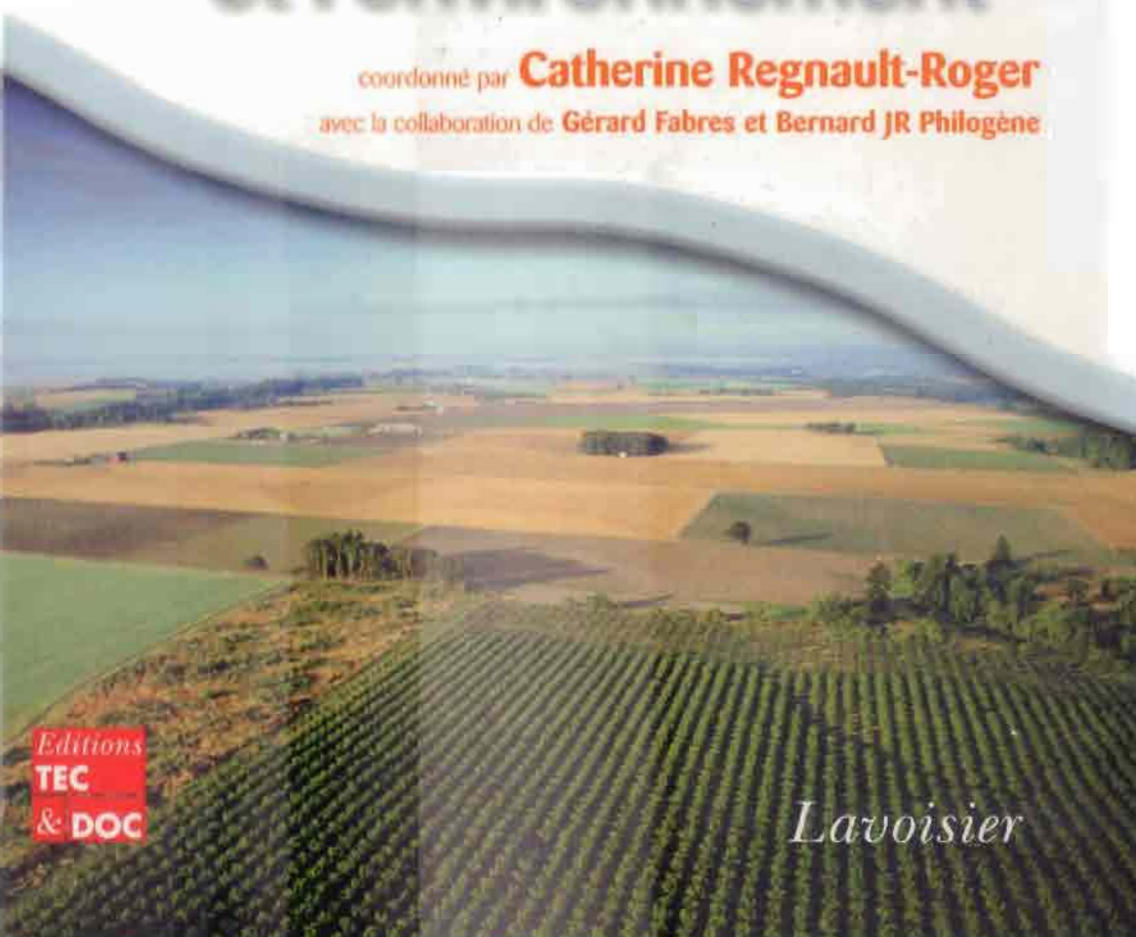
Pesticides et biopesticides - OGM
Lutte intégrée et biologique - Agriculture durable

Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement

coordonné par **Catherine Regnault-Roger**
avec la collaboration de **Gérard Fabres et Bernard JR Philogène**



Editions TEC & DOC
Lavoisier

Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement

Catherine Regnault-Roger coord.

avec la collaboration
de Gérard Fabres et Bernard J.R. Philogène

Editions TEC & DOC
11, rue Lavoisier
F-75008 Paris

Également disponibles :

Toxicologie
A. Viala, A. Botta, coord., 2e édition, 2005

Indicateurs pour évaluer les risques liés à l'utilisation des pesticides
J. Devillers *et al.*, 2005

Agriculture biologique – Éthique, pratique et résultats
Collection Synthèse agricole
Énita de Bordeaux, 2003

Analyse chimique des sols – Méthodes choisies
C. Mathieu, F. Pieltain, 2003

OGM et santé
A. Rérat, Académie de médecine, Académie de pharmacie, 2003

Biopesticides d'origine végétale
C. Regnault-Roger, B. J.R. Philogène, C. Vincent, coord., 2002

Botanique : traité fondamental
U. Lüttge, M. Kluge, G. Bauer, 3e édition, 2002

Écologie – Approche scientifique et pratique
C. Faurie, C. Ferra, P. Médori, J. Devaux, 5e édition, 2002

Plantes toxiques – Végétaux dangereux pour l'homme et les animaux
J. Bruneton, 2e édition, 2001

© LAVOISIER, 2005

ISBN : 2-7430-0785-0

Toute reproduction ou représentation intégrale ou partielle, par quelque procédé que ce soit, des pages publiées dans le présent ouvrage, faite sans autorisation de l'éditeur ou du Centre français d'exploitation du droit de copie (20, rue des Grands Augustins – 75006 Paris), est illicite et constitue une contrefaçon. Seules sont autorisées, d'une part, les reproductions réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective, d'autre part les analyses et courtes citations justifiées dans le caractère scientifique ou d'information de l'œuvre dans laquelle elles sont incorporées (Loi du 1er juillet 1992 – art. L. 122-4 et L. 122-5 et Code pénal art. 425).

Table des matières

Préface XXXV

Liste des auteurs XXXIX

Liste des sigles, abréviations et acronymes XLVII

Avant-propos LV

Introduction

Protection des cultures, environnement et développement durable : enjeux pour le XXIe siècle

Bernard J.R. Philogène, Gérard Fabres, Catherine Regnault-Roger ——— 1

1. Agriculture et protection des cultures : quelques points de repères 2
   1.1. Modification des équilibres biocénotiques 2
   1.2. Du manuel au chimique 3
   1.3. Impact environnemental des pesticides organiques de synthèse .. 4
   1.4. Mise en œuvre d'une surveillance de plus en plus performante .. 5
2. Développement durable 6
3. Stratégies alternatives 7
   3.1. Une approche intégrée et raisonnée sous tous les climats 7
   3.2. Approches microbiologiques et entomophages 8
   3.3. Approches sémiochimiques 9
   3.4. Approches génétiques 10
4. Dimensions économiques et réglementaires des enjeux phytosanitaires 11

Conclusion 12

Références bibliographiques 13

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Partie 1

Les pesticides organiques de synthèse

sous la direction de
Bernard J.R. Philogène et Catherine Regnault-Roger ——— 15

Section 1

Activités phytopharmaceutiques ——— 17

Chapitre 1

Évolution des insecticides organiques de synthèse

Catherine Regnault-Roger, Bernard J.R. Philogène ——— 19

1. Définition et classification 20
   1.1. Une réalité complexe 20
   1.2. Les trois générations des insecticides organiques de synthèse 21
2. Principales familles d'insecticides organiques de synthèse 26
   2.1. Les organochlorés 26
   2.2. Les organophosphorés 28
   2.3. Les carbamates 29
   2.4. Les pyréthrinoïdes 30
   2.5. Les néonicotinoïdes 31
   2.6. Autres familles d'insecticides organiques de synthèse 32
3. Modes d'action des insecticides 33
   3.1. Action sur le système nerveux 33
      3.1.1. Action sur la transmission axonale de l'influx nerveux .. 33
      3.1.2. Action sur les synapses 37
   3.2. Action sur le système respiratoire 38
   3.3. Régulateurs de croissance de l'insecte (RCI) 38

Conclusion 40
Références bibliographiques 41

Chapitre 2

Modes d'action et sélectivité des fongicides à usage agricole

Pierre Leroux ——— 45

1. Fongicides affectant les processus respiratoires 46
   1.1. Multi-sites 48
   1.2. Inhibiteurs du complexe mitochondrial II 49
   1.3. Inhibiteurs du complexe mitochondrial III 51
   1.4. Fongicides affectant la biodisponibilité d'ATP 52
      1.4.1. Inhibiteurs de la phosphorylation oxydative 53

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1.4.2. Découplants 53
1.4.3. Le silthiofam 53
2. Inhibiteurs de la biosynthèse des stérols 54
2.1. Inhibiteurs de la squalène époxydase 54
2.2. Inhibiteurs de la 14α-déméthylation des stérols 54
2.3. Inhibiteurs de la Δ14-réduction et/ou de la Δ8 → Δ7 isomérisation des stérols 56
2.4. Inhibiteurs de la C4-déméthylation des stérols 57
3. Fongicides anti-microtubules 58
3.1. Benzimidazoles et thiophanates 58
3.2. Phénylcarbamates 59
3.3. Benzamides 60
3.4. Pencycuron 60
4. Autres fongicides agissant directement sur les champignons 60
4.1. Inhibiteurs de la biosynthèse des mélanines 60
4.2. Inhibiteurs de l'ARN polymérase I 61
4.3. Inhibiteurs de la biosynthèse d'acides aminés 62
4.4. Fongicides affectant l'osmorégulation 62
5. Substances stimulant les réactions de défense des plantes 63
5.1. Phosphonates 65
5.2. Analogues structuraux de l'acide salicylique 65
5.3. Autres inducteurs de résistance 66
5.3.1. Probénazole 66
5.3.2. Acide β-aminobutyrique ou BABA 66
5.3.3. Glucanes d'algues 66
6. Résistance acquise aux fongicides 67
Conclusion et perspectives 69
Références bibliographiques 70

Chapitre 3

Modes d'action des herbicides

Christian Gauvrit ——— 73

1. Absorption des herbicides par les végétaux 74
1.1. Absorption par les parties souterraines 74
1.2. Absorption par les parties aériennes 74
2. Déplacement des herbicides dans les végétaux 75
3. Sites d'action des herbicides 76
3.1. La photosynthèse 76
3.1.1. Inhibition du transfert d'électrons (cible C) : amides, bentazone, nitriles, phénylcarbamates, triazines, triazinones, uraciles, urées substituées 76
3.1.2. Diversion d'électrons (cible D) : bipyridyles 79
3.2. Les membranes cellulaires (cible M) : phénols nitrés (oxynils) .. 80

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

3.3. La synthèse de la cellulose (cible L) : nitriles et benzamides 81
3.4. La synthèse des lipides 81
3.4.1. Inhibition de l'acétyl-coenzyme A carboxylase (cible A) : aryloxyphénoxypropionates (ou fops) et cyclohexane-diones (ou dimes) 81
3.4.2. Inhibition de l'élongation des acides gras. cible K3 : chloroacétamides, acétamides, oxyacétamides ; cible N : benzofuranes, thiocarbamates 82
3.5. La synthèse d'acides aminés 82
3.5.1. Inhibition de l'énolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase (cible G) : glyphosate 82
3.5.2. Inhibition de l'acétolactate synthase (cible B) : sulfonylurées, imidazolinones, triazolo-pyrimidines sulfonates, pyrimidynaloxybenzoates 84
3.5.3. Inhibition de la glutamine synthase (cible H) : glufosinate-ammonium 85
3.6. La synthèse de pigments 86
3.6.1. Inhibition de la synthèse des caroténoïdes (cibles F) 86
3.6.2. Inhibition de la protoporphyrinogène oxydase (cible E) : diphényléthers, oxadiazoles, triazolinones, N-phénylphtalimides, phénylpyrazoles 88
3.7. La division cellulaire (cible K1) dinitroanilines, benzamides, pyridines 88
3.8. Le récepteur de l'auxine (cible O) : acides phénoxycarboxyliques, acides benzoïques, acides pyridyne carboxyliques, acides quinoléine carboxyliques 88
3.9. Le transport de l'auxine (cible P) : naptalame 89
3.10. La 7,8-dihydroptéroate synthase (cible I) : asulame 89
Conclusion 89
Références bibliographiques 90

Chapitre 4

Les régulateurs de croissance en agriculture

Gérard Vansuyt, Grégory Vert, Marièle Larcher ——— 93

1. Origine de l'utilisation des substances de croissance 94
2. Les usages actuels des régulateurs de croissance 95
3. Effets physiologiques des principales substances de croissance végétale 95
3.1. Les propriétés auxiniques 99
3.2. Effets des cytokinines 99
3.3. Actions des gibbérellines 100
3.4. Effets anti-métaboliques de l'acide abscissique (ABA) 101
3.5. Importance des effets de l'éthylène 102
3.6. Particularité des polyamines 102

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

3.6.1. Témoins et régulateurs d'événements physiologiques 103
3.6.2. Interconnexions métaboliques avec les phytohormones.. 103
3.6.3. Effecteurs biologiques 103
3.7. Les brassinostéroïdes, nouvelles substances régulatrices 105
4. Régulations et interactions hormonales 105
4.1. Les recherches émergeantes 105
4.2. Effets liés aux interactions biotiques et abiotiques 106
4.2.1. Effets associés à l'interaction plantes-micro-organismes 106
4.2.2. Effets de l'interaction entre les phytohormones et les métaux 107
5. Évolution des applications des régulateurs de croissance en agriculture. 110
5.1. Les nouvelles tendances 110
5.1.1. Grandes cultures 110
5.1.2. Arboriculture 110
5.1.3. Viticulture 111
5.2. Les nouveaux besoins 111
6. Perspectives d'utilisation des régulateurs de croissance 112
Conclusion 113
Références bibliographiques 113

Chapitre 5

Les nématicides et la lutte chimique contre les nématodes

Didier Mugniéry ——— 115

1. Difficultés de la lutte chimique 115
2. Produits nématicides : familles et conditions d'utilisation 116
2.1. Organo-halogénés (les fumigants) 117
2.2. Thiocyanates et dérivés soufrés 122
2.3. Organophosphorés 123
2.4. Carbamates 124
3. Action des nématicides sur les organismes 125
3.1. Efficacité des nématicides 125
3.2. Influence des phénomènes de dégradation et de résistance sur l'efficacité des nématicides 126
4. Analyse bibliographique pour situer l'importance des nématicides 127
5. Perspectives pour l'utilisation des nématicides 130
5.1. Toxicité et processus de l'homologation européenne 130
5.2. Un obstacle économique 132
5.3. Nématicides et méthodes alternatives : quel avenir ? 133
Conclusion 134
Références bibliographiques 134

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Section 2

Impacts environnementaux et effets non intentionnels — 137

Chapitre 6

Le devenir des produits phytosanitaires dans le sol et l'environnement : rétention, dégradation et dissipation

Michel Schiavon, Enrique Barriuso — 139

1. La rétention ... 140
   - 1.1. Techniques d'études ... 141
   - 1.2. Description des phénomènes ... 141
     - 1.2.1. Cinétiques d'adsorption ... 141
     - 1.2.2. Isothermes d'adsorption ... 142
     - 1.2.3. Isothermes de désorption ... 143
   - 1.3. Les facteurs intervenant dans l'adsorption ... 144
     - 1.3.1. Les adsorbants minéraux ... 144
     - 1.3.2. Les adsorbants organiques ... 145
     - 1.3.3. Les complexes organo-minéraux ... 145
     - 1.3.4. Les propriétés physicochimiques du pesticide ... 146
   - 1.4. Influence des facteurs du milieu sur l'adsorption ... 147
   - 1.5. Les types d'interactions ... 148
2. La dégradation ... 149
   - 2.1. La dégradation abiotique ... 149
     - 2.1.1. La dégradation chimique ... 150
     - 2.1.2. La photodégradation ... 151
   - 2.2. La dégradation biologique ... 151
     - 2.2.1. Importance et diversité des micro-organismes ... 151
     - 2.2.2. Les principaux types de dégradation biologique ... 152
     - 2.2.3. Les facteurs intervenant sur la biodégradation ... 153
3. La dissipation ... 155
   - 3.1. Dissipation par dispersion ... 156
     - 3.1.1. La volatilisation ... 156
     - 3.1.2. Transfert sous l'action des mouvements de l'eau ... 158
   - 3.2. Dissipation par formation de résidus non extractibles ... 161
   - 3.3. Dissipation et prélèvement par les plantes ... 163

Conclusion ... 164

Références bibliographiques ... 164

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Chapitre 7

Effets non intentionnels des pesticides organiques de synthèse : impact sur les écosystèmes et la faune

Bernard J.R. Philogène ——— 171

1. Impact sur les écosystèmes 173
   1.1. Le milieu abiotique 174
      1.1.1. L'air 174
      1.1.2. Le sol 174
      1.1.3. L'eau 176
2. Impact sur la biocénose 177
   2.1. Bio-accumulation 177
   2.2. Apport alimentaire 179
   2.3. Effets hormonaux et potentiel reproducteur 180
   2.4. Bio-amplification 182

Conclusion 184

Références bibliographiques 185

Chapitre 8

Les résistances aux herbicides chez les plantes adventices

Jacques Gasquez ——— 189

1. Mécanismes de résistance observés 190
   1.1. La résistance par mutation du gène de la cible 190
   1.2. La résistance par détoxication 191
   1.3. La séquestration 192
   1.4. Hérédités des résistances 192
2. Distribution actuelle des résistances aux herbicides 192
   2.1. Dans le monde 192
   2.2. En France 194
   2.3. Remarques 194
3. Mécanismes de résistances associés aux principales familles d'herbicides 195
   3.1. Les triazines (groupe HRAC : C1) 195
   3.2. Les inhibiteurs de l'ALS (groupe HRAC : B) 196
   3.3. Les inhibiteurs de l'ACCase (groupe HRAC : A) 198
   3.4. Les dinitroanilines (groupe HRAC : K2) 198
   3.5. Les inhibiteurs du photosystème I (groupe HRAC : D) 198
   3.6. Le glyphosate (groupe HRAC : G) 198
4. Peut-on définir quelques règles déterminant l'apparition et le développement des résistances ? 199
   4.1. Y a-t-il des herbicides qui donnent plus facilement des résistances ? Et lesquelles ? 199

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

4.2. Y a-t-il des espèces chez lesquelles les résistances apparaissent plus rapidement ? 200
4.3. Y a-t-il des conditions liées aux systèmes de culture qui les favorisent ? 201
4.3.1. Doses 202
4.3.2. Pratiques culturales 202
5. Peut-on limiter ou retarder le développement de populations résistantes ? 203
Conclusion 204
Références bibliographiques 205

Chapitre 9

Les mutations responsables de résistances aux insecticides

Claude Mouchès ——— 207
1. La résistance acquise, un processus de micro-évolution darwinienne .. 208
2. Cinquante ans de lutte chimique ou des stratégies favorables à l'émergence de résistances 209
2.1. L'émergence rapide de la résistance aux insecticides 209
2.2. L'impact des stratégies opérationnelles des traitements sur le développement de la résistance 210
2.3. Le nombre limité des cibles moléculaires visées par les principaux insecticides utilisés au XX^{e} siècle, un élément favorable à la résistance 211
2.4. Les traits de vie des insectes, déterminants importants de la résistance 213
3. Les mécanismes physiologiques de la résistance 214
4. Résistances dues à des mutations modifiant la sensibilité de la cible moléculaire de l'insecticide 215
4.1. Mutations ponctuelles modifiant structurellement la cible des xénobiotiques neurotoxiques 215
4.2. Mutations modifiant la quantité de la cible 216
5. Résistances aux insecticides dues à des mutations augmentant des activités de détoxication 217
5.1. Amplifications géniques augmentant la quantité d'une enzyme piégeant le toxique 217
5.2. Transcription accrue du gène d'une enzyme de dégradation de l'insecticide 218
5.3. Mutations ponctuelles modifiant structurellement une protéine de métabolisation 218
6. Les résistances aux bio-insecticides : des mutations modifiant la qualité de la cible 218
7. Résistance et espèces non visées de la faune sauvage 219

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Conclusion 220
Références bibliographiques 222

Chapitre 10

Toxicité et risques liés à l'emploi de pesticides chez les pollinisateurs : cas de l'abeille domestique

Axel Decourtye, Michel Tisseur, Jean-Noël Taséi, Minh-Hà Pham-Delègue 225

1. L'intoxication de l'abeille domestique par les pesticides : un problème récurrent 226
   1.1. Des organochlorés aux néonicotinoïdes et aux phénylpyrazoles. 226
   1.2. Le malaise dans l'apiculture française 226
      1.2.1. Gaucho® 226
      1.2.2. Régent TS® 227
2. L'évaluation du risque chez l'abeille domestique lié à l'application de produits phytopharmaceutiques 228
   2.1. Les exigences réglementaires européennes actuelles 228
      2.1.1. La toxicité 229
      2.1.2. Le risque 230
   2.2. La nécessité d'une nouvelle approche pour l'évaluation du risque 230
      2.2.1. Les pesticides systémiques 230
      2.2.2. Le rapport PEC/PNEC 230
      2.2.3. Les métabolites 231
3. Des tests spécifiques nouveaux afin d'évaluer la toxicité des produits chez l'abeille 232
   3.1. La toxicité à long terme chez l'adulte 232
   3.2. La toxicité chez les larves 233
   3.3. La toxicité sublétale chez les adultes 234
      3.3.1. Les effets comportementaux 236
      3.3.2. Les effets sur l'apprentissage 236
      3.3.3. Les effets sur l'activité entrées/sorties 237

Conclusion 237
Références bibliographiques 238

Chapitre 11

Effets adverses des produits phytosanitaires sur la santé humaine

Luc Multigner, Sylvaine Cordier, Bernard Jégou ——— 243

1. Phytosanitaires ou pesticides ? 244
2. Effets aigus ou précoces 244
3. Effets chroniques ou retardés 246
   3.1. Effets sur la reproduction 247
      3.1.1. Fertilité 247

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

3.1.2. Développement embryonnaire et fœtal 249
3.2. Effets neurologiques 249
3.2.1. Troubles comportementaux et psychiques 250
3.2.2. Maladies neuro-dégénératives 250
3.3. Cancer 251
3.3.1. Exposition professionnelle aux pesticides et cancer 252
3.3.2. Cancer chez les enfants 253
3.4. Perturbateurs endocriniens 254
Conclusion 256
Références bibliographiques 257

Section 3

Contrôle et surveillance ——— 261

Chapitre 12

L'analyse des résidus de pesticides : Pourquoi ? Comment ?
Alfred Copin ——— 263

1. Définitions biochimique et légale du résidu 264
2. Analyse chimique des résidus de pesticides 265
2.1. Le choix de la méthode d'analyse 265
2.1.1. Les méthodes individuelles 266
2.1.2. Les méthodes de multidétection 266
2.2. La prise d'échantillon et son transfert au laboratoire 266
2.2.1. Constitution de l'échantillon 266
2.2.2. Le transfert au laboratoire 266
2.3. Le conditionnement de l'échantillon en vue de son analyse 267
2.4. L'extraction 267
2.4.1. Extraction solide/liquide classique 268
2.4.2. Extraction au moyen d'un solvant sous pression (PLE) ou extraction accélérée par solvant (ASE) 268
2.4.3. Extraction assistée par micro-ondes (MAE) 269
2.4.4. Extraction au moyen d'un fluide à l'état supercritique (SFE) 270
2.4.5. Autres techniques 271
2.5. La purification de l'extrait 272
2.5.1. L'extraction liquide-liquide 272
2.5.2. La chromatographie 273
2.6. La détermination instrumentale 274
2.6.1. La chromatographie en phase gazeuse capillaire 274
2.6.2. La chromatographie liquide à haute performance (CLHP) 277
2.6.3. Les autres techniques 280

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

2.7. Évaluation des performances des méthodes analytiques 282
Perspectives et conclusion 283
Références bibliographiques 284

Chapitre 13

Les bio-indicateurs : outils de surveillance des pesticides dans les milieux naturels

Frances R. Pick ——— 287

1. Surveillance chimique et surveillance biologique des milieux naturels 289
   1.1. Avantages comparés 289
   1.2. Surveillance biologique : quelques définitions 290
2. Plantes et micro-organismes bio-indicateurs 292
   2.1. Lichens, champignons et autres micro-organismes 293
   2.2. Algues 295
   2.3. Plantes aquatiques 296
   2.4. Plantes terrestres 297
   2.5. Biomarqueurs chez les végétaux 298
3. Animaux bio-indicateurs 299

Conclusion : prescriptions en surveillance biologique et perspectives 301
Références bibliographiques 303

Chapitre 14

Modélisation et mise en œuvre de modèles dans le cadre du conseil phytosanitaire

Jacques Rouzet, Marc Delos, Guy Le Hennaf——— 309

1. Le contexte et les enjeux 310
   1.1. Une politique marquée par la réduction des intrants 310
   1.2. Les spécificités du conseil phytosanitaire et les apports de la modélisation 310
      1.2.1. Le schéma classique de raisonnement et le modèle « biologique » 311
      1.2.2. Les limites de l'observation 311
      1.2.3. Synthèse des informations et aide à la décision 312
      1.2.4. La prévision des risques 313
2. Historique de l'utilisation des modèles 314
   2.1. Évolution des outils 314
   2.2. Vers de nouveaux concepts 316
3. Les techniques de modélisation 318
4. La conduite de projets de modélisation 319
   4.1. Les différentes étapes de la vie d'un modèle 319
   4.2. L'avant-projet et les objectifs 320

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

4.3. Le travail du concepteur 321
4.4. Le rôle de l'utilisateur du modèle 324
4.4.1. La validation par le futur utilisateur 324
4.4.2. Utilisation du modèle et rôle du technicien 324
5. Les limites de la méthode : quelques éléments d'ordre pratique 326
6. Utilisation de modèles : la filière agrométéorologique des SRPV 327
6.1. Des problèmes de logistique 328
6.1.1. Réseau de stations automatiques 328
6.1.2. Les logiciels 328
6.2. Modèles mis en œuvre par les SRPV 329
6.2.1. Thèmes étudiés et organisation 329
6.2.2. Quelques exemples de modèles 329
7. Conclusion et perspectives 338
Références bibliographiques 339

Partie 2

Stratégies alternatives et agriculture durable

sous la direction de
Gérard Fabres et Catherine Regnault-Roger ——— 343

Section 1

Stratégies intégrées ——— 345

Chapitre 15

Vers une conception agroécologique de la protection des cultures
Pierre Ferron, Jean-Philippe Deguine ——— 347

1. Regards sur un siècle de protection des cultures 348
1.1. La lutte intégrée, un consensus prématuré ? 349
1.2. De la lutte contre les nuisibles à la gestion de leurs populations. 350
2. Populations, peuplements et diversité biologique 352
2.1. Le système population-environnement 353
2.2. Diversité biologique et écologie des interactions durables 354
3. Gestion des populations et de leurs habitats 356
3.1. Aménagement de l'espace rural 356
3.2. Organisation spatiale des systèmes de culture et adaptation des itinéraires techniques 358
Conclusion : quelle stratégie phytosanitaire ? 359
Références bibliographiques 361

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Chapitre 16

Gestion agroécologique des populations d'insectes piqueurs suceurs en culture cotonnière

Jean-Philippe Deguine, Pierre Ferron ——— 367

1. Évolution des niveaux de populations des insectes piqueurs suceurs et des techniques de protection employées ... 368
   1.1. Principales caractéristiques d'*A. gossypii* et *B. tabaci* ... 368
   1.2. Analyse rétrospective de la protection utilisée ... 369
2. La situation phytosanitaire actuelle : analyse, conséquences et perspectives ... 370
   2.1. Les raisons du changement de statut de ces nouveaux ravageurs . 370
   2.2. Rompre avec les pratiques ou habitudes passées pour éviter une aggravation de la situation ... 372
   2.3. Adopter une démarche et des pratiques nouvelles, permettant un retour à une situation d'équilibre ... 372
3. Stratégie de protection et mesures à mettre en œuvre ... 373
   3.1. La démarche et les étapes ... 373
   3.2. Les mesures préventives ... 374
   3.3. Le diagnostic et l'aide à la décision ... 376
   3.4. Les mesures curatives ... 377

Conclusion et perspectives ... 378
Références bibliographiques ... 382

Chapitre 17

Le contrôle des rongeurs non commensaux : impasse du tout chimique et perspectives de lutte intégrée

Pierre Delattre, Patrick Giraudoux ——— 385

1. Historique des luttes collectives et limites des méthodes de lutte chimique ... 387
2. Connaissances nécessaires à l'élaboration des stratégies de lutte ... 389
   2.1. Mécanismes adaptatifs et genèse des pullulations ... 389
   2.2. Importance de la proportion d'habitat favorable dans l'environnement ... 392
   2.3. Importance de la structuration paysagère ... 394
   2.4. Mécanismes explicatifs du fonctionnement des populations ... 397
      2.4.1. Mécanismes de dispersion individuelle ... 398
      2.4.2. Mécanismes de diffusion des pullulations ... 400
      2.4.3. Hypothèses explicatives du fonctionnement des populations ... 402
3. Stratégies de lutte développées contre les campagnols de prairie ... 403
   3.1. En production herbagère ... 404
   3.2. En production fruitière ... 406

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Conclusion et perspectives 406
Références bibliographiques 409

Chapitre 18

Stratégies de protection intégrée contre les adventices des cultures : le retour de l'agronomie

Nicolas Munier-Jolain, Bruno Chauvel, Jacques Gasquez ——— 411

1. Le seuil d'intervention : un concept inadapté à la gestion de la flore adventice 412
2. Mesures prophylactiques de réduction du potentiel d'infestation : principes de protection intégrée 415
   - 2.1. Des techniques agronomiques à effets partiels 415
     - 2.1.1. Effets du travail du sol : le rôle du labour 415
     - 2.1.2. Diversifier la rotation pour diversifier les dates de semis 416
     - 2.1.3. Maîtriser la technique du faux-semis 417
     - 2.1.4. Adapter la conduite des cultures pour augmenter leur aptitude concurrentielle 418
   - 2.2. Des innovations agronomiques pour compenser la réduction de la pression herbicide 420
   - 2.3. Analyse et valorisation des interactions entre techniques culturales 421
   - 2.4. Vérification expérimentale de la performance de méthodes de protection intégrée 423
3. Synthèse : quels outils développer pour l'aide au raisonnement tactique et stratégique de la lutte contre les mauvaises herbes ? 425
   - 3.1. Des modèles d'évolution de flore encore dans leur phase de développement 426
   - 3.2. Vers une nouvelle génération de systèmes d'aide à la décision ... 426

Conclusion 427
Références bibliographiques 428

Chapitre 19

Quelles méthodes de contrôle pour les plantes parasites ?

