c = 0.038$), parfois utilisé au laboratoire comme plante de substitution pour la multiplication de la cochenille (A. Panis & J. Boussienguet, pers. comm.), n'est jamais attaqué par cette dernière en conditions naturelles au Congo.

Tableau 1. Concentrations totales de l'extrait de feuille en acides aminés libres et en sucres équivalent saccharose (les valeurs sont exprimées en nmoles/mg de poids sec d'échantillon, moyenne \pm s.e.; n = 5), rapport sucres/acides aminés de l'extrait de feuille, et, capacité intrinsèque d'accroissement (r_c) de *P. manihoti* (*d'après Le Rü *et al.*, 1991), pour les 5 variétés de manioc (59M2, 30M7, M'Pembe, 3M8, Incoza), le Faux-caoutchouc, le Poinsettia et le Talinum.

Table 1. The total concentration (nmoles/mg dry weight of leaf extract) of free amino acids and sugars (expressed as saccharose equivalents), as well as the ratios of sugar/amino concentrations from five varieties of cassava (59M2, 30M7, M'Pembe, 3M8 and Incoza), a hybrid obtained by crossing *M. esculenta* and *M. glaziovii*, *poinsettia* (*Euphorbia pulcherrina*) and *talinum* (*Talinum triangulare*). The intrinsic capacity of increase (r_c) of *Phenacoccus manihoti* on these host plants (from Le Rü *et al.*, 1991) are also included.

Plante-hôte	Concentration acides aminés \pm S.E.	Concentration sucres \pm S.E.	Rapport sucres/acides aminés	r_c *
<i>M. esculenta</i> var. 59M2	16 \pm 3 bc	1336 \pm 332 c	83	0,153 \pm 0,004 ab
<i>M. esculenta</i> var. 30M7	12 \pm 3 bc	714 \pm 341 de	60	0,150 \pm 0,011 ab
<i>M. esculenta</i> var. M'Pembe	16 \pm 4 bc	2503 \pm 921 a	156	0,150 \pm 0,003 ab
<i>M. esculenta</i> var. 3M8	52 \pm 12 a	2063 \pm 489 b	40	0,141 \pm 0,005 b
<i>M. esculenta</i> var. Incoza	17 \pm 8 bc	878 \pm 400 d	52	0,133 \pm 0,003 b
<i>M. esculenta</i> \times <i>M. glaziovii</i> (Faux-caoutchouc)	10 \pm 1 c	1214 \pm 395 cd	121	0,141 \pm 0,003 b
<i>Euphorbia pulcherrina</i> (Poinsettia)	14 \pm 3 bc	318 \pm 213 ef	23	0,038 \pm 0,003 c
<i>Talinum triangulare</i> (talinum)	21 \pm 22 b	75 \pm 82 f	4	0,150 \pm 0,001 ab

Les moyennes affectées de lettres identiques ne sont pas significativement différentes au seuil de 1% pour les concentrations totales en acides aminés ($F_{32}^7 = 10,32$), pour les concentrations totales en sucres ($F_{32}^7 = 17,24$), et, pour r_c ($F_{32}^7 = 243,71$).

Within column means sharing the same letter do not differ significantly at $P = 0,01$ (F values are 10.32, 17.24 and 243.71 for total amino acid concentrations, total sugar concentrations and r_c).

Les plantes sont obtenues à partir de boutures de trente centimètres plantées verticalement aux 2/3 de leur longueur dans de la terre contenue dans des sacs en plastique (30 \times 22 cm). Les pots sont placés sous ombrière, pendant 2 semaines afin de favoriser leur démarrage. Puis, ils sont disposés en pleine lumière jusqu'au stade 9–10 feuilles (environ 70 cm de hauteur), atteint après 9 à 10 semaines. Un arrosage est effectué 2 fois par semaine.