Georges Sallé, Christiane Tuquet, Josiane Paré ——— 431

1. Particularités biologiques et écophysiologiques des plantes parasites .. 433
   - 1.1. Cycles biologiques 433
     - 1.1.1. Cycle biologique des plantes parasites épirhizes 434
     - 1.1.2. Cycle biologique des plantes parasites épiphytes : *Loranthaceae-Viscaceae* (guis ou *mistletoes*, au sens large) 435
   - 1.2. Mode de dissémination des graines des plantes parasites 435

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

2. La lutte contre les plantes parasites épirhizes 436
2.1. Méthodes de lutte visant la réduction du stock de graines du parasite dans le sol 438
2.1.1. Pratiques culturales réduisant le stock de graines du parasite dans le sol 438
2.1.2. Méthode chimique 441
2.1.3. Solarisation 442
2.2. Méthodes limitant l'infestation 442
2.2.1. Les méthodes agronomiques 442
2.2.2. La résistance variétale 445
2.2.3. Lutte chimique 447
2.2.4. Lutte biologique 450
2.2.5. Lutte intégrée 452
3. La lutte contre les plantes parasites épiphytes 452
3.1. Lutte contre les plantes parasites épiphytes des ligneux 452
3.1.1. Lutte mécanique 453
3.1.2. Lutte chimique 453
3.1.3. Lutte génétique 453
3.2. Lutte contre les plantes parasites épiphytes des herbacées 454
Conclusion 455
Références bibliographiques 455

Chapitre 20

Gestion intégrée des ennemis du mil (*Pennisetum typhoïdes*) dans le bassin arachidier du centre du Sénégal

Saliou N'diaye, Demba Farba Mbaye, Mamadou Badiane ——— 459

1. La protection intégrée des cultures 460
2. Situation de la gestion intégrée et de ses objectifs en Afrique 462
2.1. La situation d'ensemble 462
2.2. Gestion intégrée des ennemis du mil (*Pennisetum typhoïdes*) 463
2.3. Étude comparative des pratiques de lutte intégrée dans deux régions du Sénégal 465
2.3.1. Bambey 466
2.3.2. Kolda 467
3. Apport de la gestion intégrée à l'agriculture africaine, par rapport aux autres méthodes de lutte 470
Conclusion 472
Références bibliographiques 472

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Chapitre 21

La protection phytosanitaire en Afrique du Nord : quelles perspectives ?

Abderrahman Jerraya, Khaled Al Rouechdi ——— 475

1. Les vergers 476
   1.1. Vergers irrigués 476
      1.1.1. Arbres à pépins 476
      1.1.2. Les *Citrus* 478
   1.2. Les vergers en cultures pluviales : cas de l'olivier 481
      1.2.1. La teigne de l'olivier : *Prays oleae* (*Lepidoptera : Hyponomeutidae*) 481
      1.2.2. Le Psylle de l'olivier : *Euphyllura olivina* (*Homoptera : Psyllidae*) 483
      1.2.3. La mouche de l'olive : *Bactrocera* (*Dacus*) *oleae* (*Diptera, Tephritidae*) 484
      1.2.4. Le neïroun : *Phlœotribus scarabaeoïdes* (*Coleoptera : Scolytidae*) 485
2. Les céréales 487
   2.1. Les adventices 488
   2.2. Les maladies 488
   2.3. Les insectes 489

Conclusion 490

Références bibliographiques 491

Section 2

Stratégies microbiologiques et entomophages

——— 495

Chapitre 22

La lutte biologique par auxiliaires entomophages : concepts, repères et perspectives

Alain Fraval, Bernard J.R. Philogène, Gérard Fabres ——— 497

1. Quelques définitions de la lutte biologique dans le domaine agronomique 498
   1.1. Lutte biologique par entomophages 498
   1.2. Lutte biologique par acclimatation 498
   1.3. Lutte biologique inoculative et inondative 499
   1.4. Lutte autocide 499
   1.5. Lutte microbiologique 500
2. Bref historique 500

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

3. Quelques réalisations de la lutte biologique par entomophages 503
3.1. Les acclimatations 503
3.2. Les lâchers périodiques inoculatifs et inondatifs 504
3.3. Le renforcement de l'action des auxiliaires 505
3.4. Les élevages de masse 506
Conclusion 507
Références bibliographiques 508

Chapitre 23

La lutte biologique par acclimatation d'entomophages exotiques : les leçons de la dernière campagne internationale

Gérard Fabres ——— 511

1. Invasions biologiques et ravageurs des cultures 512
1.1. Un cas d'introduction accidentelle 512
1.2. Invasions biologiques et diversité génétique 513
1.3. Les questions liées à l'identification du ravageur introduit 513
2. Le ravageur dans sa région d'origine 514
2.1. Les mécanismes de régulation naturelle 514
2.2. Les entomophages 514
2.3. Exportation et quarantaine 515
3. Les conditions environnementales dans la région de l'invasion 515
3.1. La plante 516
3.2. Le ravageur introduit 517
3.3. Les entomophages indigènes 518
4. L'acclimatation d'entomophages exotiques 520
4.1. L'auxiliaire introduit 520
4.1.1. Les traits du comportement 521
4.1.2. Les traits du cycle biologique 522
4.1.3. Intégration de l'ensemble de ces informations 522
4.2. Acclimatation et évaluation de l'impact 523
4.2.1. Les lâchers et l'adaptabilité 523
4.2.2. Acclimatation et action régulatrice 524
5. Effets non intentionnels 525
5.1. Les parasitoïdes secondaires 525
5.2. Le déplacement des parasitoïdes locaux 526
6. Méthodes de lutte dérivées 526
6.1. Augmenter l'efficacité des entomophages 526
6.2. Les luttes inoculative et inondative 527
Conclusion 527
Références bibliographiques 528

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Chapitre 24

Introduction d'insectes entomophages : quels risques pour l'environnement ?

Jean-Claude Malausa, Laurent Lapchin ——— 533

1. Convergence entre lutte biologique et biologie des populations 534
2. Les différents types d'effets non intentionnels 536
   - 2.1. Effets indésirables sur l'espèce cible 537
   - 2.2. Effets indésirables sur les autres espèces du même niveau trophique 537
   - 2.3. Effets indésirables sur les autres ennemis naturels 538
3. De la théorie à la pratique : les effets non intentionnels de la lutte biologique, mythe ou réalité ? 539
4. Approche opérationnelle pour prévoir et éviter les effets non intentionnels 541
   - 4.1. Optimiser les processus de lutte biologique 542
     - 4.1.1. Aspects techniques 542
     - 4.1.2. Aspects réglementaires 543
   - 4.2. Associer les différentes méthodes de lutte dans un contexte de protection intégrée 545

Conclusion 546

Références bibliographiques 547

Chapitre 25

La lutte microbiologique contre les insectes ravageurs des cultures : contraintes, bilan et perspectives

Jacques Fargues, Denis Bourguet ——— 549

1. Micro-organismes entomopathogènes et agents de lutte microbiologique 550
   - 1.1. Bactéries 550
   - 1.2. Champignons 553
   - 1.3. Protozoaires 555
   - 1.4. Nématodes 555
2. Méthodes de lutte microbiologique en protection des cultures 555
   - 2.1. Lutte biologique classique : introductions de micro-organismes exogènes 555
   - 2.2. Épizooties naturelles et protection des cultures 556
   - 2.3. Traitements inondatifs : bio-insecticides d'origine microbienne. 557
     - 2.3.1. *Bacillus thuringiensis (Bt)* 557
     - 2.3.2. Hyphomycètes 558
     - 2.3.3. Microsporidies 559
     - 2.3.4. Nématodes 559
3. Résistance aux endotoxines de *B. thuringiensis* 559

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

3.1. Résistance aux δ-endotoxines et biotechnologie des bio-insecticides à base de *Bt* 559
3.2. Résistance aux δ-endotoxines et plantes transgéniques 560
4. Biopesticides et programmes de protection intégrée 563
4.1. Protection intégrée 563
4.2. Bio-insecticides et gestion des systèmes de culture : un hiatus ? 564
Conclusion et perspectives 566
Références bibliographiques 566

Chapitre 26

Maîtrise des communautés microbiennes pour lutter contre les maladies d'origine tellurique

Claude Alabouvette, Chantal Olivain, Christian Steinberg ——— 571

1. Concepts de potentiel infectieux et de réceptivité des sols aux maladies d'origine tellurique 572
2. Les sols résistants aux maladies 573
2.1. Mise en évidence de la résistance des sols 573
2.2. Micro-organismes et mécanismes responsables de la résistance des sols 574
3. Lutte écologique par stimulation des populations microbiennes antagonistes *in situ* 576
3.1. Amendements organiques 576
3.2. Rotation culturale 577
3.3. Solarisation et biodésinfection 577
4. Lutte biologique par application de micro-organismes antagonistes 578
4.1. Sélection et modes d'action des agents de lutte biologique 578
4.1.1. Antagonisme microbien 579
4.1.2. Induction des mécanismes de résistance de la plante 582
4.1.3. Complémentarité des modes d'action 582
4.2. Conditions requises pour l'expression de l'antagonisme 582
4.3. Production, formulation, application 583
4.4. Autorisation de mise sur le marché 585
Conclusion 585
Références bibliographiques 586

Chapitre 27

Les enjeux écologiques des biopesticides à base de baculovirus

Miguel López-Ferber, Gérard Devauchelle ——— 589

1. La structure du baculovirus 590
2. La pathogenèse de la larve infectée 591
3. La composition génétique des populations virales : un génotype unique ou une population virale 596

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

4. La production en masse du virus 598
5. Les problèmes relatifs à l'application 600
5.1. La formulation : pourquoi et comment ? 600
5.2. Peut-on améliorer les baculovirus ? 600
5.3. L'utilisation : quels problèmes ? 602
Conclusion et perspectives 603
Références bibliographiques 604

Chapitre 28

Différents aspects de la protection biologique intégrée sous serre en France

Jean-Charles Maisonneuve, Elizabeth Rat-Morris, Susan Johnson ——— 607

1. Situation et évolution 608
1.1. En Europe 608
1.2. En France 609
2. Cultures utilisatrices 610
2.1. Cultures légumières 610
2.2. Cultures ornementales 611
2.3. Cultures non commerciales 612
3. Les ravageurs en serre et les auxiliaires utilisés 612
3.1. Les aleurodes 612
3.2. Les pucerons 613
3.3. Les mouches mineuses 613
3.4. Les thrips 614
3.5. Les acariens 615
3.6. Les Lépidoptères : noctuelles et tordeuses 615
3.7. Les cicadelles 616
3.8. Les cochenilles 616
3.9. Les autres bio-agresseurs 617
3.9.1. Otiorhynques (*Coleoptera*) 617
3.9.2. Mouches « des terreaux » 617
3.9.3. Limaces 617
3.9.4. *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* 617
4. Facteurs de développement 617
4.1. Les plantes relais 618
4.2. Intégration de la lutte biologique avec les autres techniques 618
4.2.1. Compatibilité avec les autres produits phytosanitaires utilisés 618
4.2.2. La solarisation 619
4.3. Former et informer les acteurs 619
4.4. Les firmes et structures productrices et distributrices d'auxiliaires 619
4.5. La coopération internationale 620
Conclusion 620

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Références bibliographiques 621

Section 3

Stratégies sémiochimiques ——— 623

Chapitre 29

Molécules allélochimiques et extraits végétaux dans la protection des plantes : nature, rôle et bilan de leur utilisation au XX^e siècle

Catherine Regnault-Roger ——— 625

1. Les molécules allélochimiques végétales, facteurs de protection des plantes 626
   - 1.1. Activité sémiochimique 626
   - 1.2. Intervention dans la résistance antiparasitaire des plantes 628
2. Nature et diversité des molécules allélochimiques végétales impliquées dans la protection des plantes 628
   - 2.1. Phénylpropanoïdes et substances phénoliques 629
   - 2.2. Terpénoïdes et stéroïdes 631
   - 2.3. Alcaloïdes et composés azotés 634
   - 2.4. Complexité des relations interspécifiques 636
3. Molécules et extraits végétaux utilisés dans la protection des cultures 637
   - 3.1. La nicotine et ses isomères 637
   - 3.2. Autres extraits végétaux alcaloïdiques 639
     - 3.2.1. *Sabadilla* et vératre 639
     - 3.2.2. Ryania 639
     - 3.2.3. Quassia 640
   - 3.3. La roténone et les roténoïdes 640
   - 3.4. Le pyrèthre 641
   - 3.5. *Neem* et azadirachtine 643
   - 3.6. Les huiles essentielles 644
   - 3.7. Autres huiles végétales 645

Conclusion 646

Références bibliographiques 647

Chapitre 30

Molécules allélochimiques et extraits végétaux : quelles perspectives en phytoprotection ?

Catherine Regnault-Roger ——— 651

1. Le développement de spécialités biopesticides d'origine végétale 652
   - 1.1. Utiliser ou créer des synergies moléculaires 652

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1.2. Une nécessaire diversification des molécules allélochimiques végétales 653
1.2.1. Rechercher de nouvelles sources de composés actifs sur les insectes 653
1.2.2. Diversifier l'emploi des molécules allélochimiques végétales 655
1.3. Freins au développement des formulations à base de molécules allélochimiques 656
2. La stimulation des défenses internes des végétaux 657
2.1. Améliorer la sélection de variétés résistantes 657
2.2. Renforcer le métabolisme des molécules allélochimiques végétales avec des éliciteurs 658
Conclusion 660
Références bibliographiques 661

Chapitre 31

Utilisation des pièges à phéromone sexuelle dans la gestion des ravageurs
Lucie Royer, Johanne Delisle ——— 663
1. Notions d'écologie chimique et d'écophysiologie 664
2. Leurres et pièges sexuels 666
3. Dépistage et surveillance 669
4. Capture de masse 671
4.1. Polygynie, polyandrie, qualité des mâles 671
4.2. Densité de population, isolement des sites et leur grande étendue 673
4.3. Densité des pièges, interférence et compétition inter-piège 674
4.4. Un exemple de réussite : le cas de la tordeuse de Chine 674
4.5. Impact des pièges à phéromone sur la dynamique de la faune auxiliaire 675
Conclusion 675
Références bibliographiques 676

Chapitre 32

Y a-t-il un avenir pour la lutte par confusion sexuelle contre les ravageurs forestiers ?
Johanne Delisle, Lucie Royer ——— 679
1. Principe de la confusion sexuelle 680
2. Aspects techniques et physiques 681
2.1. Composition et concentration de la phéromone des diffuseurs ... 681
2.2. Répartition de la phéromone : diffusion horizontale et verticale. 685
3. Aspects biologiques et écologiques 687
3.1. Comportements du ravageur adulte dans le site de confusion 687

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

3.2. Compétition : effets directs et indirects 688
3.3. Immigration (ré-invasion) et émigration 689
3.4. Un cas particulier : celui du diprion du pin sylvestre 690
3.5. Impact de la confusion sexuelle sur la dynamique de la faune auxiliaire 691
Conclusion 692
Références bibliographiques 693

Chapitre 33

Les phéromones sexuelles des Lépidoptères : nouvelles approches et perspectives en protection intégrée
Brigitte Frérot ——— 697

1. Quel avenir pour les phéromones sexuelles en protection intégrée ? 698
1.1. Les atouts 698
1.2. Les voies de recherche à développer 699
1.2.1. Compréhension des mécanismes 700
1.2.2. La dynamique des populations 700
1.2.3. La technologie des diffuseurs 700
2. Les différentes utilisations des phéromones de Lépidoptères en protection intégrée 701
2.1. Méthode indirecte de lutte : le piégeage sexuel 701
2.2. Méthodes directes de lutte 702
2.2.1. Le piégeage de masse 703
2.2.2. Lutte attracticide 703
2.2.3. La confusion sexuelle 704
3. Paramètres de la communication chimique pouvant remettre en cause la réussite de l'utilisation des phéromones sexuelles 706
3.1. Populations phéromonales et variabilité intraspécifique 706
3.2. Étho-écologie des populations de ravageurs 707
Conclusion et perspectives 708
Références bibliographiques 709

Section 4

Stratégies génétiques ——— 711

Chapitre 34

Génie biologique et phytoprotection
Yves Tourte ——— 713

1. Rappel des principes et méthodes du génie biologique 714

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1.1. Les gènes de résistance : bref rappel de l'organisation et du fonctionnement d'un gène 714
1.2. Le transfert d'un gène de résistance 716
1.2.1. Identification du gène de résistance à transférer 716
1.2.2. Construction et transfert du gène chez le receveur 718
1.2.3. Régénération de la plante et comportement du transgène 722
1.2.4. Contrôles 723
2. La lutte contre les stress biotiques 723
2.1. La lutte contre les viroses 723
2.2. La lutte contre les maladies cryptogamiques 725
2.3. La lutte contre les insectes 727
3. La lutte contre les agressions abiotiques 729
Conclusion 730
Références bibliographiques 731

Chapitre 35

Génomiques structurale et fonctionnelle appliquées à la lutte phytosanitaire : le cas de la fusariose de l'épi chez les céréales
Thérèse Ouellet, Linda Harris, Steve Gleddie, François Belzile ——— 733
1. Le problème de la fusariose de l'épi chez le maïs et les céréales à petits grains 734
2. Génomique structurale 735
2.1. Marqueurs et cartes génétiques 735
2.2. Cartes physiques et marche chromosomique 736
2.3. Caractérisation d'homologues de gènes de résistance 736
3. Génomique fonctionnelle 737
3.1. Progrès accomplis dans la compréhension des mécanismes moléculaires généraux de défense chez les plantes 737
3.2. Collections de gènes exprimés 738
3.3. Caractérisation de profils d'expression génique par biopuce 739
3.4. Caractérisation de profils protéiques 742
3.5. Validation fonctionnelle des gènes candidats 743
Conclusion 743
Références bibliographiques 744

Chapitre 36

Effets non intentionnels des cultures transgéniques
Henri Darmency ——— 747
1. À l'échelle du gène 748
2. Les produits des transgènes 751
3. Les organismes transgéniques 752

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

4. À l'échelle des communautés 754
5. À l'échelle de la société 756
Conclusion 757
Références bibliographiques 758

Chapitre 37

Effets non intentionnels des plantes transgéniques sur les insectes non-cibles
Aude Couty, Jacqueline Pierre, Minh-Hà Pham-Delègue ——— 761

1. Effets directs des protéines exprimées dans les plantes transgéniques . 763
   1.1. Études en laboratoire 763
      1.1.1. Effets sur l'abeille 763
      1.1.2. Effets sur les parasitoïdes 768
   1.2. Études en conditions semi-naturelles des effets sur l'abeille 772
      1.2.1. Études en cage de vol 772
      1.2.2. Études sous tunnels 774
2. Effets indirects des plantes génétiquement modifiées 775
   2.1. Études au laboratoire sur les arômes floraux 775
   2.2. Études en conditions naturelles 776
      2.2.1. Nectars 776
      2.2.2. Biodiversité de l'entomofaune 776
Conclusion 778
Références bibliographiques 779

Section 5

Stratégies de la lutte physique ——— 785

Chapitre 38

Bases écophysiologiques de la lutte physique contre les insectes
Francis Fleurat-Lessard ——— 787

1. Physiologie du stress physique chez les insectes 788
   1.1. Stress thermique 788
      1.1.1. Effets des températures élevées (sub-optimales) 788
      1.1.2. Basses températures (infra-optimales) 791
      1.1.3. Choc thermique par exposition aux radiofréquences (RF) ou aux micro-ondes (MO) 794
   1.2. Effets biologiques des radiations ionisantes 794
   1.3. Stress anoxique, hypoxique ou carboxyque 795
      1.3.1. Effets de l'anoxie seule et facteurs de tolérance 796

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1.3.2. Effets de teneurs élevées en dioxyde de carbone (hypercarbie) 796
1.3.3. Mise en œuvre des atmosphères modifiées 797
1.4. Stress mécaniques (chocs, aspiration) 798
2. De la connaissance des effets à l'usage opérationnel de procédés physiques en protection intégrée 798
2.1. Place des procédés physiques dans les schémas de protection raisonnée 798
2.2. Stratégie d'intégration « alternative » ou de substitution 799
2.3. Stratégie d'association ou de complémentarité (entre procédés physiques et chimiques) 800
2.4. Stratégie d'appoint optionnelle pour satisfaire des exigences de qualité des produits traités ou de sûreté des aliments dérivés. 801
Conclusion et perspectives 802
Références bibliographiques 802

Chapitre 39

Méthodes physiques contre les ravageurs des cultures et des denrées stockées

Francis Fleurat-Lessard, Charles Vincent ——— 805

1. Principes, procédés et domaines d'application de la lutte physique contre les insectes 806
1.1. Définition et principes de la lutte contre les ravageurs par des méthodes physiques 806
1.2. Principaux procédés et outils de la lutte physique 811
1.2.1. Méthodes actives 811
1.2.2. Méthodes passives 817
1.2.3. Autres méthodes 818
2. Domaines principaux d'application de la lutte physique 819
2.1. Protection des denrées en post-récolte 819
2.2. Traitements contre les ravageurs de quarantaine 820
2.2.1. Traitement thermique d'éradication 820
2.2.2. Traitements par irradiation de ravageurs de quarantaine (ionisation) 822
2.3. Lutte contre les insectes phytophages 822
2.3.1. Lutte pneumatique (aspiration et soufflage) 822
2.3.2. Lutte thermique contre les insectes phytophages 823
2.4. Alternatives physiques à la fumigation au bromure de méthyle .. 824
2.5. Applications pour les méthodes passives 824
3. Interactions des procédés physiques avec les méthodes et outils de la protection intégrée 826
3.1. Inconvénients pour la lutte biologique 826
3.2. Interférence avec l'efficacité des traitements phytosanitaires 827

3.3. Inconvénients pour la structure du sol ou les équipements des locaux traités 827
Conclusion et perspectives 828
Références bibliographiques 829

Partie 3

Aspects économiques et réglementaires

sous la direction de Catherine Regnault-Roger ——— 833

Chapitre 40

Données économiques sur le marché des produits phytosanitaires

Jean-Charles Bocquet, Jacques My, Philippe Michel ——— 835

1. Analyse du marché des produits phytosanitaires 835
   1.1. Un marché mondial mature 836
   1.2. L'Europe : deuxième marché mondial 839
   1.3. France : un marché mature 841
2. L'industrie phytosanitaire : un secteur en cours de consolidation 842
   2.1. Les principaux acteurs au niveau mondial 842
   2.2. Un secteur en permanente évolution 843
3. L'industrie phytosanitaire : un secteur strictement réglementé 844
   3.1. L'approche européenne 844
   3.2. Une évolution constante des exigences 845
   3.3. De l'évaluation des risques à la gestion des risques 845
   3.4. Une recherche « plurielle » 846
4. Des entreprises de plus en plus impliquées pour une gestion responsable des produits 846
   4.1. Les services à côté des produits 846
   4.2. La priorité aux Bonnes pratiques phytosanitaires 847

Conclusion 848

Chapitre 41

Biopesticides : réalités et perspectives commerciales

Catherine Regnault-Roger, Christine Silvy, Claude Alabouvette ——— 849

1. Biopesticides : un concept en débat 849
2. Biopesticides : état de l'art 854
   2.1. Biopesticides à base d'organismes vivants 854
   2.2. Biopesticides à base de substances biologiques naturelles 865
      2.2.1. Les phéromones 865
      2.2.2. Composés sémiochimiques allélochimiques végétaux (*botanicals*) 867

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

2.2.3. Les SDN ou éliciteurs 871
3. Le marché des biopesticides : entre timidité et espoir 872
3.1. Quelques chiffres et estimations 872
3.2. Marchés niches et qualité des produits 874
3.3. La restructuration du secteur 875
3.4. La nécessité d'une réglementation claire et précise 876
Conclusion 877
Références bibliographiques 878

Chapitre 42

Le développement de nouvelles spécialités phytosanitaires biologiques : processus et perspectives

Hervé Quénin ——— 881

1. Acquisition de données biologiques pour l'homologation d'une spécialité phytosanitaire 882
1.1. Le virus de la granulose du carpocapse 883
1.2. Expérimentations préliminaires 883
1.3. Expérimentations conventionnelles 884
2. Poursuite du développement en complément des exigences réglementaires 886
3. Prise en considération de la résistance aux insecticides dans le développement de la Carpovirusine® 890
Conclusion 892
Références bibliographiques 893

Chapitre 43

Quelle place pour les cultures transgéniques en protection des plantes ? Aspects agro-économiques

Sylvie Bonny ——— 895

1. Le contexte agricole 896
2. État de développement des cultures transgéniques à but phytosanitaire dans le monde 897
3. Le foisonnement des tests au champ de nouveaux OGM aux États-Unis 898
4. Marchés et firmes impliquées 902
5. Étude de cas : le soja tolérant à un herbicide aux États-Unis – Bilan agroéconomique 910
Conclusion 914
Références bibliographiques 915

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Chapitre 44

Le commerce international des organismes génétiquement modifiés : entre sécurité alimentaire, réglementation phytosanitaire et protectionnisme

Antoine Bouët ——— 919

1. Un état des lieux préalable ... 920
   1.1. Quelques définitions ... 920
   1.2. Structure de la production mondiale d'OGM ... 920
   1.3. Les réactions de politique commerciale ... 921
2. Une évaluation des effets économiques globaux du commerce de produits OGM ... 922
   2.1. Un modèle général ... 922
   2.2. Une réaction protectionniste ... 926
   2.3. Quelques amendements au modèle général ... 927
      2.3.1. Les effets dynamiques potentiels ... 927
      2.3.2. Un goût des consommateurs pour le non OGM ... 927
      2.3.3. La transmission des gains de productivité aux prix du marché ... 928
      2.3.4. Les externalités sur l'environnement ... 928
3. Réglementation sanitaire, protectionnisme et sécurité alimentaire ... 928
   3.1. Les accords SPS : principes généraux ... 929
   3.2. L'article 5.7 des accords SPS et le principe de précaution ... 930
   3.3. Le protocole de Carthagène ... 931
4. Des conflits possibles entre Union européenne et États-Unis sur le commerce d'OGM ... 931
   4.1. Les principes des réglementations des OGM en Europe et aux États-Unis ... 932
   4.2. Le règlement possible par l'OMC d'un conflit portant sur les OGM ... 932
   4.3. Modification génétique et équivalence des produits ... 933
   4.4. Une solution mutuellement profitable ... 934

Conclusion ... 934

Références bibliographiques ... 935

Chapitre 45

La biovigilance : concept et applications dans les pays européens

Marc Delos, Nathalie Eychenne, Laurent Folcher, François Hervieu —— 937

1. La biovigilance : définitions ... 938
   1.1. Bases légales et fondement juridique ... 938
   1.2. Objectifs ... 939
   1.3. Concepts ... 940
   1.4. Acteurs et dispositifs ... 942

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

2. La biovigilance : les actions menées en France 943
2.1. De la recherche à la biovigilance 943
2.2. De la surveillance spécifique à la surveillance générale : actions sur l'entomofaune 944
2.3. Développement de la surveillance générale : action sur la flore.. 947
3. Actions conduites dans d'autres pays européens : similitudes et différences 951
3.1. L'Espagne 951
3.2. La Grande-Bretagne 951
3.3. La Suisse 952
3.4. La France : comparaison avec les autres dispositifs européens ... 952
Conclusion et perspectives 953
Références bibliographiques 954

Chapitre 46

Éclairages sur la réglementation des produits phytosanitaires

Catherine Regnault-Roger & DGAL-MAAPAR ——— 957

1re partie :
Quelques points de repères sur la réglementation dans l'Union Européenne et au Canada

1. Repères historiques 958
2. Dénominations et catégories des produits phytosanitaires 959
3. Les limites maximales de résidus (LMR) : outils de la réglementation des produits phytosanitaires 960
4. Une plus grande vigilance dans l'homologation 964
Conclusion 964
Références bibliographiques 965

2e partie :
Les orientations du MAAPAR en matière d'homologation des produits phytopharmaceutiques

1. La procédure d'autorisation des produits phytopharmaceutiques en France : un dispositif transparent et efficace 967
1.1. Définition d'un pesticide 967
1.2. L'utilisation des pesticides en France 967
1.3. Une logique d'évaluation préalable à la mise sur le marché 968
1.4. Le cadre communautaire 968
1.5. La qualité de l'évaluation française des risques liés aux produits phytosanitaires 968
1.6. Deux maîtres mots : efficacité et innocuité 969

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1.7. Un décideur : le ministre chargé de l'agriculture 969
1.8. Une séparation nette de processus d'évaluation et de gestion des risques 970
2. Une priorité : développer une politique d'orientation forte dans le domaine de l'homologation des pesticides, pour une gestion optimisée du risque pour la santé humaine et l'environnement 970
3. Des objectifs, en termes de politique publique, clairs et affichés : un cadrage resserré de l'utilisation des intrants, un développement constant de l'interface « homologation/contrôles » pour la promotion d'une agriculture raisonnée 971
4. L'orientation de la politique d'homologation repose en grande partie sur l'expertise des services déconcentrés du MAAPAR (DRAF) et sur leur capacité de réaction et d'anticipation 971
5. La montée en puissance affirmée des expérimentations et des contrôles 972
5.1. L'expérimentation officielle doit être mise à disposition des besoins de la collectivité et non plus seulement au service des seules firmes ou des agriculteurs 972
5.2. Les contrôles à l'utilisation sont nombreux et doivent encore se développer 972
5.2.1. Les objectifs poursuivis par les contrôles 973
5.2.2. Les différents types de contrôles exercés 973
6. Un réseau de surveillance complémentaire de l'homologation et des contrôles afférents 975

Index 979

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Préface

La lutte contre les organismes nuisibles aux cultures (ravageurs et maladies) ou pour contrôler les adventices est une étape essentielle dans les schémas de production végétale agricole. Elle fait aujourd'hui largement appel à une utilisation de produits phytosanitaires qui apportent des bénéfices certains dans les systèmes de production mais qui peuvent aussi être à l'origine d'effets potentiellement préjudiciables pour la santé humaine (des utilisateurs de ces produits, des travailleurs agricoles ou des consommateurs) et pour l'environnement.

C'est pourquoi une expertise pertinente du rapport « risques-bénéfices » doit nécessairement être réalisée aussi bien par les pouvoirs publics (gestionnaire du risque) que par la profession agricole, utilisatrice. Pour ce faire, les outils nécessaires à cette expertise doivent être en permanence mis au point et perfectionnés. Ils naissent de la créativité publique et privée des chercheurs, bénéficient des résultats des démarches entreprises par les industriels, se développent et s'améliorent grâce au travail des enseignants en matière de transfert de connaissances.

L'encadrement des pratiques liées à l'utilisation des produits phytosanitaires est une préoccupation nationale et communautaire conduisant à l'élaboration de stratégies, pour partie réglementaire. Ces stratégies visent continuellement à réduire les impacts des pesticides sur la santé publique et l'environnement. Elles doivent donc conduire à une utilisation de pesticides dans le cadre de l'agriculture durable et assurer une réduction significative des risques tout en permettant la protection nécessaire des cultures.

Parallèlement, on constate une adhésion croissante des agriculteurs au développement de stratégies raisonnées, biologiques et intégrées de protection des productions végétales.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Si cette adhésion constitue une volonté de progrès vers une agriculture durable, elle révèle aussi l'existence de techniques alternatives de protection des cultures pour lesquelles efficacité et innocuité sont dorénavant démontrées, même s'il faut reconnaître que les résultats sont souvent difficilement disponibles aujourd'hui, notamment du fait de l'éparpillement des résultats dans la bibliographie.

Ainsi, les pouvoirs publics, les experts chargés de l'évaluation des risques, les prescripteurs et les agriculteurs eux-mêmes sont toujours plus attachés à disposer des nécessaires références qui permettront, toujours dans le cadre de l'analyse du rapport « bénéfices-risques », à la fois un raisonnement effectif de l'utilisation des produits phytosanitaires et la mise en œuvre de pratiques alternatives de protection.

L'acquisition de ces références requiert la diffusion et le partage des connaissances issues de la recherche fondamentale et appliquée ainsi que des résultats issus d'une observation organisée des cultures et des systèmes de production.

Le présent ouvrage répond à toutes ces attentes.

Pluridisciplinaire et collectif, il constitue un apport considérable d'expériences, références et connaissances relatives à des domaines de compétences très variés comme la biologie, la malherbologie, l'entomologie ou la pathologie.

Les articles scientifiques détaillent les mécanismes et phénomènes sous-jacents aux agressions parasitaires, les modes d'action et cibles biologiques des pesticides synthétiques ou naturels, et abordent la question des effets non intentionnels des intrants sur la santé humaine et les écosystèmes.

Il propose par ailleurs avec pragmatisme un ensemble de stratégies alternatives de protection des plantes d'ores et déjà utilisables dans la pratique agricole et désormais reconnues pour la plupart d'entre elles par le règlement communautaire sur le mode de production biologique.

En 46 chapitres, il explique et regroupe les pistes nouvelles d'une protection raisonnée, intégrée ou biologique des cultures.

76 auteurs appartenant à des organismes institutionnels, chercheurs et ingénieurs de l'INRA, INSERM, CNRS, CIRAD, IRD, FAO, AAC, ISRA, universitaires, experts et professionnels praticiens mettent en commun les connaissances et outils nécessaires à une véritable approche agronomique des relations entre les plantes, leurs agresseurs et le milieu.

Ces auteurs sont non seulement complémentaires dans leurs spécialités mais ils proviennent du monde entier : Europe, Amérique du Nord et Afrique. Ils se répartissent selon trois « collèges » : 55 % de chercheurs et assimilés, 25 % d'universitaires et 20 % de professionnels de la protection des cultures. De la même manière, Catherine Regnault-Roger, qui coordonne l'ouvrage, a réuni autour d'elle un comité d'harmonisation et de lecture qui reflète bien cette ouverture puisque le trio constitué est composé de deux professeurs des universités et d'un directeur de recherche, l'un canadien, les autres français.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Ces quelques chiffres montrent, par la diversité des thèmes abordés et l'harmonieux équilibre entre connaissance fondamentale et pragmatisme, la volonté d'offrir au lecteur une vision intégrale des possibilités actuelles et futures de protection des cultures.

Ils illustrent aussi l'originalité incontestable de ce premier ouvrage de synthèse, en langue française, consacré à l'ensemble des connaissances actuelles et objectives offrant l'espoir de produire toujours mieux.

L'équilibre résultant de la complémentarité des partenaires et de la synergie des contributions invitait à un parrainage logique de cet ouvrage par l'Association française de protection des plantes, qui tire des avantages considérables depuis déjà vingt ans de ces mêmes priorités.

Yves Monnet
Président de l'AFPP
(Association française de protection des plantes)

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Liste des auteurs

Al Rouechdi Khaled
Professeur des universités, expert FAO
Bureau sous-régional pour l'Afrique du Nord – SNEA Tunis, Tunisie

Alabouvette Claude
Directeur de recherche INRA
UMR microbiologie géochimie des sols – BP 86510 – 21065 Dijon Cedex, France

Badiane Mamadou
Ingénieur agronome responsable des Productions Végétales
Direction régionale du développement rural ANCAR
Kolda, Sénégal

Barriuso Enrique
Directeur de recherche INRA
UMR INRA-INAPG « Environnement et grandes cultures » – BP 01 – 78850 Thiverval-Grignon, France

Belzile François
Professeur des universités
Université Laval
Département de phytologie – Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation – Laboratoire de génétique moléculaire des plantes – 1243, Pavillon C.-E. Marchand, Ste-Foy – Québec Canada G1K 7P4

Bocquet Jean-Charles
Ingénieur agronome
Directeur général
UIPP (Union des industries de la protection des plantes)
2, rue Denfert-Rochereau – 92660 Boulogne Cedex, France

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Bonny Sylvie
Chargée de recherche INRA
UMR d'économie publique INRA-INAPG – INRA Grignon – BP 01 – 78850 Grignon, France

Bouët Antoine
Professeur agrégé des universités en sciences économiques
Université de Pau et des Pays de l'Adour
Centre analyses et traitements des données (CATT) EA 753 – UFR droit économie gestion – Avenue du Doyen Poplawski – 64000 PAU, France

Bourguet Denis
Directeur de recherche INRA
UMR – CBGP (Centre de biologie et de gestion des populations) – Campus international de Baillarguet – CS 30016 – 34988 Montferrier-sur-Lez Cedex, France

Chauvel Bruno
Chargé de recherche INRA
UMR biologie et gestion des adventices, INRA/ENESAD/Université de Bourgogne – 17, rue Sully – BP 86510 – 21065 Dijon Cedex, France

Copin Alfred
Professeur des universités – Directeur du laboratoire de chimie analytique et phytopharmacie
Faculté universitaire des sciences agronomiques de Gembloux
2, passage des déportés – B-5030 Gembloux (Belgique)

Cordier Sylvaine
Directeur de recherche INSERM
Groupe d'étude de la reproduction chez le mâle GERM – INSERM U 625 – Campus de Beaulieu, Université Rennes – 1, av. Général Leclerc – 35042 Rennes Cedex, France

Couty Aude
Maître de conférences
Université de Picardie Jules Verne
Faculté des sciences, laboratoire de biologie des entomophages – 33, rue Saint-Leu – 80039 Amiens, France

Darmency Henri
Directeur de recherche INRA
UMR biologie et gestion des adventices – INRA/ENESAD Université de Bourgogne – 17, rue Sully – BP 86510 – 21065 Dijon, France

Decourtye Axel
Ingénieur
ACTA Institut Claude Bourgelat – 1, av. C. Bourgelat – 69280 Marcy l'Étoile, France

Deguine Jean-Philippe
Docteur en sciences agronomiques – Conseiller à la direction scientifique du CIRAD
CIRAD-EMVT – Campus international de Baillarguet – TA 30/B – 34398 Montpellier Cedex 5, France

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Delattre Pierre
Directeur de recherche INRA
UMR CBGP (Centre de biologie et gestion des populations), CS 30016 – Campus international du Baillarguet – 34988 Montferrier-sur-Lez Cedex, France

Delisle Johanne
Chercheur scientifique – Professeur associé
Ressources naturelles Canada – Service canadien des forêts – Université Laval
Centre de foresterie des Laurentides – 1055, rue du PEPS, CP 3800, Sainte Foy – Québec Canada G1V 4C7

Delos Marc
Ingénieur du génie rural des eaux et forêts (IGREF) – Expert national grandes cultures et biovigilance
Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche et des Affaires rurales
DRAF/SRPV Midi-Pyrénées – Cité Administrative – Bd Armand Duportal – 31074 Toulouse Cedex, France

Devauchelle Gérard
Directeur de recherche CNRS – Professeur associé à l'université Montpellier II
UMR 5160 Baculovirus et thérapie
Station de pathologie comparée – 30380 Saint-Christol-les-Alès, France

Direction générale de l'alimentation (DGAL)
Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche et des Affaires rurales
251, rue de Vaugirard – 75105 Paris, France

Eychenne Nathalie
Ingénieur des travaux agricoles – Chef du service « Santé des végétaux »
FREDEC/Midi-Pyrénées FREDON
Complexe agricole d'Auzeville – 2, route de Narbonne – Bât. 43 – BP 67 – 31321 Castanet Tolosan Cedex, France

Fabres Gérard
Directeur de recherche honoraire IRD
32160 Tasque, France

Fargues Jacques
Directeur de recherche INRA
UMR – CBGP (Centre de biologie et de gestion des populations) – Campus international de Baillarguet – CS 30016 – 34988 Montferrier-sur-Lez Cedex, France

Ferron Pierre
Directeur de recherche honoraire INRA
289, rue des Impressionnistes – 34090 Montpellier, France

Fleurat-Lessard Francis
Chargé de recherche INRA
UPR MYCSA – Pôle Qualis – 71, avenue Edouard Bourleaux – BP 81 – 33883 Villenave d'Ornon Cedex, France

Folcher Laurent
Ingénieur d'études
FREDEC Midi-Pyrénées/FREDON

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Complexe agricole d'Auzeville – 2, route de Narbonne – Bât. 43 – BP 67 – 31321 Castanet Tolosan Cedex, France

Fraval Alain
Chargé de recherche INRA
Le Bourg – 58190 Vignol

Frérot Brigitte
Ingénieur de recherche
INRA – UMR 1272 – Laboratoire d'écologie chimique – Route de Saint-Cyr – 78026 Versailles Cedex, France

Gasquez Jacques
Directeur de recherche INRA – Directeur de l'UMR biologie et gestion des adventices, INRA/ENESAD/Université de Bourgogne – 17, rue Sully – BP 86510 – 21065 Dijon Cedex, France

Gauvrit Christian
Directeur de recherche INRA – Expert « herbicides » auprès du Comité d'homologation des produits phytosanitaires
UMR biologie et gestion des adventices – 17, rue Sully – BP 86510 – 21065 Dijon Cedex, France

Giraudoux Patrick
Professeur des universités – Directeur du laboratoire de biologie environnementale
Université de Franche-Comté
Laboratoire de biologie environnementale EA3184/INRA – Place Leclerc – 25030 Besançon Cedex, France

Gleddie Steve
Chercheur et chef de section – Professeur associé
Agriculture et agroalimentaire Canada – Université Carleton
Produits et procédés biologiques – 960, avenue Carling, Ottawa – On Canada K1A 0C6 – Ottawa, Ontario, Canada

Harris Linda
Chercheur
Agriculture et agroalimentaire Canada
Produits et procédés biologiques – 960, avenue Carling, Ottawa – On Canada K1A 0C6 – Ottawa, Ontario, Canada

Hervieu François
Ingénieur du génie rural, des eaux et des forêt (IGREF)
Direction génerale de l'Alimentation – Sous-direction de la Qualité et de la Protection des végétaux (DGAL-SDQPV) bureau de la biovigilance, méthodes de lutte et expérimentation
Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche et des Affaires rurales
DGAL-SDQPV – 251, rue de Vaugirard – 75732 Paris Cedex 15, France

Jegou Bernard
Directeur de recherche INSERM
Groupe d'étude de la reproduction chez le mâle GERM – INSERM U 625 – Campus de Beaulieu, Université Rennes – 1, av. Général Leclerc – 35042 Rennes Cedex, France

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Jerraya Abderrahman
Professeur de l'INAT (Institut national agronomique de Tunis)
43, avenue Charles Nicolle – 1082 Cité Mahrajène Tunis, Tunisie

Johnson Susan
Entomologiste
Biodôme de Montréal
4777, avenue Pierre de Coubertin – Montréal H1V 1B3 P Québec, Canada

Lapchin Laurent
Directeur de recherche INRA
UMR INRA/Université de Nice Sophia Antipolis ROSE (réponse des organismes aux stress environnementaux) – 400, route des Chappes – BP 167 – 06903 Sophia Antipolis Cedex, France

Larcher Marièle
Post-doctorant
Observatoire océanologique de Banyuls
BP 44 – 66651 Banyuls-sur-Mer Cedex, France

Le Henaff Guy
Ingénieur divisionnaire – Rapporteur national « Réduction des intrants phytosanitaires »
Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche et des Affaires rurales
DRAF-SRPV – 38, rue Sainte-Catherine – 54043 Nancy Cedex, France

Leroux Pierre
Directeur du recherche INRA – Directeur de l'unité de phytopharmacie et médiateurs chimiques
Route de Saint-Cyr – 78026 Versailles Cedex, France

Lopez-Ferber Miguel
Professeur de l'École des mines d'Alès
Laboratoire génie de l'environnement – 6, rue de Clavières – 30319 Alès, France

Maisonneuve Jean-Charles
Ingénieur des travaux agricoles
Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche et des Affaires rurales
DAF jardin botanique – 97100 Basse-Terre – Guadeloupe, France

Malausa Jean-Claude
Ingénieur de recherche INRA – Directeur de l'unité de lutte biologique
Unité de lutte biologique – 1382, route de Biot – 06560 Valbonne, France

Mbaye Demba Farba
Chargé de recherche – Directeur de la station de recherche de l'ISRA de Kolda
CRZ Kolda, Sénégal

Michel Philippe
Responsable des affaires technico-réglementaires
UIPP (Union des industries de la protection des plantes)
2, rue Denfert-Rochereau – 92660 Boulogne Cedex, France

Mouchès Claude
Professeur des universités – Directeur du département écologie de l'UPPA
Université de Pau et des Pays de l'Adour

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Laboratoire d'écologie moléculaire EA 3525 – UFR sciences et techniques Côte basque – Allée du Parc Montaury – 64600 Anglet, France

Mugniéry Didier
Directeur de recherche INRA
UMR biologie des organismes et des populations appliquée à la protection des plantes (BiO3P) – Domaine de la Motte au Vicomte – BP 35327 – 35653 Le Rheu Cedex, France

Multigner Luc
Chargé de recherche INSERM
Groupe d'étude de la reproduction chez le mâle GERM – INSERM U 625 – Campus de Beaulieu, Université Rennes – 1, avenue Général Leclerc – 35042 Rennes Cedex, France

Munier-Jolain Nicolas
Ingénieur de recherche INRA
UMR biologie et gestion des adventices – 17, rue Sully – BP 86510 – 21065 Dijon Cedex, France

My Jacques
Ingénieur agronome
Secrétaire général
UIPP (Union des industries de la protection des plantes)
2, rue Denfert-Rochereau – 92660 Boulogne Cedex, France

N'Diaye Saliou
Maître – Assistant – Chef du département productions végétales
ENSA (École nationale supérieure d'agronomie)
Département production végétale – zoologie – BP A 296 – Thiès, Sénégal

Olivain Chantal
Maître de conférences
Université de Bourgogne – IUT de Dijon
Département de génie biologique – BP 17867 – 21078 Dijon Cedex, France

Ouellet Thérèse
Chercheur – Professeur associé
Agriculture et Agroalimentaire Canada – Université d'Ottawa
Produits et procédés biologiques – 960, avenue Carling, Ottawa – ON Canada K1A 0C6 – Ottawa, Ontario, Canada

Paré Josiane
Ingénieur d'études
Université de Picardie Jules Verne
Faculté des sciences – 33, rue Saint-Leu – 80039 Amiens, France

Pham Delègue Minh-Hà
Directeur de recherche INRA
Laboratoire de neurobiologie comparée des invertébrés – Route de la Guyonnerie – 91440 Bures sur Yvette, France

Philogène Bernard J.R.
Professeur des universités émérite
Université d'Ottawa
Département de biologie – 150, Louis-Pasteur – Ottawa, ON K1N 6N5, Canada

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Pick Frances R
Professeur des universités
Université d'Ottawa
Département de biologie – 150, Louis-Pasteur – Ottawa, ON K1N 6N5, Canada

Pierre Jacqueline
Ingénieur d'études INRA
UMR biologie des organismes et des populations appliquée à la protection des plantes (BiO3P) – Domaine de la Motte au Vicomte – BP 35327 – 35653 Le Rheu, France

Quenin Hervé
Directeur
Société Cotesia – 64360 Lucq de Béarn – France

Rat-Morris Élizabeth
Maître de conférences
Institut national d'horticulture
Département de sciences biologiques – Unité de protection des plantes –
2, rue Le Nôtre – 49045 Angers Cedex 01, France

Regnault-Roger Catherine
Professeur des universités
Université de Pau et des Pays de l'Adour
UMR 5254 CNRS-UPPA/IPREM-EEM – UFR sciences et techniques – BP 1155 – 64013 Pau Cedex, France

Rouzet Jacques
Ingénieur du génie rural – Expert national modélisation et outils d'aide à la décision
Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche et des Affaires rurales
DRAF/SRPV – ZAC d'Alco – BP 3056 – 34034 Montpellier Cedex 01, France

Royer Lucie
Chercheur – Professeur associé
Ressources naturelles Canada – Service canadien des forêts – Université du Nouveau-Brunswick
Centre de foresterie de l'Atlantique – University Drive, CP 960, Corner Brook, NL, Canada A2H 6J3 – Fredericton, Nouveau-Brunswick, Canada

Sallé Georges
Professeur des universités
Université Pierre et Marie Curie Paris VI
Laboratoire de parasitologie végétale – 4, place Jussieu – Case courrier 155 – 75252 Paris Cedex 05, France

Schiavon Michel
Professeur des universités
ENSAIA (École nationale supérieure d'agronomie et des industries alimentaires)
Laboratoire sols et environnement – BP 172 – 54502 Vandœuvre-lès-Nancy Cedex, France

Silvy Christine
Ingénieur d'études INRA
UMR CBGP Centre de biologie et gestion des populations – Campus international du Baillarguet – 34988 Montferrier-sur-Lez Cedex, France

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Steinberg Christian
Chargé de recherche INRA
CMSE UMR microbiologie géochimie des sols – 17, rue Sully – BP 86510 – 21065 Dijon Cedex France

Taséi Jean-Noël
Chargé de recherche INRA
Unité de recherches de zoologie – 86600 Lusignan, France

Tisseur Michel
Ingénieur ACTA (Association de coordination technique agricole)
Institut Claude Bourgelat – 1, av. C. Bourgelat – 69280 Marcy l'Étoile, France

Tourte Yves
Professeur des universités honoraire
Université de Poitiers
Les Aiglants la Torchaire – 86190 Béruges, France

Tuquet Christiane
Maître de conférences
Université Pierre et Marie Curie Paris VI
Laboratoire de parasitologie végétale – 4, place Jussieu – Case courrier 155 – 75252 Paris Cedex 05, France

Vansuyt Gérard
Ingénieur de recherche INRA – Expert pour les régulateurs de croissance, au comité d'homologation des produits phytopharmaceutiques
CMSE, UMR 1229 microbiologie et géochimie des sols – 17, rue Sully – BP 86510 – 21065 Dijon Cedex, France

Vert Grégory
Chercheur associé
Salk Institute for Biological Studies – Plant Biology Laboratory – 10010 North Torrey Pines Road, The Salk Institute for Biological Studies, La Jolla – CA 92037, États-Unis

Vincent Charles
Chercheur scientifique – Professeur associé
Agriculture et agroalimentaire Canada – Université de Montréal
Centre de recherche et de développement en horticulture – 430, boulevard Gouin, Saint-Jean-sur-Richelieu, Québec, J3B – Montréal Québec, Canada

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Liste des sigles, abréviations et acronymes

2,4-D	acide dichlorophénoxyacétique
2,4,5-T	acide trichlorophénoxyacétique
AAC	Agriculture et agroalimentaire Canada
ABA	acide abcissique
ABC	*ATP binding cassette*
ACCase	acétyl-coenzyme A carboxylase
ACC	(synthase/oxydase/désaminase) : acide 1-aminocyclopropane carboxylate (synthase/oxydase/désaminase)
AChE	acétylcholinestérase
ACIAR	*Australian Center for International Agricultural Research*
ACTA	Association de coordination des techniques agricoles
ADIVALOR	Agriculteurs distributeurs industriels pour la valorisation des déchets agricoles
ADN	acide désoxyribonucléique
AESA	Agence européenne de sécurité des aliments
AFSSA	Agence française de sécurité sanitaire des aliments
AFPP	Association française de protection des plantes
AGPM	Association générale des producteurs de maïs
AFID	*alkali flam ionization detection*
AIA	acide indolacétique
AITS	autorisation d'importation à titre scientifique
AJE	apport journalier estimé
AJEI	apport journalier estimé international
AJMT	apport journalier maximum théorique
AMM	autorisation de mise sur le marché
AMPA	*aminomethylphosphonic acid*
ANCAR	Agence nationale de conseil agricole et rural (Sénégal)
ANITTA	Association nationale interprofessionnelle technique du tabac

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

APCA	Assemblée permanente des chambres d'agriculture
APCI	*atmospheric pressure chemical ionization*
API	*atmospheric pressure ionization*
ARLA	Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire (Canada)
ARN	acide ribonucléique
ARNm	acide ribonucléique messager
ASE	*accelerated solvent extraction*
ASPAM	Association des producteurs d'agrumes au Maroc
ASTREDHOR	Association nationale des structures d'expérimentation et de démonstration en horticulture
ASTM	*American Society for Testing and Materials standards*
ATP	adénosine triphosphate
BABA	*β-amino butyric acid*
BAC	*bacterial artificial chromosome*
BBI	*Bowman-Birk soybean inhibitor*
BIT	Bureau international du travail
BCPC	*British Crop Protection Council*
BMV	*bean mosaic virus*
BOA-NRC	*board on Agriculture – National Research Council* (États-Unis)
BPA	bonnes pratiques agricoles
BPE	bonnes pratiques d'expérimentation
Bt	*Bacillus thuringiensis*
BTH	*acibenzolar-S-methyl*
CaMV	*cauliflor mosaic virus*
CABI	*Commonwealth Agricultural Bureau International*
CAST	*Council for Agricultural Science and Technology*
CBR	*Community Bureau of Reference*
CEB	Commission des essais biologiques
CEE	Communauté économique européenne
CEVd	*Citrus exocortis viroid*
CETIOM	Centre technique interprofessionnel des oléagineux métropolitains
CFU	*colony forming unit*
CGB	Commission du génie biomoléculaire
CIBC	*Commonwealth Institute of Biological Control*
CILLS	Comité inter-états de lutte contre la sécheresse au Sahel
CIMMYT	*Centro Internacional de Mejoramiento de Maiz y Trigo*
CIRAD	Centre international pour la recherche agronomique et le développement
CLHP	chromatographie liquide à haute performance
CLIA	*chemiluminescent immunoassay*
CMFSC	Commission des matières fertilisantes et des supports de culture
CMV	*cucumber mosaic virus*
CNIEL	Centre national interprofessionnel de l'économie laitière
CNRA	Centre national de recherche agronomique
CNRS	Centre national de recherche scientifique
CoE	carboxy-estérase
COLEACP	Comité de liaison Europe-Afrique-Caraïbes-Pacifique
CPGΣ	chromatographie en phase gazeuse capillaire
CpTI	*Cowpea trypsin inhibitor*

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

CRECO-AAC	Centre de recherche de l'est sur les céréales et les oléagineux – Agriculture et agroalimentaire Canada
CST	comité scientifique et technique
CTIFL	Centre technique interprofessionnel des fruits et légumes
CTV	*citrus tristeza virus*
DAR	délai avant récolte
DDE	dichlorodiphényléthane
DDT	dichlorodiphényltrichloroéthane
DEA	diplôme d'études approfondies
DGAL	direction générale de l'alimentation
DGCCRF	Délégation générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes
DGGE	*denaturing gradient gel electrophoresis*
dimes	cyclohexane diones
DJA	dose journalière admissible ou acceptable
DL_{50}	dose létale 50
DPV	direction de la Protection des végétaux
DRAF	direction régionale de l'Agriculture et de la Forêt
DSE	dose sans effet
EC	électrophorèse capillaire
ECD	*electronic click detector*
ECPA	*European Crop Protection Association*
EDC	*endocrine disrupting chemicals*
EMBL	*European Molecular Biology Laboratory*
EMS	éthyl-méthane-sulfonate
EPA	*Environmental Protection Agency*
EPPO	*European and Mediterranean Plant Protection Organization*
ERBIC	*evaluating environmental risks of biological control*
EST	*expressed sequence tag*
EVPP	emballages vides de produits phytosanitaires
FANPP	*Fluoride Action Network Pesticides Project*
FASD	*Flameless Alkali Sensitized Detector*
FAFEA	Fonds d'aide à la formation des exploitants agricoles
FAFSEA	Fonds d'aide à la formation des salariés d'exploitation agricole
FAO	*Food and Agriculture Organization (of the United Nations)*
FARRE	Forum de l'agriculture raisonnée et respectueuse de l'environnement
FDA	*Food and Drug Administration* (États-Unis)
FIA	*fluorescent immunoassay*
FIFRA	*Federal Insecticide, Fungicide and Rodenticide Act*
Fops	aryloxyphenoxypropionate
FREDEC	Fédération régionale de défense contre les ennemis des cultures
FREDON	Fédération régionale de défense contre les organismes nuisibles
GA	gibbérellines
GABA	*gamma amino butyric acid*
GATT	*General Agreement on Tariffs and Trade*
GPL	gaz de pétrole liquéfié

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

GNA	*Galanthus nivalis* agglutinine
GRAS	*generally regarded as safe*
GST	glutathion-S-transférase
GTAP	*Global Trade Analysis Project*
GV	granulovirus
HCB	hexachlorobenzène
HCH	hexachlorocyclohexane
HDR (zone)	zone haute dose refuge
HPLC	*high performance liquid chromatography*
HRAC	*Herbicide Resistance Action Committee*
HSP	*heat shock protein*
ICAC	*International Cotton Advisory Committee*
ICARDA	*International Center for Agricultural Research in the Dry Areas*
ICPBR	*International Commission for Plant-Bee Relationships*
ICRISAT	*International Crops Research Insitute for the Semi-Arid Tropics*
IDM	*isotope dilution method*
IFEN	Institut français de l'environnement
IGR	*insect growth regulator*
IIBC	*International Institute of Biological Control*
IITA	*International Institute for Tropical Agriculture*
INH	Institut national d'horticulture
INRA	Institut national de la recherche agronomique
INSAH	Institut du Sahel
INSERM	Institut national de santé et recherche médicale
IPM	*integrated pest management*
IPPC	*International Plant Protection Convention*
IRD	Institut national de recherche pour le développement
IRFA	Institut français de recherche sur les fruits et agrumes
ISO	*International Standardization Organization*
ISRA	Institut sénégalais de recherche agronomique
ITCF	Institut technique des céréales et des fourrages
IUPAC	*International Union of Pure and Allied Chemistry*
LAR	*local acquired resistance*
LEA	*late embryogenesis abundant*
LMR	limite maximale de résidu
LMV	*lettuce mosaic virus*
LOA	Loi d'orientation agricole
LOD	limite optimale de détection
LOEC	*lowest observed effect concentration*
LOQ	limite optimale de quantification
LPA	loi sur les produits antiparasitaires
MAAPAR	ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche et des Affaires rurales
MAE	*microwave assisted extraction*
MBI	*melanin biosynthesis inhibitor*
MBTOC	*Methyl Bromide Technical Options Committee*