Les pots (5/ plante-hôte) sont alors placés pendant 2 mois dans un local climatisé dont la température moyenne est de 25 °C (extrêmes 21°–32 °C) et l'hygrométrie relative moyenne est de 70% (extrêmes 60%–80%). La photophase est de 12 heures par jour. Dans ces conditions expérimentales, identiques à celles décrites par Le Rü *et al.* (1991) lors de l'étude de l'expression du potentiel biotique de la cochenille, nous obtenons des plantes de 19 feuilles, mesurant 90–100 cm de hauteur et âgées de 4 mois. Dans les conditions naturelles, au Congo, les attaques de cochenilles

interviennent, en début de saison sèche, sur des plantes âgées de 3 à 8 mois issues des bouturages de manioc qui sont surtout pratiqués de novembre à avril.

Obtention et analyse de la sève

Nous prélevons (vers 10 h du matin), avec leur pétiole, quinze feuilles (3^e, 4^e et 5^e à partir de l'apex), à raison de 3 feuilles par pots, pour chacune des 8 plantes-hôtes étudiées.

L'apparition de latex dans les minutes qui suivent le prélèvement des feuilles n'a pas permis d'utiliser la technique de prélèvement de Pate & Sharkey (1974). Les feuilles sont dépétiolées puis enveloppées (par lot de 3) dans un filtre en nylon à mailles de 0.05 mm. Celui-ci est placé (base des feuilles dirigées vers le fond) dans un tube de centrifugation, au fond duquel ont été disposées dix billes de verre de 5 mm de diamètre, afin d'éviter que le liquide extrait ne soit au contact du filtre en fin de centrifugation. Après une centrifugation à 6000 tours/mn (4290 g) pendant

10 mn, à 0 °C, le filtrat est recueilli dans des tubes de lyophilisation qui sont stockés à -20 °C. Le filtrat est surtout constitué de sève brute, de sève élaborée et de liquide intercellulaire car la vitesse et le temps de centrifugation ont été déterminés de manière à ce que les parois cellulaires des feuilles ne soient pas détruites au cours de l'opération (Méthode de Rohringer *et al.* (1983) modifiée). La présence de liquide intercellulaire et la probable contamination par du liquide intracellulaire nous

de 1‰, et, par la méthode de la PPDS au seuil de 1‰. Les relations entre les différents paramètres sont appréciées par simple corrélation au seuil de 5%.

La variabilité de la composition en acides aminés de tous les individus des 8 plantes-hôtes a été étudiée par une Analyse Factorielle Discriminante multivariée (Dagnélie, 1975): 8 populations × 5 répétitions = 40 individus; 18 variables = acides aminés (%).

peut être reliée à la teneur de leur extrait de feuille en acides aminés et en sucres ($r = 0,12$ et $0,39$ respectivement, $P = \leq 5\%$). Elle ne peut être non plus reliée au rapport Sucres/Acides aminés ($r = 0,37$, $P = \leq 5\%$) qui influence le taux de reproduction de certains Aphides (Maltais & Auclair, 1957, Febvay *et al.*, 1988) (Tableau I).

Composition en acides aminés (Figs. 1 & 2)