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

MCPA	acide méthylchlorophénoxyacétique
MCPB	acide méthyl-2,chloro-4,phénoxybutyrique
MEDD	ministère de l'Écologie et du Développement durable
MNPV	*multiple nucleopolyhedro-virus*
MOE	*Ministry of Environment* (Ontario, Canada)
MSRS	*multidrug resistance pump*
NAD(P)/H	*nicotinamide adénine dinucléotide (phosphate)/hydrogéné*
NAS	*National Academy of Science* (États-Unis)
NCBI	*National Center for Biological Information*
NCFFAP	*National Center for Food and Agricultural Policy*
NIST	*National Institute of Science and Technology* (États-Unis)
NOAEL	*no observed adverse effect level*
NPD	*nitrogen phosphorus detection*
NPP	*natural plant protection*
NPV	*nucleo-polyhedro-virus*
NRAMP	*natural resistance-associated macrophage*
NRC	*National Research Council* (États-Unis)
NSAIS	*National Sustainable Agriculture Information Service*
OAD	outil d'aide à la décision
OCDE/OECD	Organisation de coopération et de développement économiques/*Organization for Economic Cooperation and Development*
OEPP	Organisation européenne et méditerranéenne pour la protection des plantes
OGM	organisme génétiquement modifié
OIE	Office international des épizooties
OILB/IOBC	Organisation internationale de lutte biologique/*International Organization for Biological Control*
OMC	Organisation mondiale du commerce
OMS/WHO	Organisation mondiale de la santé/*World Health Organization*
ONG	organisation non gouvernementale
ONU	Organisation des nations unies
ORD	Organe de règlement des différends
PAH	*polycyclic aromatic hydrocarbons*
PAC	Politique agricole commune
PAN	*Pesticide Action Network*
PBAN	*pheromone biosynthesis activating neuropeptide*
PBP	*pheromone binding protein*
P_C	pression critique (d'un composé)
PCAC	point critique d'abaissement cryoscopique
PCB	polychlorobiphényle/*polychlorinated biphenyls*
PEC	*predicted environmental concentration*
PCR	*polymerase chain reaction*
PGPR	*plant growth-promoting rhizobacteria*
PBI	protection biologique intégrée
PI	protection intégrée
PIB	produit intérieur brut
PLE	*pressure liquid extraction*

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

PLRV	*potato leaf mosaic virus*
PME	petite et moyenne entreprise
PNEC	*predicted no effect concentration*
POP	polluant organique persistant
POS	pesticide organique de synthèse
PPNU	produit phytosanitaire non utilisable
PPV	*plum pox virus*
PQ/PQH_2	plastoquinone/plastohydroquinone
PR	*pathogenesis related (protein)*
PSMO	polysubstrat mono-oxygénase
PTT	point de thermotorpeur
PVX	*potato virus X*
PVY	*potato virus Y*
QR	quotient de risque
QSAR	*quantitative structure-activity relationships*
QTL	*quantitative trait loci*
RAPD-PCR	*random amplification of polymorphic DNA-polymerase chain reaction*
R&D	recherche et développement
RCI	régulateur de croissance de l'insecte
RF	radiofréquence
RGA	*resistance gene analog*
RISA	*ribosomal intergenic spacer analysis*
ROCAFREMI	Réseau ouest et centre-africain de recherche sur le mil
RSA/SAR	résistance systémique acquise/*systemic acquired resistance*
RSV	*rice strip virus*
RYMV	*rice yellow mosaic virus*
SAM	sélection assistée par marquage
SBTI	*Soybean trypsin inhibitor*
SDN	stimulateur de défense naturelle
SFE	*supercritic fluid extraction*
SFIT	*Swiss Federal Institute of Technology*
SFPP	Société française de phytiatrie et de phytopharmacie
SM	spectrométrie de masse
SNC	système nerveux central
SNPV	*single nucleo-polyhedro-virus*
SPE	*solid phase extraction*
SPME	*solid phase microextraction*
SPS	*sanitary and phytosanitary (Agreement)*
S(N)(R)PV	service (national) (régional) de Protection des végétaux
SSH	*suppression substraction hybridization*
T_C	température critique (d'un composé)
Ti	*tumor inducing*
TEV	*tobacco etch virus*
THP	*thermal hysteresis proteins*
TIBA	acide 2,3,5-tri-iodobenzoïque
TID	*thermo ionic detector*

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

TIGR	*The Institute for Genomic Research*
T_R	temps de rétention d'un composé
TRFLP	*terminal restriction fragment length polymorphism*
TRV	*tobacco rattle virus*
TSWV	*tomato spotted wilt virus*
T_V	tension de vapeur (d'un composé)
TYLCV	*tomato yellow leaf curled virus*
UE	Union européenne
UIPP	Union des industries de protection des plantes
UMR	unité mixte de recherche
UNCAA	Union nationale des coopératives agricoles d'approvisionnement
UNEP	*United Nations Environment Program*
UNR	*ultra narrow row*
USA	*United States of America*
USDA	*United States Department of Agriculture*
USDA – ERS	*United States Department of Agriculture – Economic Research Service*
USDA – NASS	*United States Department of Agriculture – National Agricultural Statistical Service*
USFDA	*United States Food and Drug Administration*
USGS	*United States Geological Survey*

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Avant-propos

La lutte phytosanitaire constitue un des enjeux agronomiques du XXI^e^ siècle. Il faut en effet conjuguer le développement durable avec une agriculture de plus en plus productive pour répondre à la croissance démographique, tout en respectant les contraintes écologiques et environnementales.

Ce dernier demi-siècle d'utilisation intensive de produits phytosanitaires organiques de synthèse a engendré un essor considérable des productions agricoles et alimentaires. Toutefois, les désordres écologiques qui ont été constatés par la suite montrent l'urgence d'une réflexion globale sur la lutte phytosanitaire et la protection des cultures, englobant les pratiques du passé et actuelles, tout comme les approches alternatives, complémentaires et innovantes. Cette démarche s'inscrit dans le cadre du développement d'une agriculture intégrée, raisonnée ou biologique.

Cet ouvrage est un travail collectif de réflexion sur ces questions. Il a pu être réalisé grâce à l'adhésion de tous les auteurs qui s'y sont exprimés et qui ont été sensibles à l'idée qu'il fallait, en ce début de XXI^e^ siècle, procéder à un bilan analytique et synthétique de l'expérience acquise dans le domaine de la lutte phytosanitaire. Je les remercie vivement d'avoir apporté leur concours à l'entreprise que constitue ce livre.

Un ouvrage représente, pour un auteur scientifique, un espace de liberté délivré des contraintes éditoriales des périodiques spécialisés qui sont un passage obligé pour la reconnaissance par les pairs. C'est pourquoi une contribution dans un livre permet de présenter à la fois les points saillants d'une recherche ou d'une expérience d'homme de terrain et de nourrir une réflexion plus générale dans le domaine. Se composant de contributions de divers horizons, un tel ouvrage constitue une « partition à plusieurs voix ». Il permet d'exposer ainsi différents aspects et points

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

de vue sur une question d'actualité. Certains chapitres abordent, au cours de leur développement, des sujets qui, de prime abord, pourraient apparaître redondants avec d'autres contributions, mais qui sont en réalité traités sous des angles différents ou complémentaires. Nous avons souhaité garder cette diversité afin de permettre aux auteurs d'exprimer leurs sensibilités et donner matière au lecteur à se forger une opinion par lui-même. Néanmoins, écrivant dans le cadre de leurs activités scientifiques, les auteurs ont étayé leurs jugements par un argumentaire rigoureux.

Un autre élément a motivé notre démarche éditoriale. Aucun ouvrage francophone récent ne rassemble l'ensemble des différents aspects de la question phytosanitaire. Aussi nous sommes-nous proposés de rassembler les contributions de chercheurs et d'universitaires, d'experts et professionnels de la protection des végétaux afin de faire un état des lieux des travaux de recherche fondamentale et appliquée, et des diverses expériences et réflexions dans ce domaine. Tous les chapitres ont été rédigés en français par les auteurs. L'exercice n'est pas facile tant l'emploi de l'anglais dans la communauté scientifique est maintenant devenu incontournable. Or, au contraire de l'aphorisme bien connu, une langue ne s'use que si l'on ne s'en sert pas ! L'effort que tous les auteurs ont consenti en écrivant en français (et je remercie tout particulièrement les auteurs de langues maternelles anglaise, espagnole, arabe ou africaines qui ont pris part à cet ouvrage) s'inscrit résolument dans le cadre d'une mondialisation pluriculturelle, permettant ainsi de cultiver une diversité tout aussi nécessaire dans le domaine culturel que dans le domaine biologique.

Cet ouvrage doit beaucoup à mes amis et complices qui se sont joints à cette aventure éditoriale : Gérard Fabres, directeur de recherche honoraire de l'Institut de recherche pour le développement (IRD), qui a consacré les premiers instants de liberté que lui procurait son honorariat à l'harmonisation linguistique de l'ouvrage, et Bernard J.R. Philogène, professeur émérite de l'université d'Ottawa (Canada), qui a également participé activement à l'élaboration de ce livre et a contribué à lui donner une ouverture internationale. Ils m'ont épaulée par leur esprit critique, leurs solides cultures et rigueurs scientifiques. Ensemble, nous avons constitué un comité de lecture et d'harmonisation. Nous avons décortiqué les textes, les avons examinés à l'aune des avancées du domaine et de la littérature scientifique puis avons homogénéisé leur présentation. Le comité s'est réuni à plusieurs reprises, à Pau ainsi qu'à Ottawa, pour des séances de travail denses et génératrices d'échanges scientifiques ouverts et stimulants. Ces moments d'intense réflexion collective, à base d'érudition, d'humour et d'ouverture prospective, ont été des moments de bonheur intellectuel pour lesquels je les remercie sincèrement.

J'adresse également mes remerciements à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de cet ouvrage, par leur soutien et les encouragements qu'ils m'ont prodigués. Je remercie mes collègues et le secrétariat du Laboratoire d'écologie moléculaire (LEM, EA 3525) de l'université de Pau et des Pays de l'Adour, ainsi que les organismes et associations professionnelles : l'Association française de protection des plantes (AFPP) dont le président, M. Yves Monnet, a bien voulu rédiger

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

la préface de cet ouvrage ; l'Union des industries de la protection des plantes (UIPP) dont les plus hauts responsables ont participé, comme auteurs, à ce livre ; la Direction générale d'alimentation (DGAL) du ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche et des Affaires rurales (MAAPAR), qui s'est exprimée dans un chapitre. Je suis également redevable à Jean-Pierre Regnault, réviseur linguistique canadien, de m'avoir conseillée utilement.

Ce document n'aurait pas vu le jour, si les éditeurs Tec & Doc Lavoisier n'avaient souscrit à ce projet : je les remercie de l'intérêt qu'ils ont manifesté pour cette démarche et de la confiance qu'ils m'ont témoignée.

Enfin, je n'oublie pas sur la liste de ceux qui ont permis la réalisation de ce projet éditorial, mon époux, Henri Regnault, et mes enfants (Julien, Élise et Benjamin), qui ont accepté patiemment, pendant plusieurs mois, mon long face-à-face avec l'ordinateur. Je leur dédie ce livre.

Cet ouvrage intègre l'étude des pesticides organiques de synthèse, de leurs impacts toxicologiques et environnementaux, aussi bien que des méthodes alternatives ou innovantes de la lutte phytosanitaire, dans leurs dimensions scientifiques, économiques et réglementaires. Je souhaite qu'il constitue un outil utile pour les étudiants, enseignants, chercheurs et praticiens, et tous ceux qui s'intéressent, à travers la protection des végétaux et de l'environnement, à l'agriculture et au développement durables.

Catherine Regnault-Roger,
Pau (France)

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Introduction

Protection des cultures, environnement et développement durable : enjeux pour le XXI^e siècle

Bernard J.R. Philogène, Gérard Fabres, Catherine Regnault-Roger

Les problèmes de lutte phytosanitaire qui se posent à l'humanité en ce début du XXI^e siècle sont aussi nombreux et divers qu'ils ont pu l'être tout au long de l'histoire de l'agriculture des 12 000 dernières années. Il suffit de s'attarder sur les peintures des cavernes chinoises datant de 4 000 ans avant notre ère, les dessins rupestres du Tassili n'Ajjer dans le Sahara ou d'examiner des fresques et papyrus égyptiens datés de 2 300 ans avant J.-C. Les invasions des criquets migrateurs sont atemporelles et universelles, que ce soit dans l'Égypte de l'époque des pharaons, dans les états américains du sud de 1874 à 1876 (Howard, 1935) ou dans le Sahel. Elles sont récurrentes, comme celle qui a débuté à la fin de l'été 2004, et elles montrent toujours la même intensité destructrice. Ces exemples illustrent que la survie de l'espèce humaine est en grande partie fonction de sa capacité à protéger les végétaux essentiels à son alimentation, dans les champs ou après la récolte. La mise en œuvre, par les hommes du néolithique, de moyens pour mettre cette nourriture à l'abri des ravageurs phytophages, remonte, elle aussi, loin dans le temps puisque des fouilles archéologiques en font foi (Marinval, 1988).

La préservation des cultures et des récoltes s'inscrit comme « *un phénomène de compétition entre consommateurs au premier rang desquels s'affrontent l'Homme, l'Insecte et le Rongeur* » (Ferron, 1989). En effet, une part considérable de ce que l'agriculture produit est perdue du fait des animaux qui se développent aux dépens des plantes que l'homme cultive et des denrées qu'il entrepose. Ils deviennent ainsi des « ravageurs », concurrents de l'homme pour la consommation de la production végétale. Ce dernier a longtemps toléré (et les tolère encore dans certains pays) les pertes diverses, faute d'armes pour les combattre et habitué qu'il était à la

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

fatalité de récoltes faibles et très variables en quantité et en qualité. Très inventifs, nos prédécesseurs surent mettre à profit les connaissances de leur époque. L'avènement, au XIX^e siècle d'une agriculture spéculative et les progrès de l'agronomie ont amené à rechercher les moyens de réduire autant que possible les déprédations des insectes, acariens, nématodes, oiseaux et autres rongeurs.

Ainsi, la protection des cultures s'inscrit dans l'histoire de l'humanité et de l'agriculture. Son évolution est intimement liée à notre passé et sans doute orientera de manière décisive notre futur. Aussi est-il temps de dresser un bilan de la situation qui prévaut maintenant et d'avancer des propositions pour l'avenir.

1. Agriculture et protection des cultures : quelques points de repères

1.1. Modification des équilibres biocénotiques

La dépendance de l'humanité envers les plantes domestiquées est, comme nous le rappelle Dethier (1976), un phénomène indissociable des origines de l'agriculture. Très tôt dans l'histoire de l'agriculture, les plantes sont devenues une source incontournable de nourriture pour l'espèce polyphage que nous sommes. Mais en favorisant la domestication de certaines espèces végétales, l'homme a sélectionné des plantes qui, contrairement aux espèces non cultivées, ne sont plus en équilibre avec leurs ennemis phytophages naturels. Au fur et à mesure que l'homme a modifié son environnement, les nouvelles conditions du milieu ont favorisé la prolifération des organismes nuisibles, et contribué à compromettre gravement les récoltes.

Parmi les moyens mis en œuvre par les plantes pour se défendre contre leurs déprédateurs, les médiateurs chimiques jouent un rôle déterminant (Strebler, 1989). Feeny (cité par Strebler) suggère que l'évolution de ces défenses chimiques serait liée à des critères d'exposition de la plante, c'est-à-dire à sa visibilité. Les plantes cultivées qui dérivent de plantes sauvages « inapparentes » par un processus de sélection, sont, avec l'avènement des monocultures, devenues très « apparentes ». Cette visibilité, accompagnée d'un abandon des pratiques agricoles anciennes (assolements), augmente l'exposition des cultures à leurs ravageurs. Strebler (1989) souligne que la sélection de variétés à haut rendement « *s'accompagne souvent de l'abandon des caractéristiques morphologiques ou chimiques de la résistance* ». Ainsi, les plantes cultivées aujourd'hui ont plus que jamais besoin d'une protection (biologique ou chimique), procurée par l'homme, pour survivre et pour maintenir une production optimale. En effet, face aux bouleversements des révolutions industrielles et agricoles des XIX^e et XX^e siècles, de notre capacité à mieux contrôler les vecteurs des maladies, et de la mondialisation de l'économie et des échanges, l'expansion démographique fixe l'objectif d'une agriculture de plus en plus performante pour mieux satisfaire les besoins alimentaires de la population planétaire. Là où des interventions artisanales suffisaient, au tout début, à limiter les dégâts, il a fallu utiliser des moyens plus drastiques pour satisfaire des besoins alimentaires,

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

de plus en plus importants. Comme l'a si bien écrit Dethier (1976) : « *l'agriculture est un phénomène artificiel qui avance selon la culture humaine à l'intérieur d'une parade qui défile aux accents d'un air biologique.* »

1.2. Du manuel au chimique

À chaque époque, la protection des cultures met en œuvre des moyens technologiques représentatifs des avancées scientifiques du moment. Les dégâts provoqués par les rongeurs et les insectes, phytoravageurs facilement identifiés, ont très tôt suscité des initiatives et actions de prévention : obstacles mécaniques, appâts empoisonnés pour les premiers. Pour les seconds, jusqu'au milieu du XIX^{e} siècle, la lutte se faisait essentiellement par intervention manuelle : lavage, lessivage ou destruction des parties végétales infestées, utilisation de décoctions de plantes pour l'assainissement des locaux, ramassage des ravageurs au cours de séances de « hannetonnage ». Des pièges, puis des substances chimiques d'origine minérale (arséniates) ou extraites de plantes (nicotine), ainsi que des variétés et des porte-greffe résistants, comme ce fut le cas en France pour lutter contre le Phylloxéra, puceron ravageur du vignoble, ont été également utilisés à cette époque (Balachowsky, 1951).

Au cours du XX^{e} siècle, avec la mécanisation de l'agriculture, les mains ont été remplacées par des appareils de plus en plus sophistiqués fixés sur les tracteurs, comme le soulignent ces deux exemples :

– le désherbage des adventices, se fait par traitement électromagnétique ou électrocution (Vigneault et Benoît, 2000) ;

– la collecte d'insectes : le Coléoptère *Leptinotarsa decemlineata* (doryphore) ou l'aleurode *Bemisia tabaci* sont décrochés du feuillage des plants de pomme de terre par de puissants systèmes pneumatiques (Lacasse *et al.*, 2000 ; Weintraub et Horowitz, 2000).

Un recensement des méthodes physiques contre les ravageurs des cultures et des denrées stockées montre que ces techniques peuvent constituer un appoint précieux pour le contrôle de bio-agresseurs (chapitre 39) mais que leur efficacité, dans les stratégies de lutte intégrée, suppose une connaissance des limites physiologiques des insectes ciblés (chapitre 38).

L'apparition sur le marché, au milieu du XX^{e} siècle, de produits chimiques, abondants et efficaces contre les ravageurs, a ouvert la porte à la mise en place de méthodes d'éradication des nuisibles sur une grande échelle (Casida et Quistad, 1998). C'est la belle époque des pesticides organiques de synthèse parmi lesquels les insecticides occupent une place de choix.

L'importance de ces produits, qui ont contribué à la révolution agricole de la deuxième moitié du XX^{e} siècle, nous a conduits à leur consacrer la première partie de l'ouvrage. Cinq chapitres examinent les propriétés phytopharmaceutiques des différentes catégories de pesticides, leurs modes d'action, leur réactivité et leur évolution. Les insecticides (chapitre 1) ont été développés très tôt, sans doute parce que la nuisance d'un certain nombre d'espèces d'insectes (ces derniers représentent

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

80 % des espèces animales), est plus facilement perceptible. Le rôle des champignons phytopathogènes, des nématodes phytoparasites, et des adventices dans les champs cultivés n'est pas de moindre importance et nécessite l'utilisation de fongicides (chapitre 2), de nématicides (chapitre 4) et d'herbicides (chapitre 3), ces derniers représentant la moitié des ventes de pesticides du marché mondial (chapitre 40). Depuis peu, une autre catégorie de composés intervient dans la protection phytosanitaire : les régulateurs de croissance, qui, auparavant, étaient utilisés pour leurs seules propriétés hormonales (chapitre 5).

Le bilan de ces chapitres démontre que si les pesticides organiques de synthèse sont encore aujourd'hui une pierre angulaire de la protection des cultures, une prise de conscience s'est opérée pour les utiliser en moins grande quantité et à bon escient ainsi qu'en témoignent les ventes de produits phytosanitaires ces dernières années (chapitre 40). En effet, l'utilisation intensive et sans discernement de ces pesticides a conduit à des effets non intentionnels qui ont créé différents désordres environnementaux.

1.3. Impact environnemental des pesticides organiques de synthèse

Au début des années soixante, l'intervention de Rachel Carson (1962) a fait prendre conscience des effets pervers des pesticides de synthèse et a obligé les gouvernements à se préoccuper des problèmes de l'environnement associés à l'utilisation des pesticides.

Il aura fallu moins d'un demi-siècle pour que les insectes phytophages s'attaquant aux plantes cultivées, et les insectes vecteurs de maladies, fassent une démonstration darwinienne de leur capacité à résister à la pression des pesticides. Une grande variété de formulations de produits inorganiques ou organiques (organochlorés, organophosphorés, carbamates), et même certains dérivés d'insecticides d'origine végétale (pyréthrinoïdes), ont contribué à la sélection d'espèces résistantes et doivent être utilisées à des concentrations de plus en plus fortes. Entre 1948 et 1990, le nombre des cas de résistance chez les insectes est en constante progression : 14 espèces en 1948, 224 en 1969 et plus de 500 en 1990 (Mouchès *et al.*, 1990).

Cette capacité des insectes à résister à la toxicité des insecticides de synthèse est une conséquence logique de l'incessante co-évolution des êtres vivants et, dans ce cas précis, des mécanismes de co-adaptation entre les plantes et les organismes qui se développent à leurs dépens. Ainsi, pendant des millions d'années, un demi-million d'insectes phytophages ont réussi à se maintenir sur un quart de million de plantes diverses, sous tous les climats. Alcaloïdes, substances phénoliques et autres terpènes n'ont pas réussi à éliminer les Lépidoptères, Coléoptères et autres Hémiptères qui se sont révélés capables de détoxifier et même d'exploiter ces substances pour s'en prémunir. En fait, ces composés phytochimiques biosynthétisés ont tout simplement préparé les insectes phytophages, par le jeu de la sélection naturelle, à contrecarrer l'action des produits synthétiques du XX^{e} siècle (Philogène, 1972 ; Philogène et Arnason, 1996).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Les phénomènes de résistance des insectes aux insecticides organiques de synthèse ont conduit à utiliser des concentrations de plus en plus fortes de substances actives pour obtenir des résultats similaires à ceux du passé. Cette augmentation s'est révélée source de plusieurs désordres écologiques qui ont été qualifiés d'« effets 4R » pour résistance, rémanence, résurgence et rupture des chaînes trophiques (Regnault-Roger, 2002). La biodégradabilité des pesticides est variable d'un composé à l'autre. Les premiers utilisés, les organochlorés, sont particulièrement rémanents dans la biosphère et leur diffusion à travers ses différents compartiments (chapitre 6) va provoquer des contaminations qui ne sont pas sans conséquence. Les risques provoqués par l'accumulation de leurs résidus se sont accrus : fragilisation des écosystèmes, impact sur la reproduction (particulièrement pour les espèces qui sont en haut de la pyramide alimentaire) ainsi que sur la santé humaine (chapitres 7 et 11). Ces effets non intentionnels touchent également les insectes auxiliaires (chapitre 10). Les phénomènes de résistance aux insecticides observés chez les insectes (chapitre 9) sont également apparus chez les champignons, vis-à-vis des fongicides (chapitre 2) mais aussi chez les adventices pour les herbicides (chapitre 8). C'est donc l'ensemble de la biocénose qui est affectée.

1.4. Mise en œuvre d'une surveillance de plus en plus performante

Face aux désordres écologiques constatés, il était urgent de développer des méthodes de contrôle et de surveillance de l'emploi de ces pesticides organiques de synthèse. L'analyse chimique est utilisée depuis fort longtemps et a permis de fixer des seuils au-delà desquels les contaminations des milieux allaient se révéler préjudiciables aux biocénoses. Les progrès réalisés dans les méthodes d'extraction et l'abaissement des seuils d'identification des pesticides, par des méthodes et appareillages de plus en plus performants, contribuent à une meilleure appréciation du niveau réel de ces pollutions (chapitre 12). Toutefois, la détection d'un résidu pesticide, ou plus généralement d'un polluant dans un écosystème, ne signifie pas que la concentration observée va affecter les organismes qui y sont présents. De nombreux facteurs interfèrent avec la biodisponibilité de ces éléments et leur réactivité vis-à-vis des êtres vivants. Aussi pour connaître l'impact réel des contaminations provoquées par les pesticides sur les organismes est-il indispensable de recourir aux biomoniteurs qui mettent en évidence les conséquences de la présence des résidus de pesticides. Cette surveillance biologique est en pleine expansion et démontre la réalité de l'incidence des contaminants présents sur les espèces (chapitre 13). Méthode de veille, elle n'est pas prédictive et il est nécessaire d'utiliser une autre approche pour prévoir et prévenir les dégâts provoqués par les bio-agresseurs. À ce niveau, la modélisation est un instrument précieux dont il convient cependant d'apprécier les limites (chapitre 14).

Ce sont donc 14 chapitres de cet ouvrage qui vont brosser un bilan de l'utilisation des pesticides organiques de synthèse, de leurs succès et des limites de leur emploi, dans le cadre d'un développement durable.

© Lavoisier - La photocopie non autorisée est un délit

L'âge d'or des pesticides de synthèse n'aura duré qu'un demi-siècle. Devant les besoins de plus en plus grands d'une population mondiale en croissance exponentielle et les nécessités de développer une agriculture performante qui nourrisse l'humanité entière, préserve l'environnement et l'équilibre des biocénoses, il est plus que jamais nécessaire d'identifier de nouvelles alternatives pour la protection des cultures du XXI^{e} siècle contre les déprédations des arthropodes, des nématodes, des rongeurs, des micro-organismes et autres pestes, ainsi que contre les effets négatifs des mauvaises herbes sur la production agricole.

2. *Développement durable*

Après la prise de conscience des années soixante sur les effets pervers d'une utilisation massive des pesticides organiques de synthèse, il a tout de même fallu attendre 1987 pour que la Commission mondiale sur l'environnement et le développement (Organisation des nations unies) présidée par Mme Brundtland, premier ministre de Norvège, avance la notion de « développement durable ». Le développement durable est celui qui « *répond aux besoins du présent sans compromettre la capacité des générations futures à satisfaire les leurs* ». Cette définition a aussi été reprise dans l'article 2 du traité de Maastricht de l'Union européenne (UE). Sa formalisation par la conférence de Rio (1992) s'est accompagnée d'un cortège de règlements qui concernent, au niveau européen, les exigences réglementaires pour les autorisations de mise sur le marché des produits phytosanitaires, l'eau potable et des mesures agri-environnementales (Séverin, 2003).

La notion de développement durable rassemble autour d'elle un large consensus puisqu'elle suppose la prise en considération de la protection de l'environnement, dans le cadre d'un développement économique moins consommateur de ressources, plus équitable et soucieux du long terme (Viaux, 2003). Pour être durable et soutenable, le développement doit être écologiquement sain, socialement équitable, et économiquement viable.

Si la dimension économique est facilement évaluable, les dimensions sociales et écologiques sont plus difficiles à cerner. La dimension sociale est certainement la plus floue car elle concerne autant la vie citoyenne qui régit les rapports humains dans la société que la qualité de la vie à laquelle participe la qualité des produits commercialisés. Les résidus des pesticides dans les produits alimentaires en font donc partie. La dimension écologique prend en compte la préservation des ressources naturelles, la qualité de l'air ou de l'eau, la diversité biologique. Au niveau de l'agriculture, des outils de diagnostic de durabilité, basés sur des indicateurs pluridisciplinaires, sont en cours d'évaluation. Ils prennent en compte les ressources génétiques et la diversité biologique, les pratiques agricoles (facteur pesticide), ainsi que l'organisation spatiale du milieu (Viaux, 2003 ; Devillers *et al.*, 2005). Les méthodes utilisées dans la protection des cultures sont, par conséquent, en prise directe avec ces préoccupations, et les effets non intentionnels des pesticides

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

organiques de synthèse soulignent qu'il est urgent de proposer des solutions alternatives « écologiquement saines ».

3. *Stratégies alternatives*

La lutte phytosanitaire est un des éléments de la production agricole et forestière dont les conséquences sont fonction d'un ensemble complexe d'interventions à plusieurs niveaux : scientifique, agronomique, social et économique.

Dès lors, pour intégrer cette démarche dans le cadre du développement durable, plusieurs questions se posent :

– de quels moyens dispose-t-on actuellement pour assurer une production alimentaire ou une production ligneuse satisfaisantes ?

– quelle sera la place des pesticides organiques de synthèse dont le bannissement total et immédiat n'est pas envisageable, malgré les problèmes connus et prévisibles qu'ils posent ?

– comment promouvoir l'utilisation et l'intégration des molécules allélochimiques dans les moyens de défense de la plante ?

– comment rendre plus performante une approche agro-biologique de la protection des cultures ?

– quelle place donner à la lutte biologique classique et à ses dimensions plus moléculaire et génétique ?

– quel sera l'impact économique de ces nouvelles stratégies dans un contexte de réglementation de plus en plus exigeant ?

Ces questions sont le résultat d'observations sur la réalité de l'agriculture actuelle. Plusieurs approches tentent de répondre à ces préoccupations.

3.1. Une approche intégrée et raisonnée sous tous les climats

Il est patent aujourd'hui que les pesticides de synthèse (insecticides, fongicides, herbicides, nématicides, rodenticides) continuent à assurer une protection efficace et économiquement abordable. Selon le *National Research Council* (NRC) des États-Unis, qui a entrepris une étude exhaustive de la question, il n'y aurait aucune justification à complètement abandonner les produits chimiques comme outils de lutte contre les organismes nuisibles. Il faut donc s'attendre à voir les pesticides de synthèse continuer à être utilisés pour le maintien de la production alimentaire des pays du nord et du sud, à un coût acceptable. Cet usage continuera inévitablement de s'accompagner de problèmes de contamination de l'environnement, de résistances des organismes à l'action des produits de synthèse, et de risque d'intoxication des populations humaines, à court ou à long terme. Aussi, les scientifiques qui arrivent à cette conclusion ne peuvent s'empêcher d'ajouter qu'il doit y avoir un effort concerté, à la fois en recherche et en politique, pour augmenter la compétitivité des méthodes alternatives et leur donner une meilleure place (NRC, 2000).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

En effet, l'évolution des découvertes, depuis l'avènement du DDT (dichlorodiphényltrichloroéthane) indique que les chercheurs sont déjà en mesure de proposer des solutions alternatives en ce début du XXIe siècle. Contrairement à l'usage des pesticides tel qu'il était pratiqué au cours du siècle dernier, les méthodes alternatives ne se réclament pas de l'exclusivité pour assurer le contrôle des bio-agresseurs. Elles n'ont que la prétention de réduire la pression de ces derniers et font systématiquement référence à la mise en œuvre conjuguée de plusieurs méthodes de nature différente. Cette approche dite « intégrée » sera illustrée par huit chapitres qui débutent la seconde partie de l'ouvrage (chapitres 15 à 21).

Une réflexion approfondie précise les points à prendre en compte pour une agriculture durable tant au niveau du contrôle des nuisibles, de la gestion des populations et de leurs habitats, que de la biodiversité (chapitre 15). Les lignes-force de ce propos sont illustrées par des exemples de gestion des populations d'insectes piqueurs-suceurs (chapitre 16), de rongeurs non commensaux (chapitre 17), d'adventices (chapitre 18) ou de plantes parasites (chapitre 19).

Dans les pays en développement, l'agriculture reste l'activité économique la plus importante. C'est sur les cultures de rente (café, cacao, coton), les grandes cultures de plein champ (céréales) ou les vergers (olivier, agrumes) que se fait la plus grande utilisation de pesticides de synthèse. L'utilisation des insecticides y est plus répandue, ces produits ayant un effet plus direct sur les rendements escomptés. Mais, pour le petit producteur, les méthodes traditionnelles restent la façon la plus commune de lutter contre les déprédateurs (Abate *et al.*, 2000). Le paysan pratique donc une agriculture plus apte à se conformer aux stratégies agrobiologiques du XXIe siècle, pour autant qu'il puisse recevoir une juste compensation monétaire pour ce qu'il produit. Deux chapitres, correspondant à des études de cas (chapitres 20 et 21), mettent l'accent sur cette approche originale qui illustre bien que certaines méthodes alternatives relèvent d'usages ancestraux.

3.2. Approches microbiologiques et entomophages

L'utilisation d'autres organismes biologiques pour le contrôle des nuisibles s'inscrit dans la nuit des temps : n'est-ce pas là le principe du chat qui protège les habitations des souris ? Il s'agit de la lutte biologique dite « classique », celle dont DeBach dit qu'elle est « *si intellectuellement satisfaisante, si biologiquement mystérieuse et si écologiquement rationnelle* » (DeBach, 1974).

En matière de protection des cultures, l'utilisation d'organismes arthropodes parasitoïdes ou prédateurs, et de micro-organismes pour le contrôle des bio-agresseurs s'effectue maintenant depuis plusieurs décennies (chapitre 22). L'exemple de la lutte biologique en serre est très illustratif du propos (chapitre 28). Mais l'introduction d'auxiliaires entomophages dans de nouveaux milieux n'est cependant pas sans risque (chapitre 24) et nécessite un suivi rigoureux qui permet d'en tirer les leçons pour de futures luttes (chapitre 23).

Les micro-organismes ont connu un très large succès au cours des dernières décennies. Le bacille de Thuringe (*Bacillus thuringiensis* ou *Bt*), dans différentes

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

formulations, est la « *star* » de cette forme de lutte phytosanitaire (chapitre 25). Elle représente près de 90 % des ventes de biopesticides à base de micro-organismes (chapitre 41). À côté des bactéries et des communautés microbiennes qui jouent un rôle dans le contrôle des maladies d'origine tellurique (chapitre 26), les virus entomopathogènes sont également utilisés contre les insectes nuisibles, mais le plus souvent sur une petite échelle (chapitre 27). Une évolution très nette en faveur de cette forme de lutte est cependant observée au cours des dernières décennies. En Amérique du Nord où les mauvaises herbes sont le problème phytosanitaire le plus important (Newsome, 1979), le coût de la main-d'œuvre et la mécanisation extensive des systèmes de production agricole ont favorisé l'utilisation des herbicides. Le désherbage fait maintenant souvent appel à la lutte biologique, l'introduction, à cette fin, d'insectes phytophages, étant plus répandue. Ce genre d'intervention représente cependant un faible pourcentage de l'élimination des mauvaises herbes (McFayden, 1998).

La lutte phytosanitaire fondée sur l'utilisation des organismes auxiliaires, microbiologiques et entomophages, a longtemps été considérée comme la seule approche biologique de la protection des cultures. Elle est souvent désignée sous le vocable de « lutte biologique classique ». Il existe toutefois d'autres approches alternatives, tout aussi biologiques, qui mettent en jeu l'utilisation d'organismes et produits biologiques : les méthodes basées sur l'utilisation de composés sémiochimiques ou d'OGM (Organismes génétiquement modifiés) par exemple. Pour cette dernière, il convient d'apprécier dans quelle mesure on peut la considérer comme une méthode « bio » compte-tenu des incertitudes qui y sont attachées (*cf.* 3.4.). Si le terme de biopesticide a maintenant été élargi (chapitre 41), on a toujours tendance à réserver le terme de « lutte biologique » à la seule utilisation d'auxiliaires du monde microbiologique ou du monde animal (parasites ou prédateurs).

3.3. Approches sémiochimiques

Si l'on considère la définition scientifique des composés sémiochimiques, il existe deux catégories de médiateurs chimiques qui sont impliqués dans les relations intra- et interspécifiques (au sein d'une même espèce ou entre des espèces différentes) : les phéromones et les composés allélochimiques (Strebler,1989). Les phéromones ont été abondamment étudiées chez les insectes et les molécules allélochimiques chez les plantes où elles sont en abondance. Aussi, dans un pan de plus en plus large de la littérature anglo-saxonne, on définit comme lutte sémiochimique la forme de lutte basée sur le seul emploi de phéromones (*semiochemicals*) tandis que les composés allélochimiques sont qualifiés de « *botanicals* » (Schoonoven, 1990 ; Arnason *et al.*, 1992). Toutefois, si on se réfère à la définition donnée par l'OCDE (Organisation de coopération et développement économique) qui prend en compte le concept scientifique dans sa globalité, la lutte sémiochimique recouvre l'utilisation de tout composé chimique émis par les plantes, animaux et autres organismes, ainsi que des analogues synthétiques, qui modifient la physiologie ou le comportement d'individus d'une même espèce ou d'espèces

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

différentes (chapitre 29). C'est pourquoi, nous prendrons en considération, sous le vocable de « stratégie sémiochimique », les composés allélochimiques aussi bien que phéromonaux.

Bien que les composés allélochimiques ne soient pas biosynthétisés par les seuls végétaux, c'est certainement dans les plantes qu'on en trouve la plus grande diversité. Ces molécules, de structures chimiques très variées, jouent plusieurs rôles dans la protection du végétal (chapitre 29). Dans un ouvrage précédent (Regnault-Roger *et al.*, 2002), il a été fait état des possibilités offertes par les biopesticides d'origine végétale dans la lutte contre les insectes, les mauvaises herbes et les nématodes. En dehors du pyrèthre et de ses dérivés, de la roténone et, dans certains pays, des différentes formulations d'extraits du « neem » (*Azadirachta indica*), les biopesticides d'origine végétale n'occupent pas encore la place qu'ils devraient avoir dans une agriculture plus respectueuse de l'environnement. Toutefois, des développements récents, notamment en matière de stimulation des défenses naturelles des plantes, dans lesquelles sont impliquées de nombreuses molécules allélochimiques, pourraient ouvrir de nouvelles perspectives de l'utilisation de ces composés en phytoprotection (chapitre 30).

Les phéromones peuvent réduire considérablement le potentiel de multiplication des insectes phytophages, et il a été souligné que « *l'importance des informations olfactives dans la localisation des plantes-hôtes et dans la rencontre des partenaires sexuels suggère que les efforts de la recherche scientifique dans le domaine de l'olfaction et de la chimiosensibilité des insectes pourraient conduire à de considérables potentialités écologiques et économiques.* » (Picimbon, 2002). Les phéromones sont utilisées dans les programmes de lutte intégrée pour mieux prévoir les infestations, et sont considérées jusqu'à présent comme des molécules sans effets néfastes pour les organismes non visés. Elles sont d'ailleurs classées par l'EPA (*Environmental Protection Agency*) des États-Unis, comme des pesticides biochimiques car ce sont des produits phytosanitaires qui, par eux-mêmes, ne tuent pas les insectes (chapitre 41). Placées dans différents types de pièges, elles modifient le comportement des congénères de la population, limitant le renouvellement des générations selon différents modes d'action soumis à de nombreux paramètres (chapitres 31 et 32). Cette forme de lutte sémiochimique pourrait aussi trouver des applications dans l'étude du polymorphisme des populations en mettant en évidence des variabilités phéromonales (chapitre 33).

3.4. Approches génétiques

Les développements de la génétique et de la biologie moléculaire ont permis des interventions efficaces dans le domaine de la résistance des plantes aux phytophages.

La génomique met en évidence des QTL *(quantitative trait loci)* sur les gènes impliqués dans la résistance aux pathogènes. L'étude du chevauchement de ces QTL avec ceux qui sont impliqués dans la biosynthèse de molécules d'intérêt permet de sélectionner des variétés plus résistantes aux maladies (chapitres 35 et 30).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Le génie génétique, qui autorise la modification du génome d'un organisme par l'introduction de gènes provenant d'un autre organisme (chapitre 34), peut conduire à la biosynthèse de molécules provoquant la résistance des plantes à des herbicides ou à des insectes, ce qui était impensable il y a tout juste une trentaine d'années. Le *Bt* est utilisé par le génie génétique pour rendre des plantes cultivées plus résistantes aux insectes phytophages, ce qui montre bien que l'utilisation d'OGM pourrait s'inscrire dans le cadre d'une lutte alternative. Mais l'avènement des OGM, qui a ouvert un nouveau chapitre pour la production agricole, est tout à la fois porteur d'espoir et d'inquiétude. Les esprits se sont rapidement polarisés, ce qui a trop vite occulté les bénéfices potentiels à retirer de cette nouvelle technologie (Rissler et Mellon, 1996). Aujourd'hui, il est plus que jamais d'une grande importance de réaliser des études scientifiques rigoureuses et impartiales pour examiner les risques non intentionnels des transferts de gènes de plante à plante (chapitre 36) et s'il existe des effets non intentionnels des OGM sur les insectes auxiliaires comme l'abeille (chapitre 37). C'est à ce prix que nous pourrons juger si cette nouvelle approche phytosanitaire correspond à la philosophie du développement durable dans sa dimension « écologiquement saine ».

4. *Dimensions économiques et réglementaires des enjeux phytosanitaires*

Il y a déjà 40 ans, Rudd (1964) écrivait qu'à quelques exceptions, les limites biologiques et législatives associées à l'utilisation de produits chimiques n'étaient pas fondées seulement sur les risques chimiques, et que des dimensions biologiques, sociales et économiques, devaient être prises en considération. Ce sont finalement les politiques des gouvernements et des instances internationales qui influencent les orientations que prennent les activités agricoles et forestières.

Aussi est-il paru important d'examiner les aspects économiques et commerciaux au présent et dans leurs perspectives. L'Union des industries de la protection de plantes (UIPP), par l'intermédiaire de ses plus hauts responsables, a analysé l'évolution de la consommation des pesticides organiques de synthèse dans le monde, en Europe et en France : on peut y constater que les industriels du secteur de l'agrochimie sont, plus que jamais, des partenaires incontournables et responsabilisés au développement durable (chapitre 40).

Simultanément, les instances internationales (EPA, UE, OMS – Organisation mondiale pour la santé – et FAO – *Food and Agriculture Organization)* ont préconisé des mesures de plus en plus restrictives pour éliminer les molécules les plus problématiques, ou en limiter l'utilisation. C'est pourquoi il est important de se demander si les biopesticides ont un avenir commercial (chapitre 41) et si les OGM constituent une alternative tant dans leurs aspects agro-économiques (chapitre 43) que dans la circulation mondiale de ces produits (chapitre 44). Le développement de nouveaux produits, notamment biopesticides, peut d'ailleurs se révéler un processus complexe dans lequel les objectifs visés initialement sont dépassés par la

© Lavoisier - La photocopie non autorisée est un délit

découverte de propriétés plus performantes de la substance active étudiée (chapitre 42).

La prise de conscience de la nécessaire rénovation des pratiques phytosanitaires pour une agriculture durable est également la préoccupation des autorités qui officient au niveau législatif et réglementaire. Depuis plusieurs années, dans les pays développés, un toilettage de l'homologation des substances phytopharmaceutiques a été entrepris, notamment en Europe et au Canada (chapitre 46). Dans l'Union européenne, la directive 91/414/CEE a enclenché un mouvement qui va restreindre drastiquement le nombre de molécules qui circuleront désormais sur son territoire : selon les prévisions, seules 40 % des substances actives devraient être homologuées au terme du processus qui s'achèvera en 2007-2008 (chapitres 40 et 12). Les règles de l'homologation des substances phytosanitaires ainsi que les orientations du ministère français de l'Agriculture sont rappelées dans le chapitre 46. Cette vigilance s'applique tout aussi bien aux nouvelles approches qui ne sont pas concernées par cette réglementation : ainsi les OGM font-ils l'objet de réseaux de biovigilance dans plusieurs pays européens (chapitre 45).

Conclusion

Les décisions agricoles prises au cours du XX^{e} siècle et les habitudes alimentaires qui se sont développées et répandues au cours de la même période, ont conduit l'humanité à une dépendance fragile fondée sur une vingtaine de denrées au sommet desquelles on trouve les céréales (blé, riz, maïs). Toutes ces espèces végétales ont fait l'objet de sélections poussées. Elles sont pour certaines très sensibles aux attaques des arthropodes phytophages ou de micro-organismes, tout autant dévastateurs, de plus en plus adaptés aux nouvelles conditions environnementales et résistants aux pesticides classiques. Ces dégâts se manifestent tant dans les champs cultivés que pendant l'entreposage, et sont susceptibles d'affecter les rendements financiers.

Le développement et l'utilisation de méthodes de lutte alternatives n'ont pas attendu l'interdiction des organochlorés et autres DDT. Lutte biologique, méthodes culturales, utilisation de produits naturels d'origine végétale font partie des stratégies de lutte phytosanitaire depuis des siècles. L'importance qu'on a pu leur donner a varié selon les régions et les circonstances. Toutefois, aucune de ces méthodes n'a encore pu remplacer la lutte chimique *stricto sensu*, en tout cas pas dans les monocultures céréalières ou les cultures industrielles comme le coton. Elles n'ont pas davantage été en mesure de permettre une production agricole intensive et à un coût comparable à ce qui est réalisable avec des pesticides de synthèse. Toutefois, il existe maintenant un nombre important de stratégies alternatives susceptibles de promouvoir une agriculture durable : la lutte biologique s'est en effet avérée efficace contre des arthropodes phytophages ou des mauvaises herbes envahissantes dans des situations géographiques particulières et l'utilisation de variétés résistantes de plantes cultivées est aujourd'hui un élément incontournable de la lutte intégrée.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Cependant, si l'on veut envisager de faire une place plus importante aux méthodes de lutte phytosanitaire dites « douces », il va falloir en accepter le prix, de plus en plus élevé, pour se nourrir au quotidien, que ce soit dans les pays développés ou dans les pays en développement, dans lesquels des millions d'individus sont souvent confrontés à la famine. Mais seules ces méthodes phytosanitaires alternatives peuvent effectivement réduire les pollutions des différentes composantes de l'environnement et les risques pour la santé humaine, et ainsi inscrire l'agriculture dans le développement durable.

Références bibliographiques

Abate T., van Huis A., Ampofo J.K.O. (2000). Pest management strategies in traditional agriculture: an African perspective. *Annu Rev Entomol*, **45** : 631-659.

Arnason J.T., MacKinnon S., Durst A., Philogène B.J.R., Hasbun C., Sanchez P., Poveda L., San Roman L., Isman M.B., Satasook C., Towers G.H.N., Wiriyachitra P., McLaughlin J.L. (1992). Insecticides in tropical plants with non-neurotoxic modes of action. *In* Downum K.R., Romeo J.T., Stafford H.A., *Phytochemical potential of tropical palnts.* Recent Advances in phytochemistry, Vol 27, Plenum Press, New-York.

Balachowsky A.S. (1951). *La lutte contre les insectes.* Payot, Paris.

Bull D. (1982). *A growing problem. Pesticides and the third world poor.* OXFAM, Oxford.

Carson R. (1962). *Printemps silencieux.* Plon, Paris.

Casida J.E., Quistad G.B. (1998). Golden age of insecticide research. *Annu Rev Entomol*, **43** : 1-16.

DeBach P. (1974). *Biological Control by natural enemies.* Cambridge University Press, Cambridge.

Dethier V.G. (1976). *Man's plague. Insects and Agriculture.* The Darwin Press. Princeton, N.J.

Devillers J., Farret R., Girardin P., Rivière J.-L., Soulas G. (2005). *Indicateurs pour évaluer les risques liés à l'utilisation des pesticides.* Lavoisier Tec & Doc, Paris.

Ferron P. (1989) . Préface. *In* Riba G. et Silvy C., *Combattre les ravageurs des cultures,* INRA, Paris.

Howard L.O. (1935). *La menace des Insectes (The Insect Menace).* Flammarion, Paris.

Lacasse B., Laguë C., Roy P.M., Khelifi M., Bourassa S., Cloutier C. (2000). Contrôle pneumatique du doryphore de la pomme de terre. *In* Vincent C., Panneton B., Fleurat-Lessard F., *La lutte en phytoprotection*, INRA, Paris, 301-314.

McFayden R.E.C. (1998). Biological control of weeds. *Annu Rev Entomol*, **43** : 369-393.

Marinval P. (1988). *L'alimentation végétale en France du mésolithique jusqu'à l'âge de fer.* Éditions du CNRS, Paris.

Mouchès C., Pauplin Y., Agarwal M., Lemieux L., Herzog M., Abadon M., Beyssat-Arnaouty V., Hyrien O., Robert de Saint Vincent B., Georghiou G.P., Pasteur N. (1990). Characterization of amplification core and estérase B1 gene responsible for insecticide resistance in *Culex. Proc Natl Acad Sci USA*, **87** : 2574-2578.

Newsome L.D. (1979). Role of pesticides in pest management systems. *In* Sheets TJ, Oimentel D., *Pesticides. Contemporary roles in agriculture, health, and environment.* Humana Press, Princeton, N.J., 151-173.

NRC (2000). *The future role of pesticides in US agriculture.* Committee on the furture role of pesticides in US agriculture. National Research Council, National Academy Press, Washington, D.C.

Philogène B.J.R. (1972). Physiological studies and pest control. *BioScience*, **22** : 715-718.

Philogène B.J.R., Arnason J.T. (1996), Pesticide alternatives for insects in tropics. *Forum for Applied Research and Public Policy*, **11** : 81-84.

Picimbon J.-F. (2002). Protéines liant les odeurs (OBP) et protéines chimiosensorielles (CSP) : cibles moléculaires de la lutte intégrée. *In* Regnault-Roger C., Philogène B.J.R., Vincent C., *Biopesticides d'origine végétale.* Lavoisier Tec & Doc, Paris, 265-283.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Regnault-Roger C. (2002). De nouveaux phyto-insecticides pour le troisième millénaire ? *In* Regnault-Roger C., Philogène B.J.R., Vincent C., *Biopesticides d'origine végétale*. Lavoisier Tec & Doc, Paris, 19-40.

Regnault-Roger C., Philogène B.J.R., Vincent C. (2002). *Biopesticides d'origine végétale*. Lavoisier Tec & Doc, Paris.

Rissler J., Mellon M. (1996). *The ecological risks of engineered crops*. The MIT press. Cambridge, Mass.

Rudd R.L. (1964). *Pesticides and the living landscape*. The University of Wisconsin Press, Madison.

Schoonhoven L.M. (1990). Insects in a chemical world. *In* Morgan E., Bhushan Mandava N., *Handbook of Natural pesticides. Insect attractants and repellents*. CRC Press, Vol 6, Boca Raton, Florida.

Séverin F. (2003). Pour une meilleure transparence : les enjeux et les attentes d'un dialogue vrai ou durable. *In* ACTA, *Pesticides et protection phytosanitaires dans une agriculture en mouvement*. Éditions Acta, Paris, 885-895.

Strebler G. (1989). *Les médiateurs chimiques*. Lavoisier Tec & Doc, Paris.

Viaux P. (2003). Agriculture durable : de l'agronomie à l'économie. *In* AFPP – *7e conférence internationale sur les maladies de plantes* (CD Rom), Tours, France.

Vigneault C., Benoît D.L. (2000). Électrocution des mauvaises herbes : théories et applications. *In* Vincent C., Panneton B., Fleurat-Lessard F., *La lutte en phytoprotection*, INRA, Paris, 183-198.

Weintraub P.G., Horowitz A.R. (2000). Lutte contre les insectes ravageurs à l'aide d'aspirateurs : l'expérience israélienne. *In* Vincent C., Panneton B., Fleurat-Lessard F., *La lutte en phytoprotection*, INRA, Paris, 315-324.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Partie 1

Les pesticides organiques de synthèse

sous la direction
de Bernard J.R. Philogène
et Catherine Regnault-Roger

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Section 1

Activités phytopharmaceutiques

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1

Évolution des insecticides organiques de synthèse

Catherine Regnault-Roger,
Bernard J.R. Philogène

L'avènement des insecticides organiques de synthèse est généralement associé à la découverte des propriétés insecticides du DDT (dichlorodiphényltrichloroéthane) en 1939 par Müller dans les laboratoires de la société Geigy à Bâle, soit 60 ans après qu'il eut été synthétisé par le strasbourgeois Zeidler. L'utilisation de ce produit au cours de la Seconde Guerre mondiale (1939-1945) par l'armée américaine, et son succès éclatant contre le typhus pendant le siège de Naples en 1943, allait donner un essor remarquable à la recherche de nouveaux insecticides de synthèse dès l'armistice de 1945. Ainsi, la deuxième moitié du XX^{e} siècle a été marquée par l'utilisation de plusieurs familles chimiques d'insecticides organiques de synthèse qui a considérablement changé l'agriculture et amélioré l'état sanitaire de la population mondiale en permettant une lutte contre les insectes vecteurs de maladies humaines ou animales. Ces composés furent dès lors employés comme la panacée aux nombreux problèmes de protection des cultures et de santé publique, c'est-à-dire sans beaucoup de discernement et de façon intensive. Mais dès les années 60, il fut constaté que certains d'entre eux occasionnaient des perturbations physiologiques et environnementales (*cf.* chapitres 7, 8, 9, 11).

Une nouvelle phase, dans la lutte contre les insectes, s'est alors ouverte, orientée non seulement vers la recherche de stratégies alternatives (*cf.* partie 2 de cet ouvrage) mais aussi vers une réflexion pour faire évoluer les insecticides de synthèse afin de mieux prendre en compte les exigences environnementales dans le cadre d'un développement durable. Cette orientation, et les démarches de recherche et développement (R&D) qui s'y sont associées, a conduit à la découverte de plusieurs molécules.

De nombreuses publications scientifiques ont été consacrées aux pesticides organiques de synthèse (Brooks, 1974 ; Matsumura, 1975 ; McEwen et Stephenson,

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1979 ; Fournier, 1988 ; Bohmont, 1990 ; Casida et Quistad, 1998 ; Ware, 1999). Parmi elles, trois compilations sont régulièrement mises à jour et nous serviront de référence : le *Pesticide Manual* du *British Crop Protection Council* (Tomlin, 2003), l'*Index phytosanitaire ACTA* de l'Association de coordination technique agricole (Couteux et Lejeune, 2004 et 2005) et sur internet, le *Compendium of Pesticides Common Names* (Wood, 2004).

Dans ce chapitre, nous ferons le point sur les insecticides organiques de synthèse en prenant en compte, à travers la recherche de nouvelles molécules, les différentes familles chimiques, leurs modes d'action, et la place qu'ils sont encore appelés à occuper dans la lutte phytosanitaire.

1. Définition et classification

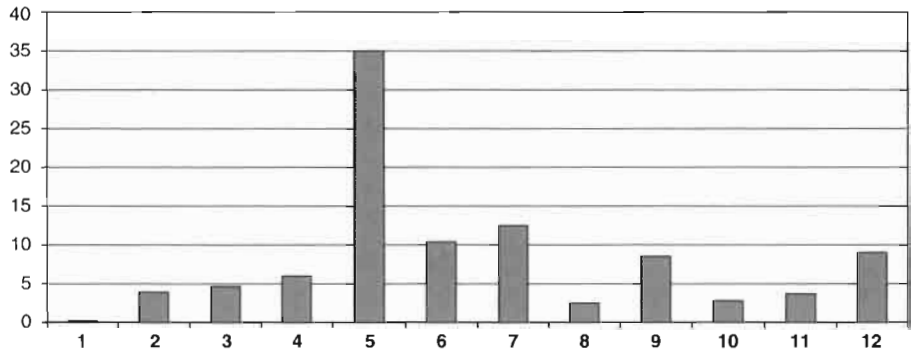
1.1. Une réalité complexe

Un insecticide chimique est un produit issu de la synthèse chimique (composé synthétique ou hémi-synthétique) qui a la propriété de tuer les insectes, à court ou à long terme. Les insecticides organiques de synthèse sont des molécules carbonées synthétisées et se distinguent des insecticides inorganiques ou minéraux.

Ceux-ci relèvent, dans leur grande majorité, d'un usage ancien soit parce qu'ils sont tombés en désuétude ou soit qu'ils sont interdits d'emploi. Ils n'occupent plus dans l'éventail des insecticides qu'une place marginale : aujourd'hui 17 molécules insecticides inorganiques (dont 11 dérivés arsénicaux et fluorés) sont répertoriées sur un total de 433 molécules insecticides (Wood, 2004). Ces 433 molécules (461 avec les chimiomostérilisants et répulsifs) sont classées par familles chimiques parmi lesquelles par ordre d'importance trois familles majoritaires : les organophosphorés, les carbamates, les pyréthrinoïdes de synthèse qui représentent à eux seuls 58 % des molécules (figure 1). On remarque aussi des molécules qui ne sont pas répertoriées à partir de leurs structures chimiques mais à partir de leurs modes d'action, comme les fumigants (toxicité par inhalation) ou les régulateurs de croissance d'insectes, ou bien encore à partir de leurs origines : botanique ou microbienne. D'autres molécules sont, pour l'instant, rangées dans une catégorie à part (« inclassables ») dans laquelle se trouvent des molécules récemment mises sur le marché, les seuls représentants de leur famille chimique ou celles dont on ne connaît pas très bien le mode d'action.

En effet, la préoccupation de rechercher de nouvelles molécules insecticides en prenant en compte la préservation de l'environnement, et les approches diversifiées pour cette quête, a engendré un foisonnement de nouvelles molécules. La diversité de ces molécules s'accompagne de structures complexes. Aussi est-il de plus en plus difficile de se référer aux familles chimiques classiques (Van Emden et Service, 2004). Cette complexité génère parfois une certaine confusion puisque certains auteurs classent parmi les insecticides organiques de synthèse des molécules qui sont considérés par d'autres comme biopesticides. Par exemple, les phéro-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit



1. dinitrophénols
2. insecticides inorganiques (y compris arsénicaux et fluorés)
3. fumigants
4. organochlorés (DDT, HCH, cyclodiènes)
5. organophosphorés
6. carbamates
7. pyréthrinoïdes
8. néonicotinoïdes
9. régulateurs de croissance de l'insecte (RCI)
10. d'origine microbiologique
11. d'origine botanique
12. autres (formamidine, pyrazole, pyrrole, pyrimidinamine, etc.)