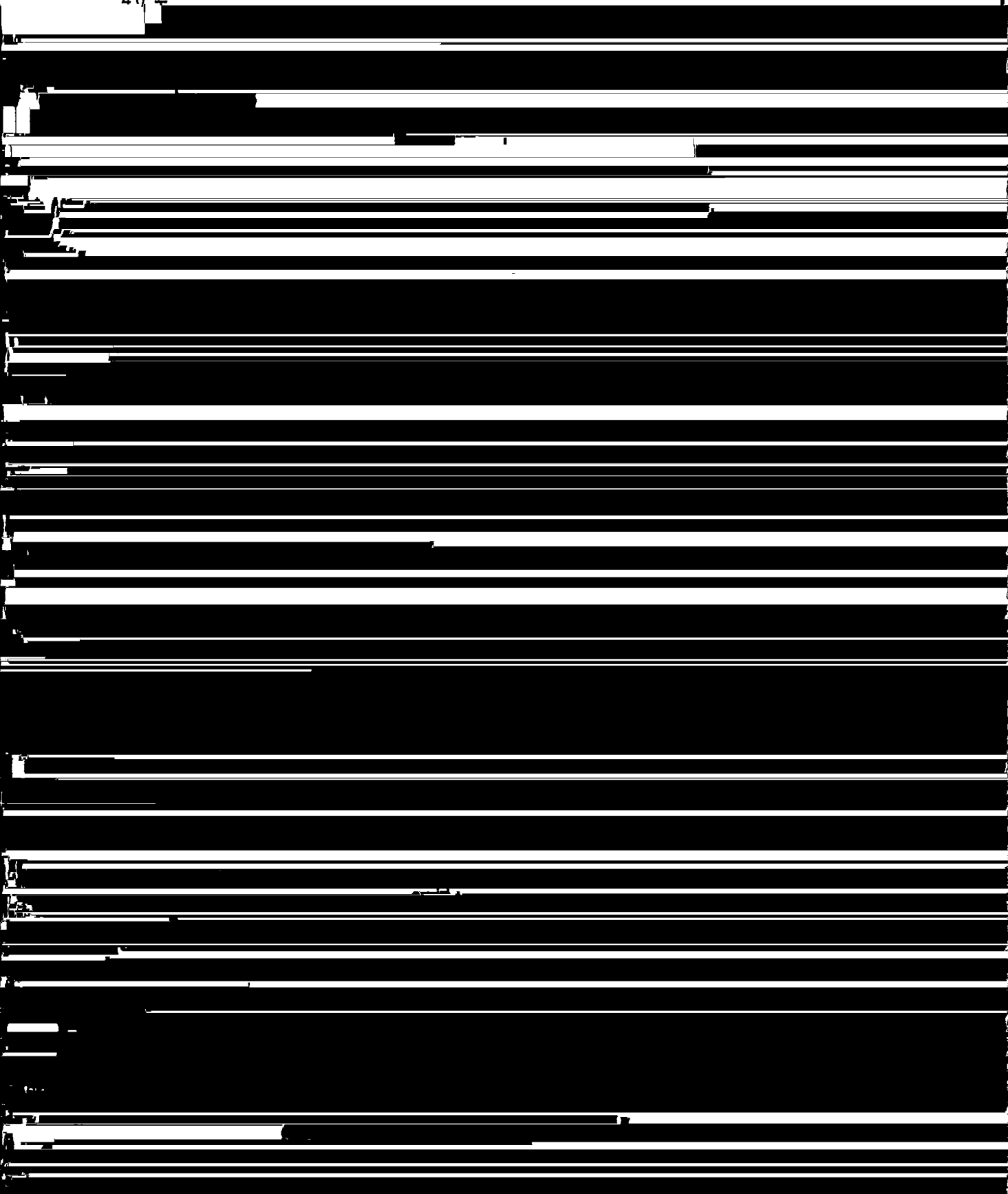
L'acide glutamique, la glutamine, l'éthanolamine, et l'alanine représentent près de 50% des acides aminés de l'extrait de feuille des plantes étudiées; l'acide aspartique, l'asparagine et la sérine près de 20% tandis que la tyrosine, la méthionine, l'isoleucine, la leucine et la lysine sont présents en très faibles pourcentages. Les proportions relatives des acides aminés libres de l'extrait de feuille sont cependant différentes d'une plante à l'autre

tante ($r_c = 0,133$) et la plus sensible ($r_c = 0,153$) à *P. manihoti* en terme d'antibiose. Par ailleurs, 2 plantes-hôtes dont la composition de l'extrait de feuille en acides aminés est très différentes (la variété de manioc 3M8 et le Faux-caoutchouc) se comportent de façon identique en terme de résistance par antibiose vis-à-vis de la cochenille du manioc ($r_c = 0,141$).

Discussion et conclusion

Ce travail est le premier à aborder l'étude de l'incidence de la composition de la sève en sucres et en acides aminés libres sur la résistance des plantes à la cochenille du manioc et aux cochenilles Pseudococcidae en général. La plupart des travaux sur la résistance des plantes aux insectes