Figure 1 ■ Différentes catégories d'insecticides (exprimées en pourcentage du nombre de molécules répertoriées par Wood, 2004).

mones : doivent-elles être considérées comme des insecticides (Pfeiffer, 2000) ou comme des biopesticides (Copping, 2001) ? C'est pourquoi il apparaît aujourd'hui nécessaire de mieux préciser la notion d'insecticide organique de synthèse. L'examen de l'évolution de ces composés apportera quelques éléments à cette réflexion.

1.2. Les trois générations des insecticides organiques de synthèse

Il est de plus en plus courant aujourd'hui, de classer les insecticides organiques chimiques dans trois catégories. Si l'accord apparaît unanime sur les deux premières, les avis cependant divergent sur les familles de composés à classer dans la dernière. Cette divergence repose en fait sur l'importance que l'on accorde aux deux points suivants : la nouveauté de la molécule et son mode d'action. Le premier point s'appuie sur l'apparition chronologique des substances tandis que le deuxième va, de fait, insister sur une activité innovante afin d'augmenter la spécificité de l'insecticide ou d'éviter des inconvénients comme les résistances croisées ou la persistance des molécules. Le plus souvent les deux démarches se confondent, mais dans certains cas, la prise en compte d'un seul des paramètres peut faire apparaître des ambiguïtés dans la classification, voire dans la définition de ces nouveaux insecticides organiques de synthèse.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

La première génération des insecticides organiques de synthèse est antérieure à 1940. Elle comprend les produits les plus anciens qui ont été utilisés contre les insectes. Deux groupes de composés ont été synthétisés à cette époque comme insecticides et acaricides : le dinitro-o-crésylate de potassium mis sur le marché en 1892 par Bayer & Co et le dinitro-orthocrésol (DNOC) (figure 2). Un second groupe de composés, les alkylthiocyanates, comme l'isobornylthiocyanate, a été développé à partir des années 30. Thacker (2002) souligne que toutes les potentialités de cette famille de composés n'ont pas été exploitées en raison de l'avènement de la seconde génération des insecticides organiques de synthèse. Sans doute, indique-t-il, faut-il attribuer le désintérêt dont ils ont été l'objet après 1945 à leur coût élevé, leur maniement peu aisé et par conséquent source de danger, ainsi qu'à une phytotoxicité fréquente. Au cours de cette période d'avant la Seconde Guerre mondiale, ces insecticides organiques de synthèse côtoyaient les insecticides inorganiques mentionnés ci-dessus : en particulier des dérivés de sels arsénicaux (l'acéto-arséniate de cuivre, « appelé vert de Paris », ou l'arséniate de plomb), fluorés (le fluorure de sodium ou le fluorosilicate de sodium) et soufrés (le sulfure de carbone) ainsi que l'acide cyanhydrique, qui étaient très utilisés (Dajoz, 1969). À cette époque également, les insecticides extraits des végétaux (nicotine) étaient aussi largement employés (*cf.* chapitre 29).

La deuxième génération est celle des molécules qui sont arrivées sur le marché au moment de la Seconde Guerre mondiale ; les hydrocarbures polyaromatiques comprenant :

– les organochlorés que nous avons évoqués à travers l'exemple du DDT ;

– les organophosphorés mis au point par les Allemands, également pendant les années 40-45, à partir des gaz de combat utilisés au cours de la Première Guerre mondiale ;

– les carbamates, dont les premières molécules insecticides, les dithiocarbamates, avaient été synthétisées par la société Dupont de Nemours dès 1931 (Fournier, 1988), mais qui ont été développés sur une plus grande échelle à la fin des années 50. Par exemple le carbaryl, un produit phare de cette famille, est apparu sur le marché en 1957 et l'aldicarbe en 1965 sous le nom de Temik®.

Ce sont ces trois grandes familles de composés (figure 2) que l'on a l'habitude de dénommer les insecticides organiques de synthèse. Leur développement supplanta les autres catégories d'insecticides qui devinrent marginaux. Ce sont eux, qui ont provoqué une révolution dans le domaine de la lutte contre les insectes fléaux. En effet, à cette époque, ils étaient « bon marché », efficaces et apparaissaient sans effets secondaires notables. Nous savons maintenant qu'il n'en était rien, sans doute à cause de l'usage massif et inconsidéré qui en a été fait. Mais il faut garder en mémoire que, dans les années cinquante, ces produits ont représenté le savoir-faire d'une époque qui a permis d'accomplir des progrès considérables au niveau de la santé ainsi que de la production alimentaire.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

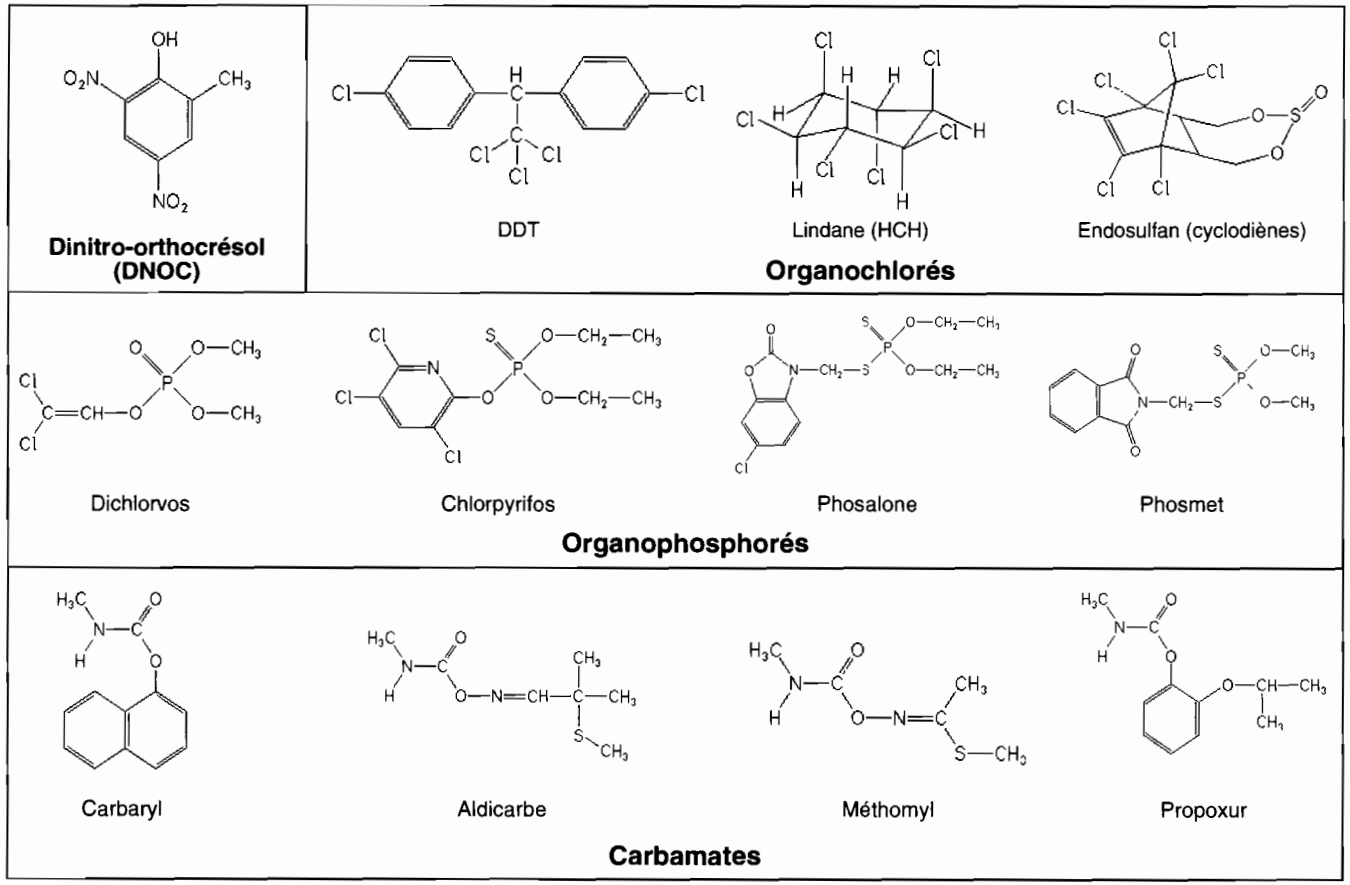


Figure 2 ■ Insecticides organiques de synthèse de la première et deuxième génération (formules d'après Wood, 2004).

La troisième génération d'insecticides organiques de synthèse est arrivée sur le marché à partir du dernier quart du vingtième siècle. Certains (Firn, 2003) classent dans cette catégorie tous les composés apparus sur le marché à partir des années 70. Y sont alors répertoriés les pyréthrinoïdes de synthèse commercialisés à partir de 1974, mais aussi les phénylpyrazoles, comme le fipronil découvert en 1987 et commercialisé en 1992, les néonicotinoïdes, comme l'imidachlopride apparu à la même période, ou les benzoylurées comme diflubenzuron (figure 3).

D'autres auteurs, en particulier Williams (1967), considèrent comme appartenant à la troisième génération des insecticides organiques de synthèse, les seules familles de composés qui agissent de manière plus spécifique parce qu'elles interviennent au niveau de la croissance séquentielle de l'insecte, sur les mues et la métamorphose. Ce sont les régulateurs de croissance de l'insecte (RCI) qui sont des analogues d'hormones et perturbent le développement de l'insecte. Les plus récents sont les diacylhydrazines comme le tébufénozide qui inhibe la mue, ou des mimétiques de l'hormone juvénile comme le fénoxycarbe et le pyriproxyfène (Dhadialla *et al.*, 1998). Sont rangés aussi dans cette catégorie les inhibiteurs de synthèse de la chitine (diflubenzuron), des insecticides dont l'action est ciblée sur le neurotransmetteur GABA (*gamma amino butyric acid*) (Von Keyserlingk et Willis, 1992), notamment les avermectines, macrolides naturelles originellement dérivés de microorganismes du sol, et leurs dérivés de synthèse, les ivermectines (Pfeiffer, 2000).

Comme le souligne My (1993), à propos de la recherche de nouvelles molécules phytosanitaires, « *la limite entre biologie et chimie peut être parfois floue* ». Ainsi, dans les insecticides de la troisième génération, se côtoient des molécules organiques de synthèse, mais aussi des composés extraits d'organismes biologiques. Ces derniers répondent à la définition des biopesticides (*cf.* chapitre 41), et devraient de ce fait être considérés comme tels. Aussi paraît-il indispensable de clarifier la définition des insecticides organiques de synthèse. En se référant à la définition des biopesticides et en nous situant dans la même logique, il apparaît que seuls devaient être considérés comme insecticides organiques de synthèse des molécules qui n'existent pas à l'identique dans la nature et qui sont l'objet d'une synthèse chimique. Ainsi, une phéromone synthétisée à l'identique mais identifiée chez une espèce animale, ou l'abamectine (un mélange d'isomères d'avermectine B_{1a} et d'avermectine B_{1b}) qui est isolée de l'actinomycète *Streptomyces avermitilis* sont des biopesticides, tandis que l'émamectine, qui est un composé semi-synthétique obtenu par une modification chimique de l'abamectine (afin d'obtenir une haute toxicité contre les chenilles) (Copping, 2001), devrait être rangée parmi les insecticides organiques de synthèse. Cette définition des insecticides organiques de synthèse, basée sur l'absence d'une molécule identique dans la nature, peut s'appliquer à l'ensemble des pesticides de synthèse.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

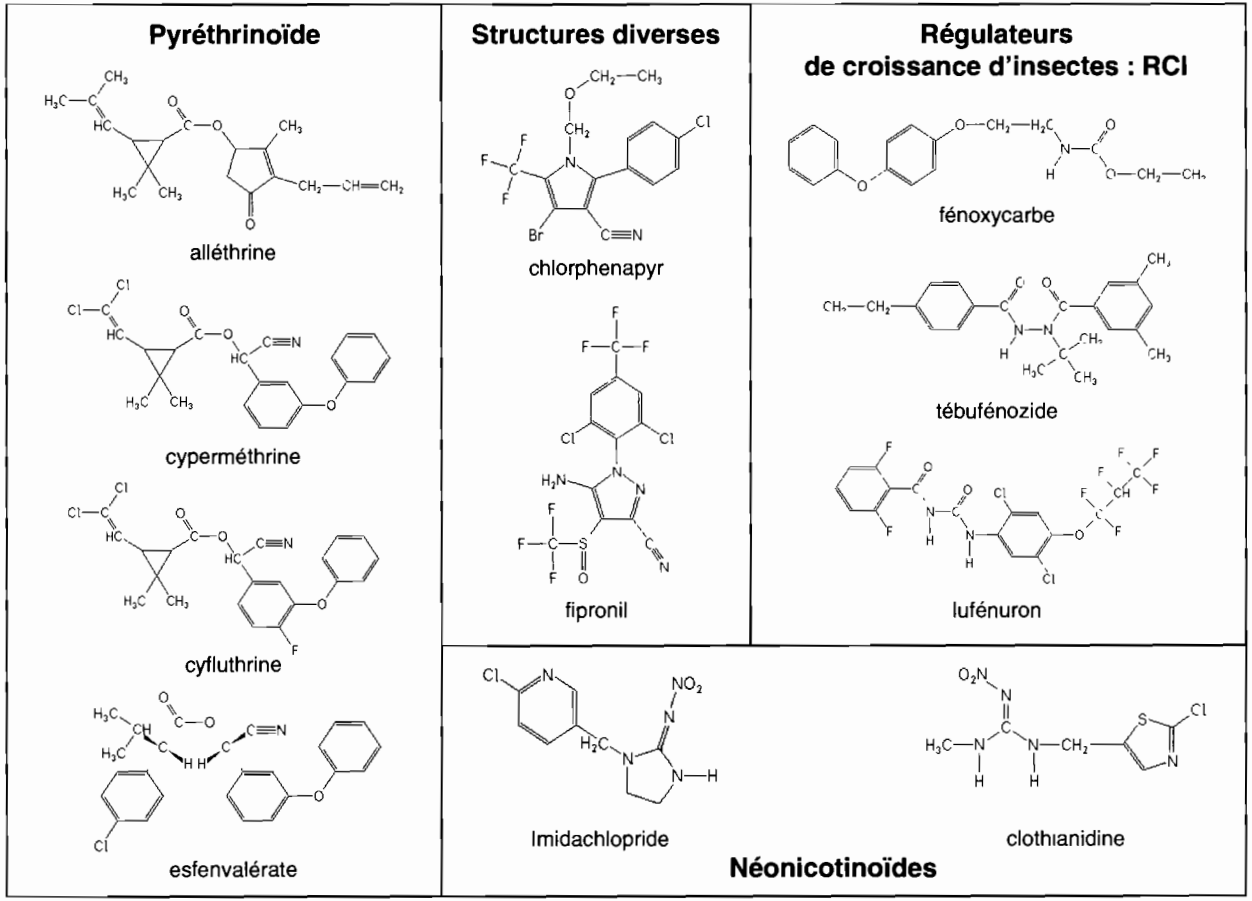


Figure 3 ■ Insecticides organiques de synthèse de la troisième génération (formules d'après Wood, 2004).

2. *Principales familles d'insecticides organiques de synthèse*

Les organochlorés, organophosphorés, carbamates et pyréthrinoïdes représentent la grande majorité des insecticides organiques de synthèse qui ont été employés ou sont utilisés actuellement (figure 4).

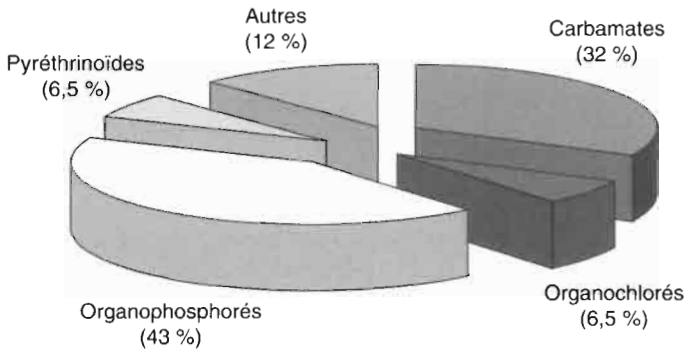


Figure 4 ■ Quantités de matières actives insecticides commercialisées en France en 2000. (D'après les données du Comité de la prévention et de la précaution, ministère de l'Environnement et du développement durable, 2002 ; www.ladocumentationfrancaise.fr/brp/notices).

2.1. Les organochlorés

Ces insecticides possèdent dans leur structure au moins une liaison carbone-chlore. On distingue trois familles d'insecticides organochlorés : celles du DDT et des HCH (hexachlorocyclohexane) ainsi que les cyclodiènes.

Les organochlorés ont pris une place prépondérante dans la lutte chimique grâce au succès spectaculaire du DDT, rappelé précédemment. Breveté en 1942 et produit commercialement depuis 1944 (OMS, 1982), le DDT a permis de lutter efficacement contre les arthropodes généralement associés aux concentrations de troupes militaires (poux, tiques, puces) et contre les moustiques vecteurs de malaria (Busvine,1989). La guerre de 1939-1945 est le premier conflit armé où les épidémies ont fait moins de victimes parmi les soldats que les combats. Le DDT, dans les années 40-50, a réduit considérablement l'incidence de la malaria, du typhus, de la fièvre jaune et de la peste, contribuant même à l'éradication du paludisme dans le sud de l'Europe et dans plusieurs îles tropicales (Casida et Quistad, 1998).

Avec le DDT et les autres organochlorés, la lutte phytosanitaire a été entièrement modifiée. Les utilisateurs ont eu à leur disposition des composés peu coûteux facilement applicables sur de grandes surfaces. Une vingtaine d'années après l'introduction du DDT, il y avait plus de 1 200 formulations disponibles en Amérique du Nord. Le DDT était alors utilisé contre 240 espèces de ravageurs de 334 cultures différentes (McEwen et Stephenson, 1979). En 1959, l'utilisation du DDT aux États-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Unis a atteint un sommet (35 771 tonnes) alors que la production mondiale continuait d'augmenter jusqu'en 1963 (81 154 tonnes) avant de commencer à baisser. Depuis les années 40, plus de 4 milliards de tonnes de DDT ont été utilisés sur la planète dont 80 % en agriculture (Ware, 1991). Le DDT faisait également partie de l'arsenal chimique disponible contre les insectes forestiers comme la tordeuse des bourgeons de l'épinette, *Choristoneura fumiferana*, insecte qui affecte des milliers d'hectares de forêts de conifères en Amérique du Nord (Blais, 1977). Les camphéchlore et toxaphène appartiennent à ce groupe. L'ensemble des molécules de ce groupe sont avant tout des insecticides de contact même si le dérivé du DDT, le DDD (dichlorodiphényldichloroéthane) agit aussi par ingestion.

Comme tous les organochlorés, le DDT et ses composés apparentés se caractérisent par leur stabilité chimique, leur apolarité et leur lipophilie. Substances neurotoxiques, ils affectent autant le système nerveux des insectes que celui des autres animaux. Ils sont toutefois séquestrés dans les compartiments lipidiques des organismes ; la dose létale de DDT *per os* pour un homme de 70 kg est de l'ordre de plusieurs dizaines de grammes (Lauwerys, 1990). Et c'est en raison de leur persistance dans l'environnement et leur bio-accumulation dans les organismes pouvant engendrer une bio-amplication (*cf.* chapitre 7) qu'ils furent interdits dès les années soixante-dix dans les pays développés (le DDT, en 1972, aux États-Unis). Ce n'est cependant que très récemment qu'ils ont été exclus de la liste mondiale des produits chimiques autorisés pour lutter contre les moustiques vecteurs de la malaria, bien que des voix se soient fait encore entendre récemment pour conserver cet usage (Roberts, 1999 ; WHO, 2000). Ainsi, Thacker (2002) constate qu'à la suite de la suspension de l'utilisation du DDT entre 1995 et 2000, dans la province du Natal en Afrique du Sud, un triplement des cas de malaria est observé au cours de cette période, alors qu'en l'an 2000, date à laquelle l'emploi du DDT a été réintroduit, les cas sont passés d'une moyenne mensuelle d'environ 5 000 entre janvier et mai à environ 800 en septembre et en octobre (*cf.* chapitre 9). Bien que cet insecticide soit encore utilisé dans certains pays en développement pour un usage domestique, à cause de son faible coût (Van Emden et Service, 2004), sa production devrait être arrêtée complètement, partout dans le monde, en 2007.

La deuxième famille est celle des HCH ($C_6H_6Cl_6$). Anciennement ces composés étaient répertoriés comme dérivés du benzène (Benzènehexachloride : BHC). Elle est composée de cinq isomères mais seul le lindane (isomère γ) est actif contre les arthropodes. Les propriétés insecticides du lindane ont été découvertes en 1942 par le chimiste français Dupire, bien que la synthèse des $C_6H_6Cl_6$ ait été réalisée dès 1825 par Faraday et que le chimiste Van den Linden ait décrit l'isomère gamma dès 1912. C'est d'ailleurs en sa mémoire que le nom de lindane fut donné à cet isomère. Le lindane est plus volatil et soluble que le DDT. C'est un insecticide de contact mais il peut être aussi toxique par ingestion que par inhalation. Moins persistant que le DDT, le lindane semblait devoir échapper aux restrictions (Brooks, 1990), et a longtemps été autorisé comme insecticide. Ce n'est qu'en 2002 que son emploi a été définitivement interdit dans l'Union européenne (COLEACP, 2002).

Le groupe des cyclodiènes, qui comprend les chlordane, aldrine, dieldrine, endosulfan, heptachlore et mirex, a été découvert en 1945. Persistants, ces com-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

posés ont été utilisés pour combattre les insectes nuisibles du sol et les termites. Ainsi, il a été constaté que des bois traités contre les termites avec de l'aldrine ou du dieldrine dans les années 50 étaient encore exempts de dommage en 2002 (Thacker, 2002). Toutefois, certains de ces composés se sont révélés plus toxiques sur les mammifères que le DDT : le mirex est cancérogène chez le rat et la souris (Lauwerys, 1990). De cette famille de composés, seul l'endosulfan figure dans l'*Index phytosanitaire ACTA* 2004, le retrait de la liste européenne du diénochlore étant acquis (Decoin, 2003).

2.2. Les organophosphorés

Les organophosphorés contiennent un atome de phosphore dans leur structure chimique. Leur mise au point remonte aux travaux de Schrader, en Allemagne, en 1934 (Matsumura, 1975) puis pendant la Seconde Guerre mondiale comme succédanés de la nicotine. Ce sont des dérivés des gaz sarin et tabun qui sont également insecticides et hautement toxiques pour les mammifères (Dajoz, 1969). Ils sont tous des dérivés de l'acide phosphorique. La majorité est soluble dans les solvants organiques et insoluble dans l'eau, alors que quelques-uns comme le dichlorvos sont volatils. Neurotoxiques, les organophosphorés regroupent les insecticides les plus toxiques envers les mammifères. Par contre, ils ne sont pas persistants comme les organochlorés, caractéristique qui leur a permis dès les années 50 de remplacer ces derniers en agriculture contre les insectes et les acariens. L'activité des organophosphorés est multiple. On distingue les organophosphorés exothérapiques qui agissent en pénétrant directement dans l'organisme des insectes par des voies diverses (contact, *per os*, etc.), comme le parathion, et les organophosphorés endothérapiques ou systémiques comme le disulfoton, qui pénètrent facilement dans la plante où ils circulent (tableau 1). Certains sont fumigants comme le malathion (qui est aussi un pesticide de contact), translaminaires ou quasi-systémiques (Van Emden et Service, 2004).

Les organophosphorés sont regroupés en trois grands groupes :

– les dérivés aliphatiques, avec une chaîne carbonée, comme le malathion, le dichlorvos, l'acéphate, le diméthoate, le disulfoton, le phorate, le méthamidophos et le mévinphos ;

– les dérivés phénylés qui contiennent un noyau phényl dans leur structure. Le parathion, qui est à la fois un insecticide de contact, *per os* et respiratoire avec une action systémique limitée, en fait partie, de même que le fenitrothion utilisé comme insecticide systémique pour la protection du bétail et le fenthion, non systémique à large spectre dans la protection des cultures ;

– les dérivés hétérocycliques dans lesquels le ou les cycles incluent des atomes d'oxygène, d'azote ou de soufre comme l'endothion, la phosalone ou le phosmet.

Wood (2004) dénombre 152 organophosphorés et les classe en détaillant les différentes familles chimiques : organophosphates (mevinphos, naled, monocrotophos), organothiophosphates (chlorpyrifos, deméton, parathion) dont les organo-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau 1 ■ Types d'insecticides en fonction du mode de pénétration dans l'insecte. (D'après Van Emden et Service, 2004)

Type d'insecticide	Mode de pénétration
Contact	Après contact, l'insecticide pénètre à travers la cuticule pour atteindre les tissus internes.
Résiduel de contact	Le résidu (après dégradation par les UV par exemple) reste insecticide et pénètre de la manière indiquée précédemment.
Par voie orale/ ingestion/*per os*	L'insecticide doit être ingéré. Dans certains cas, le résidu non toxique nécessite d'être transformé par la flore digestive de l'insecte pour devenir toxique (pro-toxique).
Translaminaire	L'insecticide pénètre dans la feuille du végétal, et le résidu toxique, ayant traversé plusieurs couches cellulaires, se situe au niveau des faces externe et interne de la feuille.
Systémique	L'insecticide, absorbé dans la plante, migre dans la sève et envahit tous les organes de la plante.
Quasi-systémique	L'insecticide pénètre au point d'application de la plante et ne migre pratiquement pas dans les autres parties de la plante.
Fumigant	Insecticide sous forme de vapeur qui développe une toxicité inhalatoire chez l'insecte.

thiophosphates aliphatiques (deméton), les organothiophosphates aliphatiques amides (diméthoate), les organothiophosphates oximes (phoxime), les organothiophosphates hétérocycliques (diazinon), etc.

L'importance de ce nombre de molécules recensées montre que les organophosphorés restent encore aujourd'hui la famille d'insecticides organiques de synthèse la plus employée sans doute à cause d'un large éventail de modes d'action et de multiples possibilités dans leurs applications. Ils sont en effet utilisés aussi bien pour les traitements foliaires que pour la protection antiparasitaire du bétail. Selon *Pesticide News* (anonyme, 1998), le chlorpyrifos, organophosphoré en usage depuis 1966, est l'insecticide le plus utilisé – en volume cumulé – dans le monde sur plus de 50 cultures dont les maïs, coton, et luzerne.

2.3. Les carbamates

Le remplacement des organochlorés a été accéléré par l'apparition et l'utilisation des carbamates, composés dérivés de l'acide carbamique. Il est intéressant de noter que les premiers carbamates, composés dérivés synthétiques de la physostigmine, le principal alcaloïde de *Physostigma venenosum*, mis au point par Geigy en 1951, n'étaient guère efficaces (Ware, 1991). Cependant, cinq ans plus tard, en 1956, le carbaryl, insecticide de contact et *per os*, à large spectre d'activité et à toxicité

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

relativement faible envers les mammifères, allait devenir rapidement le carbamate de choix partout dans le monde. En 1969, 21 carbamates étaient déjà utilisés en Amérique du Nord, et actuellement on en dénombre 45 (Wood, 2004). Chimiquement, les carbamates peuvent se classer en trois groupes, selon qu'ils sont carbocycliques tel le carbaryl, hétérocyclique comme le pyrimicarbe, ou aliphatiques comme l'aldicarbe. Le groupe des oxime-carbamates (outre l'aldicarbe, le méthomyl et dix autres composés) et celui des phénylméthyl carbamates (propoxur et 21 autres molécules) représentent les trois quarts des carbamates répertoriés. Les carbamates sont généralement des insecticides non-sélectifs et présentent plusieurs types d'activités, ce qui permet de mieux cibler leur usage. Ainsi, le méthomyl est à la fois insecticide de contact, fumigant et légèrement systémique, le pyrimicarbe est systémique et fumigant, etc.

Il faut noter qu'un des organophosphorés très employés, l'aldicarbe, a récemment fait l'objet d'une restriction d'emploi en Europe. Il n'est en effet plus inscrit à l'annexe 1 de la directive européenne 91/414/CE. De ce fait il est interdit pour les usages courants depuis septembre 2004 et n'est autorisé que pour deux « usages essentiels » (c'est-à-dire quand il n'existe pas de solution de remplacement ou que des problèmes de résistance menacent de se produire du fait de cette interdiction) (anonyme, 2004) sur la vigne et la betterave jusqu'en 2007, date à laquelle il faudra mettre en œuvre des traitements de substitution (www.agriculture.gouv.fr).

2.4. Les pyréthrinoïdes

S'il y a un insecticide d'origine végétale qui a connu un succès sans précédent, c'est bien le pyrèthre, composé extrait du chrysanthème *Chrysanthemum cinaerarefolium*. Cependant, ce biopesticide n'a jamais pu être utilisé en agriculture à cause de sa labilité en présence de la lumière solaire. Aussi est-ce très tôt que la chimie de synthèse s'est attachée à mettre au point des composés photostables : les pyréthrinoïdes. Ware (1991) les présente en quatre groupes chronologiques :

– le premier groupe contient un seul pyréthrinoïde l'alléthrine, décrit en 1949 et homologué pour la première fois au Japon en 1964 (Tomlin, 2003) ;

– le second groupe est représenté par la tétraméthrine (homologuée au Japon en 1964), la resméthrine (décrite en 1967 et homologuée au Japon en 1971) et la bioresméthrine (décrite et introduite en 1967), la bioalléthrine (décrite en 1967) et la phénothrine (homologuée en1973). Ces produits n'ont pas vraiment trouvé leur place dans l'agriculture ;

– le troisième groupe est celui de la perméthrine (1973) et du fenvalérate (1974), les premiers véritables pyréthrinoïdes agricoles ;

– le quatrième est composé par une nouvelle génération particulièrement efficace, photostable et suffisamment résiduelle (10 jours) comme la cyperméthrine et ses isomères (1975-1989) et les cyfluthrines (1981-1993).