°/°
40



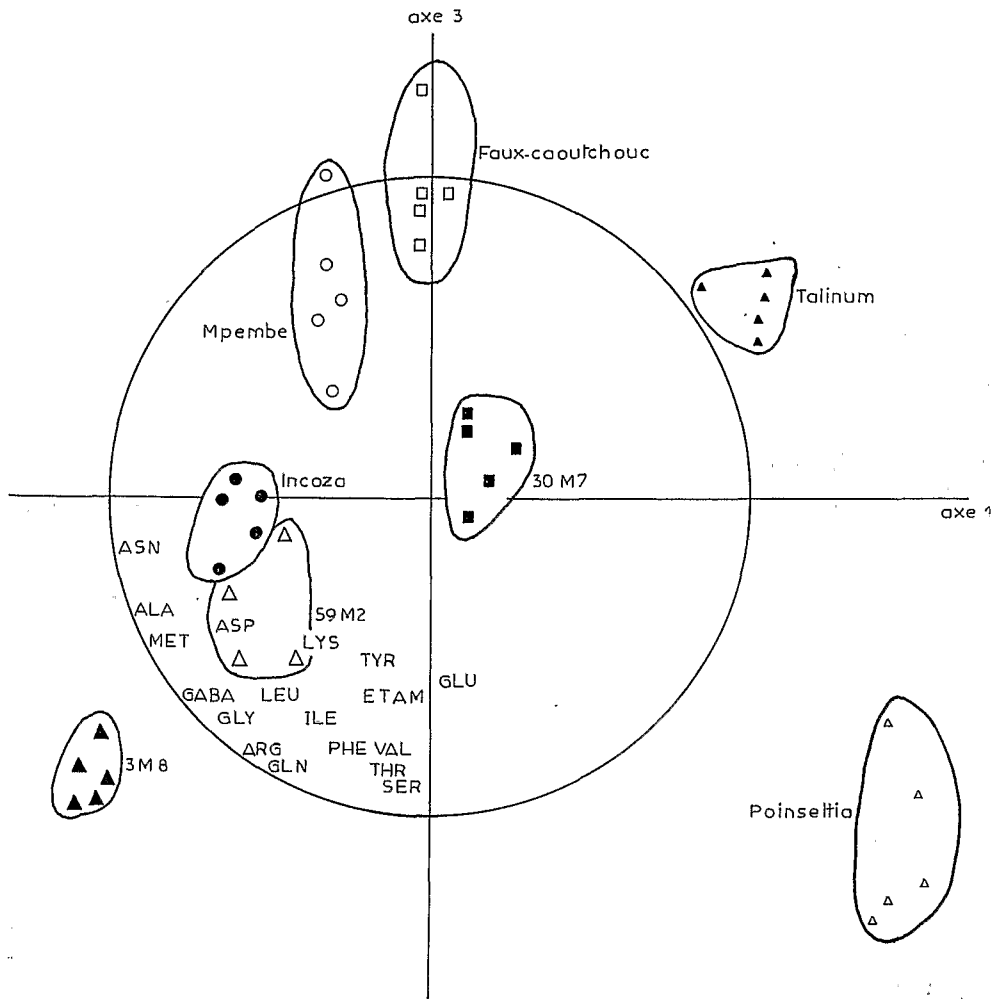