La grande majorité des pyréthinoides sont des esters : 49 molécules pour 5 pyréthrinoïdes éthers (Wood, 2004).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Les pyréthrinoïdes sont des neurotoxiques dont le mode d'action s'apparente à celui des organochlorés, affectant à la fois le système nerveux central et le système périphérique. Ce sont des insecticides résiduels de contact et aucune action systémique, translaminaire ou fumigante n'a été identifiée. Leur toxicité peut néanmoins s'exercer au niveau de la prise alimentaire et la capacité reproductrice de l'insecte. Selon Thacker (2002), le succès des pyréthrinoïdes de synthèse est dû à trois raisons :

– leur photostabilité ;

– leur plus grande toxicité envers les insectes, ce qui permet d'utiliser des doses plus faibles ;

– leur moindre coût comparé à celui des pyréthrines naturelles.

Cependant, un manque de sélectivité des molécules envers les insectes auxiliaires a été constaté. Aussi pour améliorer leurs performances, les recherches se sont-elles orientées vers des modifications de la structure chimique afin d'augmenter la stabilité et la toxicité des molécules, par exemple en substituant les sites insaturés susceptibles d'oxydation par des cycles benzéniques. Ainsi, la deltaméthrine décrite en 1974 et commercialisée en 1976 peut s'utiliser à des concentrations de 10 à 20 mg/ha pour une rémanence de deux à sept jours, alors que la perméthrine, apparue en 1973, nécessite des concentrations de 50 à 200 g/ha et a une rémanence de 3 à 5 jours.

Les pyréthrinoides ont encore de beaux jours devant eux et sont parmi les premières molécules à avoir été ré-homologuées dans la procédure européenne en cours.

2.5. Les néonicotinoïdes

L'arrivée des néonicotinoïdes sur le marché est considérée comme l'événement le plus important des trois dernières décennies dans le domaine des insecticides organiques de synthèse (Tamizawa et Casida, 2003). Malgré leur nom, ces insecticides ne sont pas des dérivés de la nicotine, alcaloïde neurotoxique d'origine végétale. Ils sont appelés ainsi en raison de leur mode d'action neurotoxique car ils interviennent au niveau des récepteurs nicotiniques post-synaptiques (*cf.* 3.1.2.). Ces insecticides visent à remplacer les organophosphorés et les carbamates comme produits systémiques efficaces contre les insectes phytophages piqueurs-suceurs. Mais ils sont également utilisés contre les insectes vecteurs de maladies affectant les animaux.

Le premier néonicotinoïde mis sur le marché fut l'imidachlopride, découvert en 1984 et commercialisé en 1991. Depuis d'autres néonicotinoïdes ont été synthétisés. On en dénombre aujourd'hui 9 dont le nitenpyram décrit en 1993 et apparu en 1995 au Japon (Bestguard®), le thiamethoxam décrit en 1991 et introduit en 1997 en Nouvelle-Zélande (Actara®, Cruiser®), qui selon Palumbo (2001) appartiendrait (déjà !) à la seconde génération des néonicotinoïdes. Plus récemment la clothianidine, homologuée au Japon en 2002, a été présentée lors de colloques internationaux pour la protection du riz, des cultures légumières et fruitières, le thé et

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

les cultures ornementales en 2002, puis pour les semences en 2003 (Michel, 2002 ; Michel, 2003a, 2003b). Les néonicotinoïdes sont des insecticides systémiques, de contact et par ingestion. Ils peuvent être utilisés pour les traitements des feuilles, du sol et des graines. D'après Ware (1999), l'imidaclopride est probablement parmi les insecticides les plus utilisés actuellement au niveau mondial : il est d'ailleurs décliné par Bayer CropScience sous différents noms (Confidor® et Gaucho® largement répandus, mais aussi : Admire® aux États-Unis et au Japon, Conidor® en Corée, Winner® au Brésil). On le retrouve aussi en association avec d'autres matières actives (Prestige®, Win Admire®) (Tomlin, 2003). Il suscite cependant de grandes inquiétudes notamment chez les apiculteurs en France où son usage a été récemment restreint (*cf.* chapitre 10).

2.6. Autres familles d'insecticides organiques de synthèse

En dehors de la famille des dinitrophénols dans laquelle se situe le DNOC, évoqué précédemment, et qui est maintenant interdit en Europe depuis 2000, la majeure partie de ces insecticides fait partie de ce qu'on appelle les nouveaux insecticides. Sont classés sous ce vocable des groupes de composés qui ne forment pas encore vraiment des familles comme :

– les pyrroles, dont le seul représentant est le clorphenapyr (Pirate®, Alert®), insecticide translaminaire, de contact et d'ingestion pour les arthropodes suceurs et broyeurs. Il a fait l'objet d'une évaluation sévère du groupe de travail sur l'environnement aux États-Unis (*Environmental Working Group*) en raison de sa persistance et de sa toxicité pour les oiseaux (EPA, 2004), mais aurait trouvé une utilisation dans la protection des bois d'œuvre (FANPP, 2004) ;

– les pyridazinones ou pyrimidinamines avec le flufenerim et le pyrimidifen (Pyramite®, Miteclean®). Ce dernier composé est non systémique et présente un fort potentiel pour la lutte intégrée (Palumbo, 2001) ;

– les phénylpyrazoles, groupe de six molécules dont la plus connue est le fipronil (Regent®). Ce composé a une activité systémique à large spectre (Lépidoptères, Diptères, Homoptères). Il peut être utilisé en traitement du sol et des graines. Il est également l'objet d'accusation de la part des apiculteurs français (*cf.* chapitre 10) ;

– les oxidiazines dont le seul représentant est l'indoxacarbe (Explicit®, Stewart®), un neurotoxique qui contrôle les Lépidoptères. Ce composé fait partie des rares nouvelles molécules insecticides présentées par les firmes phytosanitaires au cours de ces dernières années (Decoin, 2001).

Se rangent aussi dans cette catégorie « fourre-tout », à côté des insecticides issus de la synthèse chimique, des insecticides organiques de synthèse qui dérivent de molécules naturelles dont on a manipulé la structure pour la rendre plus efficace. On y classe aussi certaines molécules naturelles insecticides, dont on a suggéré qu'il fallait les distinguer des composés organiques de synthèse (*cf.* 1.), et que Wood (2004) qualifie d'insecticides « antibiotiques » c'est-à-dire ayant un lien avec les micro-organismes. Parmi ces substances actives, on trouve les lactones macrocycliques dans lesquelles sont inclus le spinosad, molécule naturelle (*naturalyte*)

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

obtenue par fermentation de l'actinomycète du sol *Saccharopolyspora spinosa*, des avermectines naturelles comme l'abermectine, composé isolé de l'actimomycète *Streptomyces hygroscopicus*, mais aussi l'émamectine, sous forme de benzoate, dérivée par synthèse de l'abermectine, et qui est une neurotoxine translaminaire contre des larves de Lépidoptères.

Enfin, les fumigants comme le paradichlorobenzène ou le bromure de méthyle, ainsi que les régulateurs de croissance des insectes (*cf.* 3.3.) comme le pyriproxyfène ou l'halofénozide, sont classés dans des groupes basés sur un même mode de pénétration ou un même mécanisme d'action. Mais ils ne forment pas une famille chimique, à l'exception des benzoylurées molécules inhibitrices de la synthèse de chitine, à laquelle appartient le lufénuron, et qui comprend maintenant 14 composés (Wood, 2004). Cette famille sera évoquée plus longuement dans la partie 3 de ce chapitre.

3. *Modes d'action des insecticides*

L'évolution constatée au niveau des familles chimiques est également sensible au niveau des modes d'action des insecticides organiques de synthèse. Alors qu'ils étaient principalement neurotoxiques ou inhibiteurs respiratoires au milieu du XX^{e} siècle, de très nombreux insecticides récents ont été mis au point afin de limiter les effets non intentionnels. Ils visent des cibles biologiques beaucoup plus spécifiques des insectes, comme la chitine par exemple (Marx, 1977).

On peut distinguer trois grandes classes d'insecticides selon leurs mécanismes d'action : action sur le système nerveux, perturbation de la fonction respiratoire, ou réduction de la croissance. Ces modes d'action ont fait l'objet de plusieurs publications de synthèse qui nous serviront de référence (*cf.* « Rappel sur les cibles biochimiques de l'insecte perturbées par les insecticides organiques de synthèse »).

3.1. Action sur le système nerveux

Les insecticides neuroactifs représentent la grande majorité des composés exploités sur les insectes et dominent le marché depuis un demi-siècle (Casida et Quistad, 1998). La neurotoxicité se manifeste par le blocage de la propagation de l'influx nerveux, tant au niveau du système nerveux central (SNC) que périphérique au niveau des neurones et synapses. Les symptômes d'intoxication par les substances neurotoxiques présentent les phases successives : période de latence, hyperexcitation, manque de coordination, tremblements, convulsions, prostration, mort.

3.1.1. Action sur la transmission axonale de l'influx nerveux

Une première cible biochimique est la perturbation de la transmission de l'influx nerveux le long des axones. Cette toxicité résulte de l'action de certains organochlorés comme le DDT ou les cyclodiènes ainsi que des pyréthrinoïdes.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Rappel sur les cibles biochimiques de l'insecte perturbées par les insecticides organiques de synthèse

1. L'influx nerveux et la transmission axonale

La transmission de l'influx nerveux en liaison avec l'activité des molécules phytosanitaires chez l'insecte a fait l'objet de plusieurs publications de synthèse, notamment Bloomquist (1999) et Nation (2002) sur lesquelles nous nous appuierons.

La transmission de l'influx nerveux met en jeu une différence de potentiel transmembranaire d'environ –70 mV. Elle consiste en une dépolarisation transitoire qui se traduit par une ouverture des canaux sodium provoquant un afflux d'ions sodium Na^+ responsable de l'augmentation du potentiel (vague positive), puis secondairement par une augmentation de la perméabilité au potassium entraînant une sortie des ions K^+ et le retour du potentiel à son niveau initial. L'influx nerveux résulte de cette dépolarisation locale de la membrane transmise de proche en proche. Cette transmission, électrique le long de l'axone, devient chimique au niveau de la synapse. En effet, l'espace entre deux neurones fluctue entre 10 et 20 nm. Le passage direct de l'influx nerveux ne peut avoir lieu directement et est relayé par un message biochimique transmis par un neurotransmetteur. L'arrivée de l'influx nerveux au niveau synaptique provoque l'ouverture des canaux calcium voltage dépendant et donc l'entrée passive d'ions Ca^{2+} qui existent à faible concentration dans le milieu cellulaire. L'augmentation de la concentration de Ca^{2+} dans le cytosol de la terminaison nerveuse stimule la libération du neurotransmetteur. Celui-ci se combine à un récepteur de la membrane postsynaptique et augmente la perméabilité de canaux ioniques. La conséquence en est une modification de la polarisation neurosynaptique qui induit, à une amplitude suffisante, un potentiel postsynaptique, et la poursuite de l'acheminement du signal.

Plusieurs types de transmetteurs chimiques sont connus au niveau des synapses des insectes :

– l'acétylcholine, caractéristique des synapses cholinergiques, induit un potentiel d'action excitateur au niveau postsynaptique ;

– l'acide gamma-aminobutyrique (GABA) intervient au niveau des récepteurs glutaminergiques couplés aux canaux chlore, et exerce un effet inhibiteur par hyperpolarisation de la cellule. Le GABA est libéré dans la zone présynaptique et se combine alors à un récepteur protéique post-synaptique contenant un canal d'ions chlores qui sont libérés. Cette perméabilité au chlore a pour effet de rendre le potentiel d'action membranaire plus négatif et de ralentir la transmission nerveuse ;

– des amines comme l'octopamine, ou la dopamine, interviennent au niveau des synapses. L'octopamine agit sur les synapses octopaminergiques des jonctions neuromusculaires et se combine à un récepteur qui augmente la concentration de l'adénosine monophosphate cyclique (AMP_c) et suscite l'excitation neuronale.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Des enzymes interviennent pour détruire le neurotransmetteur de manière à libérer le récepteur qui devient prêt pour une transmission ultérieure : ainsi l'acétylcholinestase. D'autres, comme les Ca^{2+} ATPases interviennent pour expulser les ions Ca^{2+} une fois le potentiel d'action dissipé.

On identifie aussi, dans les neurones des insectes, des amines connues comme neurotransmetteurs (sérotonine).

Les insecticides agissent sur les différentes phases de transmission de l'influx nerveux.

2. La fonction respiratoire

La chaîne respiratoire, localisée au niveau de la membrane interne mitochondriale assure le cheminement des électrons libérés au cours du métabolisme oxydatif mettant en jeu le cycle de Krebs vers l'oxygène dont la réduction conduit à la production d'eau. Durant ces transferts, un gradient de protons se crée de part et d'autre de la membrane interne, provoque l'expulsion d'ions hydrogène H^+ dans l'espace intermembranaire et la biosynthèse d'ATP par les ATPases synthases (phosphorylation oxydative).

La chaîne respiratoire est formée de complexes protéiques liés à la membrane interne mitochondriale, qui en dehors du coenzyme Q et du cytochrome c, relativement mobiles, sont inclus dans des complexes figés. Leroux et Delorme (1997) soulignent qu'on distingue 4 complexes protéiques (unités fonctionnelles) :

– le complexe I : NADH deshydrogénase ou NADH-ubiquinone réductase, formé de plus de 30 protéines, qui est impliqué dans l'oxydation du $NADH,H^+$ en NAD^+ ;

– le complexe II : succinate deshydrogénase ou succinate-ubiquinone réductase, formé de quatre protéines qui agit dans l'oxydation du succinate en fumarate ;

– le complexe III : complexe bc_1 ou ubiquinone-cytochrome c réductase, qui est formé d'une dizaine de sous unités, dont les cytochromes b et c_1 et des protéines Fer-Soufre, et qui transfert les électrons du coenzyme Q au cytochrome c ;

– le complexe IV ou cytochrome c oxydase, est formé de 13 protéines et contient les cytochromes a et a_3. Il assure le dernier transfert des électrons vers l'oxygène.

Les insecticides organiques de synthèse agissent principalement sur les phosphorylations oxydatives et moins sur les complexes de la chaîne respiratoire qui sont surtout la cible de fongicides (*cf.* chapitre 2). Certains insecticides inorganiques interviennent au niveau du complexe IV et par leur capacité à réagir avec les fonctions thiols des enzymes du métabolisme cellulaire (produits multi-sites).

3. Croissance de l'insecte

De multiples métabolismes sont impliqués dans le développement de l'insecte, mettant en jeu la biosynthèse de composés intermédiaires ainsi que

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

des régulations enzymatiques et hormonales. Les cibles hormonales et la biosynthèse des téguments sont particulièrement concernées par l'activité des insecticides.

3.1. Les hormones de croissance

Les hormones impliquées dans la croissance interviennent au niveau des mues et de la métamorphose. Des neurohormones peptidiques, produites par le cerveau, contrôlent la production d'hormones stéroïdes, les ecdysones, par les glandes prothoraciques, et d'hormones juvéniles, de nature terpénique, par les corps allates. Les ecdysones assurent l'initiation des mues dont la nature va varier en fonction de la quantité d'hormone juvénile circulante. Si l'hormone est abondante : la mue est larvaire, si elle est présente en moindre quantité : la mue est nymphale, et si elle est absente : elle est imaginale.

Les insecticides interviennent sur les hormones de croissance comme analogues ou mimétiques des hormones juvéniles ou en perturbant la mue et la métamorphose des insectes.

3.2. Formation de la chitine

La chitine est un élément de la cuticule qui constitue une protection et un élément du squelette pour des insectes. Elle est renouvelée à chaque mue et sa biosynthèse, à partir de glucides, le tréhalose et le glycogène, s'effectue en dix étapes dont la dernière met en jeu la chitine synthétase qui catalyse l'élongation de la chaîne polysaccharidique de N-acétylglucosamine. La pigmentation, la mélanisation et la sclérotinisation du tégument sont sous la dépendance des hormones juvéniles et de l'ecdysone et mettent en jeu la dopamine (Riba et Silvy, 1989).

Les insecticides agissant au niveau de la croissance de l'insecte interviennent en perturbant la fonction hormonale ou en provoquant une altération dans l'agencement du tégument de l'insecte.

Le DDT dérègle l'équilibre entre les ions sodium et potassium. Son site principal d'action est le canal sodium dont l'insecticide ralentit ou bloque la fermeture. Il perturbe la sortie de K^+. La combinaison de ces deux effets, ainsi qu'une inhibition de l'ATPase associée au fonctionnement de la pompe sodium-potassium, conduit à une prolongation de la phase descendante, ce qui provoque une contraction permanente des muscles, des convulsions et la mort (Bloomquist, 1999).

Les pyréthrinoïdes de synthèse agissent par des modes d'action similaires au DDT et sont considérés comme des « poisons axoniques » (Ware, 1999). Ils gardent ouverts les canaux sodium mais se fixent sur un site différent de celui des organochlorés. On distingue deux types d'action des pyréthrinoïdes : les pyréthrinoïdes de type I (alléthrine, tétraméthrine) qui provoquent un tremor et une hyperexcitabilité tandis que le type II (fenvalerate, fluvalinate) conduit à l'incoordination des mouvements (Thacker, 2002). Le canal sodium voltage-dépendant

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

est la cible de l'indoxacarbe qui exerce un effet de blocage de ce canal, c'est-à-dire l'effet inverse de celui décrit précédemment (Delorme *et al.*, 2002).

3.1.2. Action sur les synapses

Le mode d'action le plus ancien qui a été décrit concerne les synapses cholinergiques. En effet, ces synapses sont les cibles de la toxicité des organophosphorés et des carbamates. Ces composés sont des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase. Lorsque les insecticides neurotoxiques atteignent les synapses, ils inactivent l'acétylcholinestérase, et par le fait même, empêchent la dégradation de l'acétylcholine. Ce neurotransmetteur s'accumule alors dans les synapses et provoque une hyperexcitation qui conduit à la mort.

Les organophosphorés, comme le parathion activé sous forme de paraoxon, agissent au niveau de la sérine qui est située dans le site actif de l'acétylcholinestérase. Ils phosphorylent sa fonction hydroxyle et de ce fait inactivent l'enzyme et inhibent la dégradation de l'acétylcholine qui devient très lente (Lauwerys, 1990). L'accumulation du neurotransmetteur dans les synapses produit l'hyperexcitation. Les organophosphorés n'ont pas la même rapidité d'action que les pyréthrinoïdes car leur action toxique requiet qu'ils pénètrent dans le système nerveux central et qu'ils y soient bioactivés (Bloomquist, 1999). La phosphorylation de l'acétylcholinestérase est persistante, le retour de l'activité enzymatique revenant au bout de plusieurs heures ou jours quand de nouvelles molécules ont été synthétisées.

Les carbamates agissent de la même façon que les organophosphorés en hydroxylant la sérine du site actif de l'enzyme et les signes d'intoxication sont similaires. Toutefois, le complexe formé entre le carbamate et l'enzyme est moins stable et par conséquent l'inhibition de l'enzyme est réversible en quelques minutes (Lauwerys, 1990).

La synapse cholinergique est la cible d'une autre famille d'insecticides de synthèse : les néonicotinoïdes. Ces composés agissent sur les mêmes cibles que la nicotine, insecticide extrait des plantes (*cf.* chapitre 29). Mimétique de l'acétylcholine, elle se lie aux récepteurs post-synaptiques et provoque de ce fait une stimulation suivie de dépression affectant les ganglions du système végétatif, des terminaisons des nerfs moteurs dans les muscles striés et le système nerveux central. Les néonicotinoïdes, tel l'imidachlopride, se lient aux récepteurs postsynaptiques nicotiniques de l'acétylcholine et activent le canal cationique qui provoque un afflux de Na^+ et Ca^{2+} dépolarisant. Occupant les sites de l'acétylcholine mais n'étant pas dégradés par l'acétylcholinestérase, leur action stimulatrice des synapses cholinergiques est persistante (Bloomquist, 1999).

D'autres neurotransmetteurs synaptiques sont également la cible d'activités d'insecticides. L'octopamine, autre neuromédiateur est la cible des insecticides de la famille des amidines. L'amitraze est un composé mimétique de l'octopamine et provoque chez l'insecte une forte stimulation des synapses octopaminergiques, ce qui engendre des convulsions et un vol continu chez les adultes. Ce type d'insec-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

ticide peut aussi provoquer l'anoxie et bloquer la reproduction. L'octopamine étant une neurohormone qui agit aussi sur la glycogénolyse (Nation, 2002), des modes d'action secondaires de ces insecticides sont possibles.

L'intervention des insecticides peut aussi se faire sur les synapses inhibitrices. Les cyclodiènes comme le dieldrine ou l'endosulfan, mais aussi le lindane provoque des symptômes très similaires à ceux du DDT sur l'insecte, mais leur action s'exerce au niveau de la synapse GABA par inhibition compétitive au niveau du site de liaison du neurotransmetteur. Le phénylpyrazole fipronil intervient également comme antagoniste au niveau des récepteurs GABA en bloquant le canal chlore, mais son site de fixation n'est pas encore clairement identifié (Delorme *et al.*, 2002). Les avermectines bloquent également l'activité électrique au niveau des nerfs et des muscles des invertébrés en augmentant, de manière irréversible, la conductance de la membrane aux ions chlore (Bloomquist, 1999).

Le mode d'action de la pymétrozine, décrit en 1992 et breveté en 1993, a été mis en évidence récemment : elle intervient sur les récepteurs neuronaux de l'insecte en déclenchant une libération de sérotonine dans les fosses synaptiques. Les récepteurs de sérotonine sont stimulés, interviennent sur les glandes salivaires et provoquent l'inhibition de la prise alimentaire. Les pucerons et les aleurodes visés meurent d'inanition et de déshydratation au bout de quelques jours (Gournel *et al.*, 2000).

3.2. Action sur le système respiratoire

Assez peu de nouvelles molécules insecticides organiques de synthèse affectent la chaîne respiratoire. La respiration cellulaire a longtemps été la cible privilégiée des molécules utilisées autour des années 50 et 60. Ainsi, les quinoxalines, comme le chinométhionate, interviennent comme composés multi-sites (Delorme *et al.*, 2002). Plus récemment sont apparus les quinazolines comme le fenazaquin (Magister®) et les pyridazinones comme le pyridabène (Nexter®) qui sont des inhibiteurs du site I de la chaîne mitochondriale (coenzyme Q oxydo-réductase), tandis que l'hydraméthylnone (Oppose®, Maxforce®) est un inhibiteur du complexe cytochrome bc_1 (Bloomquist, 1999). Une autre cible biochimique du système respiratoire cellulaire est la phosphorylation oxydative. Parmi les insecticides découplants, on identifie le dinitro-orthocrésol (DNOC) et plus récemment le pyrrole chlorfenapyr.

3.3. Régulateurs de croissance de l'insecte (RCI)

Plusieurs catégories de composés sont distinguées selon leurs cibles physiologiques :

– les analogues et mimétiques des hormones juvéniles. Ils ont une structure analogue à celles des hormones juvéniles qui sont des sesquiterpènes avec des groupements époxyde et méthyl-ester ou reproduisent les effets physiologiques des hormones juvéniles. Parmi ces composés, le méthoprène (Altosid®, Precor®),

a une structure très proche de l'hormone juvénile III. Le fénoxycarbe (Insegar®) possède un groupe phénoxybenzyl remplaçant la chaîne hydrocarbonée. Ces composés ainsi que le pyriproxyfène (Admiral®, Sumilarv®), le kinoprène (Enstar II®) et l'hydroprène (Gencor®, Biopren BH®) agissent en perturbant la physiologie de la reproduction de l'insecte, son cycle de développement au niveau du développement embryonnaire et de sa métamorphose (Bloomquist, 1999 ; Thacker, 2002) ;

– les inhibiteurs de mue et les déclencheurs de mue (*moulting disruptant*). Le diofénolan (Aware®, Context®), qui interrompt le développement larvaire de l'insecte, appartient à la première catégorie tandis que les agonistes de l'ecdysone se rangent dans la deuxième et déclenchent prématurément la mue de l'animal. Plusieurs insecticides sont actifs sur ce stade physiologique. Les tébufénozide (Confirm®, Mimic LV®) et méthoxyfénozide (Intrepid®, Runner®) sont des diacylhydrazines qui sont très toxiques envers les Lépidoptères. Le second composé est très efficace sur la noctuelle *Helicoverpa zea* ainsi que sur le Plutellidé *Plutella xylostella*, mais n'agit pas sur les insectes bénéfiques (Dhadialla *et al.*, 1998). Deux autres diacylhydrazines l'halofénozide et la chromafénozide, ont été homologuées respectivement en 1997 et 1999 : la première pour le contrôle des Coléoptères et Lépidoptères des gazons et le second pour des Lépidoptères du riz, du thé, du coton, des haricots, des fruits, légumes et arbres forestiers (Tomlin, 2003) ;

– les inhibiteurs de chitine. Les benzoylurées, avec le diflubenzuron (Patron®, Dimilin®) introduit sur le marché dès les années soixante-dix, sont la famille de composés la plus représentative de cette catégorie d'insecticides (Marx, 1977). De nombreuses molécules ont été créées à sa suite au cours des années 80 et 90 : le triflumuron (Alsystin®, Baycidal®), le chlorfluazuron (Atabron®, Jupiter®), l'hexaflumuron (Consult®), le flufénoxuron (Cascade®), le téflubenzuron (Nomolt®, Nobelroc®) ainsi que le lufénuron (Fuoro®, Match®) commercialisé en 1990. Le novaluron (Rimon®), qui provoque des dépôts endocuticulaires anormaux et des mues abortives, et le bistrifluron (Hanaro®), qui contrôle des Homoptères (*Trialeurodes vaporarium* et *Bemisia tabaci*) ainsi que plusieurs Lépidoptères (*Spodoptera exigua*, *Plutella xylostella*), ont été présentés en 2000 à la *Brighton Crop Protection Conference* (Kim *et al.*, 2000). Les benzoylurées sont maintenant largement diversifiés et utilisés. Aussi Ware (1999) s'est étonné qu'à la fin du xx^{e} siècle, seul le diflubenzuron soit homologué aux États-Unis. Cependant, cette homologation a été accordée pour un large éventail d'insectes : chenilles des forêts et du soya, mouches de champignons, spongieuse et charançon du cotonnier.

Il existe, à côté des benzoylurées, d'autres familles chimiques d'insecticides qui agissent sur la synthèse de la chitine. Elles interviennent aussi sur des cibles hormonales (ecdysone) ou sur des médiateurs chimiques comme les prostaglandines. C'est le cas des thiadiazinones (« *thiadiazine-like* ») comme la buprofézine (Applaud®, Maestro®).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Conclusion

Ainsi, depuis le dernier quart du vingtième siècle, on assiste à une évolution marquée dans les matières actives des insecticides organiques de synthèse. Le processus de ré-homologation actuellement en cours en Europe va accentuer le mouvement (tableau 2). En raison de leur non-notification, plusieurs insecticides de la famille des organophosphorés seront retirés de la liste communautaire (COLEACP, 2002), comme c'est déjà le cas en Amérique du Nord (ARLA, 2004). Les professionnels constatent par ailleurs, en comparant le nombre de molécules fongicides et insecticides apparues récemment sur le marché, qu'il est de plus en plus difficile de développer de nouveaux insecticides, peut-être en raison « *des critères toxicologiques et écotoxicologiques drastiques appliqués lors du criblage des nouvelles molécules* » (Michel, 2003b).

Cette évolution s'accompagne également d'une amélioration dans les formes physiques de présentation et d'utilisation des composés insecticides. Les recherches portent sur l'élimination des adjuvants toxiques ou inflammables. Les huiles de pétrole sont remplacées par des huiles végétales, l'hydrosolubilité des principes actifs est privilégiée. Parmi les différentes présentations physiques des formulations phytosanitaires, le développement des poudres mouillables sous forme de sachets hydrosolubles, qui évitent le dégagement de poussières (My, 1995 ; Decoin, 2001), ainsi que la micro-encapsulation de la forme liquide du principe actif (par exemple la cyhalothrine : Dattin, 2001), visent à augmenter la sécurité des utilisateurs.

Tableau 2 ■ Molécules insecticides réinscrites ou interdites dans le processus d'homologation de l'Union européenne à l'automne 2004.

Non inscrites et interdites	En attente	Ré-inscrites
Acéphate	Azinphos méthyl	Alpha-cyperméthrine
Aldicarbe	Chlorpyriphos	Béta-cyfluthrine
Amitraze	Chlorpyriphos méthyl	Cyfluthrine
Azinphos éthyl	Cyperméthrine	Deltaméthrine
Bromopropylate	Endosulfan	Lambda cyhalothrine
Chloméphos	méthamidophos	
DNOC		
Fenthion		
Lindane		
Mévinphos		
Quinalfos		
Parathion éthyl		
Parathion méthyl		
Perméthrine		
Thiométon		
Tralométhrine		

Sources : http://www.agriculture.gouv.fr/spip/ ; circulaires UIPP ; *Index Phytosanitaire* ACTA 2005.