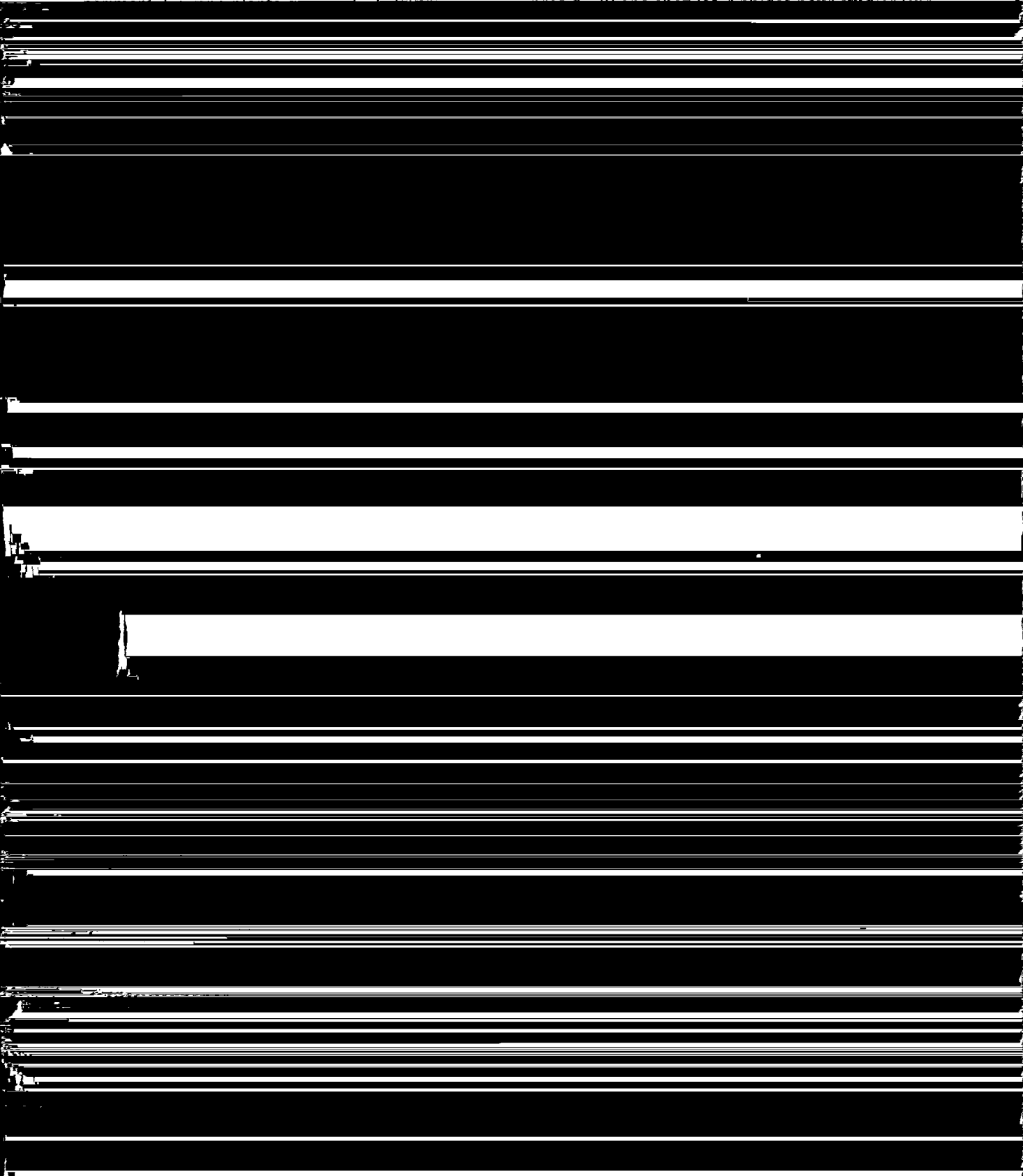


Fig. 2. Analyse Factorielle Discriminante des profils des acides aminés de l'extrait de feuille des 5 variétés de manioc (59M2, 30M7, M'Pembe, 3M8, Incoza), du Faux-caoutchouc, du Poinsettia et du Talinum. (Projections individuelles sur le 2^d plan factoriel et cercle des corrélations des variables avec les facteurs 1 et 3).

Fig. 2. Factorial discriminant analysis of the amino acid profiles obtained from the leaf extracts of five varieties of cassava (59M2, 30M7, M'Pembe, 3M8 and Incoza), a hybrid obtained by crossing *M. esculenta* and *M. glaziovii*, poinsettia (*Euphorbia pulcherrina*) and talinum (*Talinum triangulare*). These are projections of individual observations on the 2nd factorial plane and the circle indicates the

... ..



- Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero et de ses ennemis naturels au Gabon. Thèse Fac. sciences Paris (Paris VI): 154 pp.
- Dagnélie, P., 1975. Analyse statistique à plusieurs variables. Les presses agronomiques de Gembloux: 360 pp.
- Dreyer, D. L. & B. C. Campbell, 1987. Chemical basis of host-plant resistance to aphids. *Plant, Cell and Environment* 10: 353-361.
- Febvay, G., J. Bonnin, Y. Rahbe, R. Bournoville, S. Delrot & J. L. Bonnemain, 1988; Resistance of different lucerne cultivars to the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*: influence of phloem composition on aphid fecundity. *Entomol. exp. appl.* 48: 127-134.
- Gothlif, S. & S. D. Beck, 1966. Rearing the citrus mealybug, *Planococcus citri* (Risso), on a defined diet. *J. Econ. Entomol.* 59: 489-490.
- Groussol, J., S. Delrot, P. Caruhel & J. L. Bonnemain, 1986. Design of an improved exudation method for phloem sap collection and its use for the study of phloem mobility of pesticides. *Physiol. Vég.* 24: 123-133.
- Herren, H. R., 1987. A review of objectives and achievements. *Insect Sci. Applic.* 8: 837-840.
- Iheagwam, E. U., 1981. Natural enemies and alternative host-plant of the cassava mealybug, *Phenacoccus manihoti* (Homoptera: Pseudococcidae) in southeastern Nigeria. *Rev. Zool. afr.* 95: 433-438.
- Laughlin, R., 1965. Capacity for increase: a useful population statistic. *J. Anim. Ecol.* 34: 77-91.
- Le Rü, B., M. Tertuliano & P. A. Calatayud, 1991. Les différentes catégories de résistance des plantes-hôtes de la cochenille du manioc *Phenacoccus manihoti* (Hom. Pseudococcidae): Perspectives d'études. Résumé du 4ème Atelier du Réseau CORAF Manioc: Biocénose des principaux ravageurs du manioc et lutte biologique. IITA-Bénin-Cotonou, 4-9 mars 1991. (Sous presse).
- Maltais, J. B. & J. L. Auclair, 1957. Factors in resistance of peas to the pea aphid, *Acyrtosiphum pisum* (Harr.) (Homoptera: Aphididae). I. The sugar nitrogen ratio. *Can. Entomol.* 89: 365-370.
- uptake of water and sucrose solutions. *J. Insect. Physiol.* 9: 623-645.
- Neuenschwander, P., F. Schulthess & E. Madojemu, 1986. Experimental evaluation of the efficiency of *Epidinocarsis lopezi*, a parasitoid introduced into Africa against the cassava mealybug *Phenacoccus manihoti*. *Entomol. exp. appl.* 42: 133-138.
- Pate, J. S. & P. J. Sharkey, 1974. Phloem bleeding from Legume fruits a technique for study of fruit nutrition. *Planta* 120: 229-243.
- Rohringer, R., F. Ebrahim-Nesbat & G. Wolf, 1983. Proteins in intercellular washing fluids from leaves of barley (*Hordeum vulgare* L.). *J. Exp. Bot.* 34: 1589-1605.
- Silvestre, P., 1973. Aspects agronomiques de la production du manioc à la ferme d'état de Mantsoumba (Rép. Pop. Congo). Rapport de mission, I.R.A.T., Paris, 35 p.
- Srivastava, P. N., 1987. Nutritional physiology. In *Aphids: their biology, natural enemies and control*. Vol 3C: 99-121. Ed. Minks, A. K. & P. Harrewijn, Elsevier.
- Starks, K. J., R. Muniappan & R. D. Eikenbary, 1972. Interaction between plant resistance and parasitism against the greenbug on barley and sorghum. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 65: 650-655.
- Van Emden, H. F. & C. H. Wearing, 1965. The role of the host plant in delaying economic damage levels in crop plants. *Ann. Appl. Biol.* 56: 323-324.
- Van Emden, H. F. & M. A. Bashford, 1971. The performance of *Brevicoryne brassicae* and *Myzus persicae* in relation to plant age and leaf amino acids. *Entomol. exp. appl.* 14: 349-360.
- Walker, G. P. & L. F. Bednar, 1986. Behavioral response of California red scale crawlers (Homoptera: Diaspididae) to solutions behind artificial membranes. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 79: 549-553.
- Weibull, J., 1987. Seasonal changes in the free amino acids of oat and barley phloem sap in relation to plant growth stage and growth of *Rhopalosiphum padi*. *Ann. Appl. Biol.* 111: 729-737.
- Weibull, J., 1988. Free amino acids in the phloem sap from