Dans une démarche similaire, des associations de molécules insecticides sont créées afin d'éviter les effets non intentionnels des traitements phytosanitaires sur des organismes non visés. Le Kabuto®, qui est composé d'esfenvalérate et de pyrimicarbe, et dont le but est d'allier une efficacité contre les pucerons à la préservation des insectes auxiliaires (Besnard, 1998) en est l'illustration. L'utilisation de synergistes biodégradables permet aussi de réduire les doses d'insecticides à utiliser.

Actuellement, l'utilisation des insecticides organiques de synthèse (89 % des matières actives en 1998) reste la forme de lutte prépondérante pour protéger les cultures contre les insectes phytoravageurs (Casida et Quisda, 1998). Elle le restera probablement encore longtemps. Toutefois, les efforts qui ont été faits au cours des vingt dernières années pour produire des insecticides organiques de synthèse moins polluants, tout en assurant une production agricole d'un niveau suffisant pour nourrir la population mondiale, soulignent l'importance des démarches mises en œuvre dans le secteur de l'agrochimie pour une meilleure préservation de l'environnement et des écosystèmes.

Remerciements : les auteurs remercient Marie-Claire Delalande et Hervé Quénin, société Calliope SAS-Arysta Lifescience Corp., *Europe Development Department*, pour les informations utiles qu'ils ont communiquées.

Appendice

Nous avons essayé, autant que faire se peut, d'indiquer l'orthographe française des substances actives. L'exercice n'est pas facile. En effet, certaines ne sont pas homologuées ou répertoriées en France, et c'est alors l'écriture anglo-saxonne qui a été choisie. Les modifications apportées portent essentiellement sur les « e » muets de fin de nom ou sur les accents graves ou aigus. De manière générale, nous nous sommes référés à l'orthographe de l'ouvrage de Tomlin (2003), qui indique clairement quand un composé fait l'objet d'une nomenclature en français. Quand l'orthographe française n'y était pas clairement mentionnée, nous avons retenu l'indication de l'*Index phytosanitaire* ACTA (Couteux et Lejeune, 2004 et 2005) qui, de par sa nature, indique l'usage qui prévaut en France dans les milieux professionnels.

Références bibliographiques

Anonyme (1998). DDT fact sheet. *Pesticide News*, **41** :18-20.

Anonyme (2004). Usages essentiels, train à prendre au vol. *Phytoma* **576** : 2.

ARLA (2004). *Réévaluation*. Agence de Réglementation de la Lutte Antiparasitaire. http://www.hc-sc.gc.ca/pmra-arla/francais/reeval/reeval-f.html

Besnard Y. (1998). Kabuto, insecticide grandes cultures, *Phytoma*, **511** : 58-59.

Blais J.R. (1977). Comparative appraisal of insecticidal operations against spruce budworm in Québec during two outbreaks. *Forestry Chronicle*, **53** : 1-6.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Bloomquist J.R. (1999). Pesticides: Chemistries and Characteristics, *Radcliffe National IPM textbook*. http://ipmworl.umn.edu/chapters/bloomq.html

Bohmont B.L. (1990). *The standard pesticide user's guide*. Prentice Hall. Englewood Cliffs. New Jersey.

Brooks G.T. (1974) *Chlorinated insecticides. Vol. II. Biological and environmental aspects.* 3rd ed. CRC Press.

Brooks G.T. (1990). Lindane, *Pesticide News*, 1 : 4

Busvine J.R. (1989). DDT: fifty years for good or ill. *Pesticide Outlook*, **1** : 4-8.

COLEACP (2002). Programme initiative pesticides. http://pesticides.coleacp.org/fr/explication_ma.html

Casida J.E., Quistad G.B. (1998). Golden age of insecticide research : past, present, or future? *Annu Rev Entomol*, **43** : 1-16.

Copping L.G. (2001). *The biopesticide manual*, a world compendium. British Crop Protection Council, Farnham.

Couteux A., Lejeune V. (2004). *Index phytosanitaire ACTA 2004*, Association de coordination technique agricole, Paris.

Couteux A., Lejeune V. (2005). *Index phytosanitaire ACTA 2005*, Association de coordination technique agricole, Paris.

Dajoz R. (1969). *Les insecticides*, Presses Universitaires de France, Paris.

Dhadialla T.S., Carlson G.R., Le D.P. (1998). New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. *Annu Rev Entomol*, **43** : 545-569.

Dattin B. (2001). Karaté avec technologie Zéon, *Phytoma*, **540** : 36-37.

Decoin M. (2001). Nouveautés, surtout fongicides, *Phytoma*, **543** : 22-27.

Decoin M. (2002) Reports pour trois listes et sortie de la quatrième, *Phytoma*, **553** : 38.

Decoin M. (2003). Les nouveaux, les confirmés et les partants, *Phytoma*, **561** : 32-37.

Delorme R., Leroux P., Gaillardon P. (2002). Les insecticides-acaricides, *Phytoma*, **548** : 7-13.

EPA (2004). EPA determines that the chlofenapyr does not meet the requirements for registration; American withdraws application. US Environmental Protection Agency. http///www.epa.gov/opprd001/chlorpenapyr

Firn R. (2003). Strategies for the control of Pest and Diseases.M.730 Lecture 4, University of York, http://www.users.york.ac.uk/

FANPP (2004). Chlorfenapyr (122453-73-0). Fluoride Action Network Pesticide Projet. http://www.fluorideaction.org/pesticides/chlofenapyr-page.htm

Fournier J. (1988). *Chimie des pesticides*, Cultures et techniques, Nantes.

Gournel V., Dupinet J.-P., Strullu E. (2000). La pymétrozine insecticide multicultures. *Phytoma*, **526** : 46-48.

Kim K.S., Chung B.J., Kim H.K. (2000). DBI-3204: a new benzoylphenyl urea insecticide with a particular activity against whitefly. *Brighton Crop Protection Conference – Pests and Diseases*, 41-46.

Lauwerys R. (1990). *Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles*. Masson, Paris.

Leroux P., Delorme R. (1997). La respiration cellulaire : une cible toujours d'actualité pour divers groupes de produits phytosanitaires, *Phytoma*, **494** : 17-23.

Marx J.L. (1977). Chitin synthesis inhibitors: new class of insecticides. *Science* **177** : 1170-1172.

Matsumura F. (1975). *Toxicology of insecticides*. Plenum Press. New York.

McEwen F.L., Stephenson G.R. (1979). *The use and significance of pesticides in the environment*. John Wiley & Sons. New York.

Michel P. (2002). CIRA 2002 : six nouveautés dont deux molécules inédites. *Phytoma*, **555** : 46-48.

Michel P. (2003a). Brighton part à Glasgow. *Phytoma*, **556** : 7-9.

Michel P. (2003b). Fongicides contre insecticides, six contre un. *Phytoma*, **566** : 33-35.

My J. (1993). Les orientations de la recherche de l'industrie phytosanitaire. *Phytoma*, **452** : 46-48.

My J. (1995). Bien connaître les produits phytosanitaires, *Phytoma*, **475** : 33-35.

Nation J.L. (2002). *Insect physiology and biochemistry*. CRC Press. Boca Raton, FA.

OMS (1982). *DDT et dérivés. Critères d'hygiène de l'environnement n° 9*. Organisation Mondiale de la Santé. Genève.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Palumbo J.C. (2001). Review of new insecticides under fields development for desert vegetable and melon production, University of Arizona, College of Agriculture and Life Sciences, Cooperative Extension, Tucson, Arizona.
http://cals.arizona.edu/crops/vegetables/insects/general/reviewinsect.html

Pfeiffer D.G. (2000). Selective insecticides. *In* Rechcigl K.E. and Rechcigl N.A., *Insect Pest Management*. Lewis Publishers, Boca Raton, 131-146.

Riba G., Silvy C. (1989). *Combattre les ravageurs de cultures*, INRA, Paris.

Roberts D. (1999). DDT and the global threat of reemerging malaria. *Pesticide Safety News*, **2** : 4-5.

Tanizawa M., Casida J.E. (2003). Selective toxicity of neonicotinoids attributable to specificity of insect and mammalian nicotinic receptors. *Annu Rev Entomol*, **48** : 339-364.

Thacker J.R.M. (2002). *An introduction to Arthropod Pest Control*. Cambridge University Press, Cambridge.

Tomlin C. (2003). *The Pesticide Manual* (13th ed), British Crop Protection Council Publications, Farhnam.

Van Emden H.F., Service M.W. (2004). *Pest and control vector*. Cambridge University Press, Cambridge.

Von Keyserlingk H.C., Willis R.J. (1992). The GABA-activated Cl- channel in insects as target for insecticide action: a physiological study. *In* Otto D. and Weber B., *Insecticides: mechanism of action and resistance*. Intercept, Andover, 205-236.

Ware G.W. (1991). Fundamentals of pesticides. A self-instruction guide. 3rd edition. Thomson Publishing, Fresno, CA.

Ware G.W. (1999). *An introduction to insecticides*, Radcliffe National IPM textbook, http://ipmworl.umn.edu/chapters/ware.html.

WHO (2000). WHO expert committee on malaria 20th report. Technical report series No. 892. World health Organization. Geneva.

Williams C.M. (1967). Third generation insecticides. *Sci Amer* **217** : 13-17.

Wood A. (2004). Compendium of Pesticide Common names.
http://www.alanwood.net/pesticides/class_pesticides.html

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

2

Modes d'action et sélectivité des fongicides à usage agricole

Pierre Leroux

Les fongicides agricoles permettent de combattre les champignons phytopathogènes qui sont des eucaryotes susceptibles de provoquer des dégâts sur les plantes cultivées et sur les récoltes. Ils représentent environ 30 % du chiffre d'affaires mondial des pesticides qui, actuellement, est de l'ordre de 25 milliards d'euros. Les pertes potentielles provoquées par les maladies fongiques sont comprises selon les cultures entre 10 et 30 % (Oerke, 1996). En dehors de ces effets quantitatifs, les champignons phytopathogènes peuvent affecter la qualité des productions végétales par la présence de mycotoxines ou par des altérations comme la casse oxydasique des vins provoquée par les laccases de *Botrytis cinerea*.

Les champignons phytopathogènes ne constituent pas une entité phylogénétique mais forment un groupe hétérogène d'eucaryotes appartenant à trois règnes différents ; ils ont toutefois en commun leur hétérotrophie. Les plus nombreux appartiennent au règne des « vrais champignons » (syn : eumycètes ou *Fungi*) et plus particulièrement à deux phylums : ascomycètes (oïdiums, tavelures, septorioses, fusarioses, monilioses, pyriculariose) et basidiomycètes (caries, charbons, rouilles, rhizoctones). Quant aux champignons imparfaits (syn : deutéromycètes), la plupart semblent correspondre à des ascomycètes ayant perdu leur capacité de reproduction sexuée. Un second groupe correspond à des agents responsables de maladies foliaires majeures que sont les mildious ; certains peuvent également attaquer les systèmes racinaires (*Pythium*, *Phytophthora*). Ces micro-organismes appartenant au phylum des oomycètes, sont classés dans le règne des chromistes (syn : hétérocontes) qui renferme principalement des algues. Enfin, il existe un groupe hétérogène de champignons phytopathogènes (de moindre importance que les deux groupes précédents) ayant en commun un mode de vie amiboïde et qui attaquent les parties souterraines des plantes (*Plasmodiophora*, *Polymyxa*, *Spongospora*).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

La lutte chimique contre ces protistes ou protozoaires fongiformes est difficile (Chabasse, 1998 ; Leroux, 2002 ; Lepoivre, 2003).

Après pulvérisation sur une plante, les fongicides dits de surface, sont fortement retenus au niveau des cuticules et ils exercent une action essentiellement préventive vis-à-vis des champignons (avant que ceux-ci aient infecté les tissus végétaux). Quant aux produits curatifs qui sont susceptibles de bloquer les champignons pendant leurs phases d'incubation, ils sont soit pénétrants soit systémiques. Dans ce dernier cas, il y a possibilité de migration *via* les tissus conducteurs et selon que le transfert s'effectue par le xylème, le phloème ou les deux systèmes, les qualificatifs d'apoplastique, symplastique ou ambimobile sont applicables. En outre, au niveau d'un limbe foliaire, le transfert d'une face vers l'autre peut induire un effet translaminaire des fongicides. Enfin, une redistribution, par voie gazeuse à l'extérieur des tissus végétaux contribue à augmenter la persistance d'action de certaines molécules ; il convient d'indiquer que ce phénomène concerne généralement des fongicides peu volatiles (Lyr, 1995).

En pratique, le champ ou spectre d'activité d'un fongicide correspond aux champignons phytopathogènes susceptibles d'être contrôlés : les espèces peu ou pas sensibles sont naturellement résistantes. Quant à la résistance acquise elle implique un changement génétique chez une espèce sensible, entraînant une réduction d'activité au fongicide. Si les niveaux de résistance (exprimés notamment par le *ratio* entre les concentrations inhibant de 50 % le développement d'une souche résistante et d'une souche sensible) sont suffisamment importants et la fréquence des souches résistantes suffisamment élevée, la résistance en pratique a toute chance d'être diagnostiquée (Leroux, 2002). Chez les champignons phytopathogènes, ce phénomène est souvent déterminé par une réduction d'affinité des fongicides pour leurs cibles et entraîne généralement une résistance croisée (positive) entre ceux qui ont le même mode d'action biochimique. Lorsque le même facteur génétique confère simultanément une résistance à une matière active et une hypersensibilité à une autre, le phénomène est qualifié de résistance croisée négative (anonyme, 1988 ; Leroux, 2003a).

Dans ce chapitre, nous traiterons des principales classes de fongicides agricoles agissant directement sur les champignons phytopathogènes. Leurs potentialités et leurs modes d'action biochimiques seront présentés, ainsi que les conséquences en termes de sélectivité et de résistance acquise. Nous évoquerons également le cas de quelques fongicides dont l'efficacité pratique est conditionnée par une stimulation des réactions de défense des plantes contre les champignons.

1. *Fongicides affectant les processus respiratoires*

D'une manière générale, au sein des cellules d'eucaryotes les processus respiratoires, correspondant au catabolisme oxydatif de molécules organiques comme les glucides ou les lipides, génèrent de l'énergie sous forme d'ATP (adénosine triphosphate). Les phases terminales s'opèrent *via* une chaîne respiratoire mito-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

chondriale qui est constituée d'une série de transporteurs d'électrons (flavines, quinones, cytochromes). Certains comme le coenzyme Q ou le cytochrome c sont relativement mobiles alors que d'autres sont inclus dans des complexes protéiques qui ont été séparés en quatre unités fonctionnelles (complexes I, II, III et IV). Enfin, un dernier complexe protéique correspond à l'ATP synthase (figure 1).

De nombreuses molécules (représentant en terme de chiffre d'affaires environ un tiers du marché mondial des fongicides) affectent les processus respiratoires. Toutes sont capables d'inhiber la germination des spores des champignons et aussi d'immobiliser les zoospores des oomycètes. Par voie de conséquence, elles se caractérisent par une forte activité préventive. Les plus anciennement utilisées sont des multi-sites ou multi-cibles, qui interagissent avec plusieurs enzymes et coenzymes respiratoires. À l'inverse, d'autres matières actives, mises au point plus récemment ont des effets spécifiques au niveau des complexes mitochondriaux II et III. Enfin, quelques fongicides interfèrent avec la formation ou le transport de l'ATP (figure 1 ; Leroux et Delorme, 1997 ; Leroux *et al.*, 2002a).

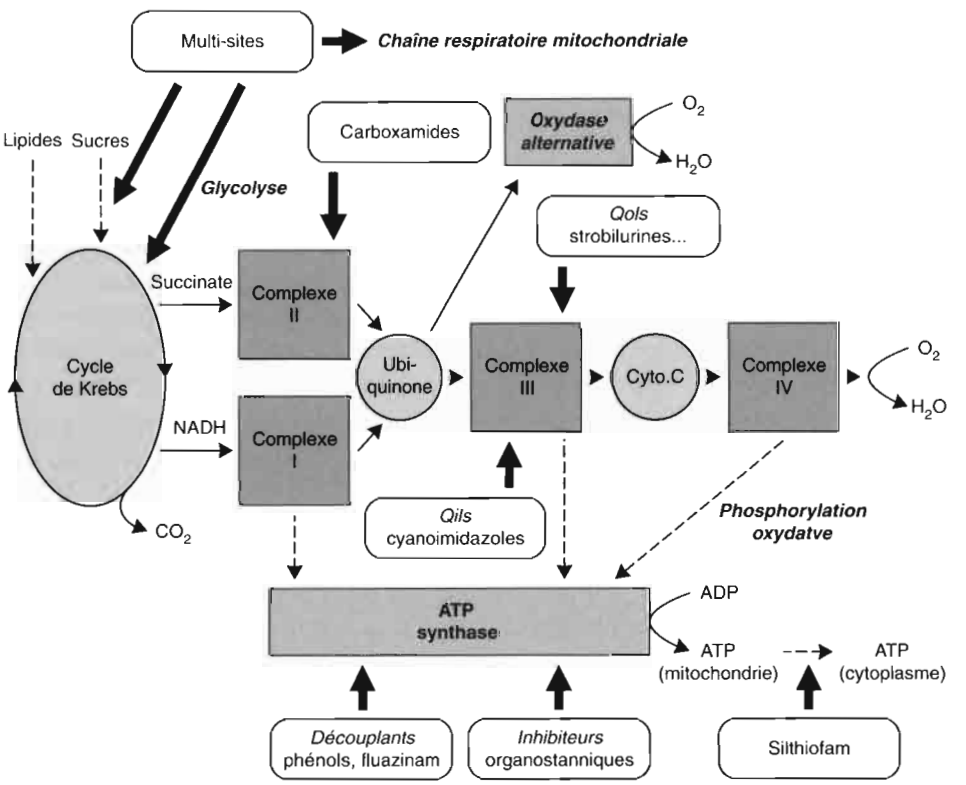


Figure 1 ■ Cibles des fongicides affectant les processus respiratoires.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1.1. Multi-sites

Les fongicides multi-sites les plus anciens sont des produits minéraux à base de cuivre ou de soufre élémentaire. Ce dernier utilisé en poudrage ou en pulvérisation sous forme micronisée mouillable est particulièrement efficace contre les oïdiums à des doses allant de 5 à 20 $kg.ha^{-1}$; des actions complémentaires sont observées sur d'autres ascomycètes. Quant aux produits cupriques sous forme de sels peu hydrosolubles (bouillie bordelaise, hydroxyde d'oxychlorure tétracuivrique), ils présentent une bonne activité préventive contre les mildious à des doses comprises entre 1,5 et 3 kg de cuivre métal par hectare ; ils sont également efficaces contre des ascomycètes et des phytobactérioses. L'histoire des fongicides cupriques et plus précisément celle de la bouillie bordelaise remonte à la fin du XIX^{e} siècle, au moment où le mildiou de la vigne a été introduit en France. C'est à P. Millardet que revient le mérite d'avoir pressenti l'intérêt des sels de cuivre contre cette maladie, après avoir observé l'efficacité d'une « bouillie médocaine » utilisée par les vignerons, le long des chemins, pour empêcher la maraude. Après de nombreux essais, il contribua à la mise au point de la bouillie bordelaise qui se prépare en versant du lait de chaux dans une solution de sulfate de cuivre (la formule classique comporte 2 % de ce sel cuprique soit 0,5 % de cuivre métal). Les composés issus de ce mélange sont principalement le gypse ($CaSO_4$, $2H_2O$) et la brochantite ($Cu_4(OH_6)SO_4$). Les fongicides minéraux occupent une place prépondérante en agriculture biologique, mais les risques environnementaux liés au cuivre risquent de remettre en question l'utilisation des fongicides cupriques (Brun et Geoffrion, 2003).

Après la Seconde Guerre mondiale, la montée en puissance de la chimie organique de synthèse a généré plusieurs classes de fongicides multi-sites dont notamment des dithiocarbamates (mancozèbe, métirame, thirame) et des N-chloroalkylmercaptans (captane, folpel, tolyfluanide). Ils s'utilisent depuis plusieurs décennies en pulvérisation des parties aériennes des plantes (1 à 2 kg de matière active par hectare) ainsi qu'en traitements de semences. Ils présentent un large champ d'activité incluant des eumycètes et des oomycètes. D'autres matières actives, comme le chlorothalonil (phtalonitrile), le dithianon (quinone) ou la doguadine (guanidine) se classent également parmi les multi-sites organiques (figure 2 ; Leroux et Delorme, 1997 ; Lyr, 1995). Si une grande diversité chimique existe parmi les fongicides multi-sites, par contre, leur point commun réside dans la capacité à interagir avec de nombreux constituants cellulaires et en particulier ceux possédant des groupements thiols. Ainsi, au niveau du catabolisme glucidique, ils sont capables d'inactiver des enzymes de la glycolyse (hexokinase, pyruvate déshydrogénase), du cycle de Krebs (fumarase, cétoglutarate déshydrogénase) et de la chaîne respiratoire (complexes II et III). D'autres processus et structures cellulaires sont susceptibles d'être affectés ; ainsi les produits cupriques et les guanidines altèrent la perméabilité sélective des membranes cytoplasmiques. Cette forte réactivité, non sélective des fongicides multi-sites les expose à des effets indésirables sur un grand nombre d'organismes, incluant les plantes cultivées, des animaux et aussi l'homme. Ceci

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

est d'ailleurs à l'origine du retrait de certains d'entre eux comme les organomercuriques. Pour les fongicides multi-sites organiques de synthèse encore utilisés, leur absence de phytotoxicité est liée au fait qu'ils sont immobilisés au niveau des cuticules (ce sont des fongicides de surface). Quant à leur faible toxicité pour les mammifères, elle résulte notamment de leur interaction avec le glutathion, qui conduit à leur dégradation.

En pratique, comme nous l'avons indiqué précédemment,ces fongicides multi-sites s'utilisent à des doses élevées. De plus, leur faible persistance d'action nécessite des traitements fréquents et un renouvellement en cas de pluie. En revanche, la quasi-absence de résistance acquise chez les champignons phytopathogènes permet à ces fongicides multi-sites d'être des partenaires importants dans l'élaboration de stratégies anti-résistance. Ainsi, sur le mildiou de la vigne ils sont systématiquement associés aux fongicides uni-sites (Leroux, 2003a).

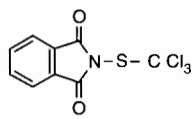
1.2. Inhibiteurs du complexe mitochondrial II

Le complexe II ou succinate déshydrogénase est le seul système enzymatique du cycle de Krebs lié à la membrane cytoplasmique. Il est composé de quatre protéines toutes codées par des gènes nucléaires. L'une d'entre elles est une flavoprotéine (CII_1) qui se lie au succinate tandis qu'une protéine fer-soufre (CII_2) comporte un site de fixation du coenzyme Q. Quant aux deux autres protéines (CII_3, CII_4), elles contribuent à l'ancrage du complexe II dans la membrane mitochondriale.

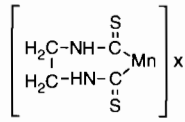
Les fongicides agricoles inhibant spécifiquement le complexe II se caractérisent par des structures chimiques proches (cis-crotonanilides), même si elles sont rassemblées sous le vocable très général de carboxamides (Leroux, 2002). Les premières matières actives mises au point dans les années 1960 ont été la carboxine et l'oxycarboxine (figure 2). Elles se caractérisaient d'une part par leur activité systémique (apoplastique) et d'autre part par leur efficacité uniquement vis-à-vis de basidiomycètes (particulièrement charbons pour la carboxine et rouilles pour l'oxycarboxine). Plus récemment, le mépronil et le flutolanil ont été développés contre des rhizoctones (notamment sur le riz). Enfin, la toute dernière carboxamide mise au point est le boscalid (figure 2) qui a la particularité d'avoir un spectre d'action qui, outre les basidiomycètes, s'étend à de nombreux ascomycètes et deutéromycètes (oïdiums, *Botrytis*, *Sclerotinia*, *Alternaria*).

Sur un plan biochimique ces carboxamides s'intercalent entre les protéines CII_2 et CII_3 du complexe II, ce qui provoque un arrêt du transfert des électrons du succinate vers le coenzyme Q. Quelques cas de résistance ont été rapportés au champ (charbon de l'orge, rouille blanche du chrysanthème) et aussi en laboratoire (charbon du maïs) ; dans ce dernier cas, le phénomène est lié au remplacement d'une histidine par une leucine ou une tyrosine en position 257 au sein d'une zone du CII_2 riche en cystéine (Lyr, 1995 ; Koller, 1992).

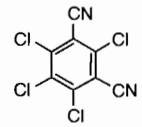
© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit



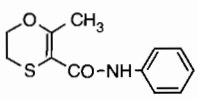
Folpel



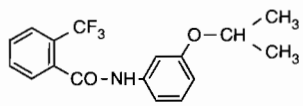
Manèbe



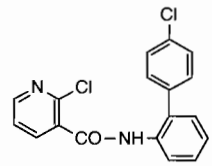
Chlorothalonil



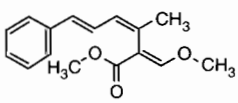
Carboxine



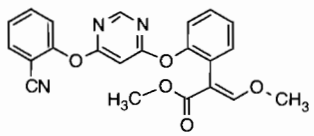
Flutolanil



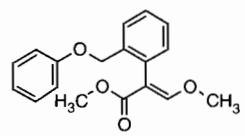
Boscalid



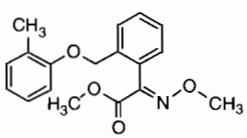
Strobilurine A



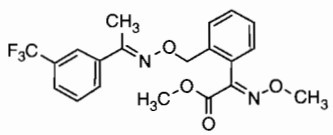
Azoxystrobine



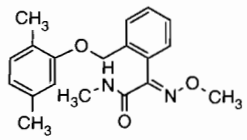
Picoxystrobine



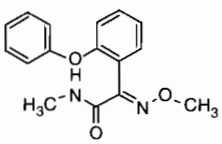
Krésoxim-méthyl



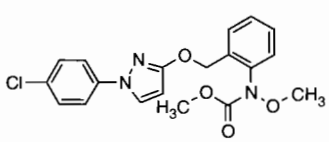
Trifloxystrobine



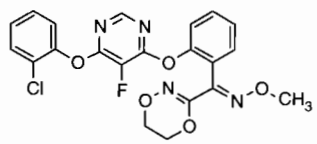
Dimoxystrobine



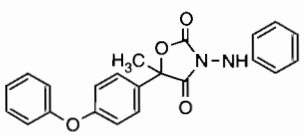
Métominostrobine



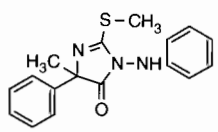
Pyraclostrobine



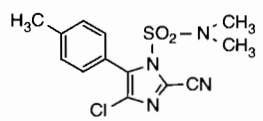
Fluoxastrobine



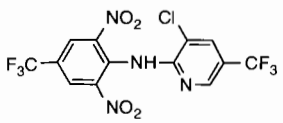
Famoxadone



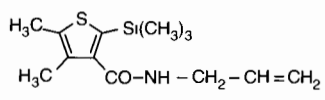
Fénamidone



Cyazofamide



Fluazinam



Silthiofam

Figure 2 ■ Structures de fongicides agissant sur les processus respiratoires.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1.3. Inhibiteurs du complexe mitochondrial III

Le complexe III ou cytochrome bc1 assure au sein de la chaîne respiratoire mitochondriale, le transfert des électrons du coenzyme Q au cytochrome c. Il comporte une dizaine de protéines dont le cytochrome b qui a la particularité d'être codé par un gène mitochondrial. Par ailleurs, le cytochrome b comporte deux sites de fixation du coenzyme Q, l'un situé sur la face interne de la membrane mitochondriale (Qi) permet la réduction de l'ubiquinone, alors que l'autre situé sur la face externe (Qo) entraîne l'oxydation de l'ubiquinol. Selon que les inhibiteurs du complexe mitochondrial III se fixent près de ces sites, ils sont respectivement dénommés (par les Anglo-Saxons) QiI et QoI.

Le premier QiI utilisé en agriculture a été l'antimycine A, mais en raison de son manque de sélectivité il a été abandonné. Très récemment, un nouveau type de QiI a été introduit, il s'agit de la cyazofamide (figure 2), qui est particulièrement efficace contre divers mildious à des doses inférieures à 100 $g.ha^{-1}$. L'inhibition du complexe III des oomycètes résulterait d'une liaison covalente de la sulfonamide de ce cyanoimidazole avec le cytochrome b. À ce jour, aucune souche fongique résistante à la cyazofamide n'a été décelée et cette matière active demeure efficace vis-à-vis de celles qui résistent aux QoI (Leroux *et al.*, 2002a).

Depuis le milieu des années 90, une nouvelle famille de fongicides polyvalents s'est implantée ; il s'agit des strobilurines (figure 2). Cette dénomination indique que ces molécules organiques de synthèse sont des analogues structuraux de substances naturelles (strobilurine A) produites par divers champignons lignicoles rencontrés en forêt (dont *Strobilurus tenacellus*). Les strobilurines naturelles ont été découvertes par des chercheurs tchèques à la fin des années 60 et leur mode d'action (ce sont des QoI) a été élucidé une dizaine d'années plus tard par des universitaires allemands. Du fait de leur instabilité à la lumière et/ou de leur volatilité, ces strobilurines naturelles n'ont pu être utilisées en agriculture. Grâce à la synthèse de nombreux analogues et notamment avec le remplacement du pont (Z)-oléfinique par un cycle benzénique, des fongicides agricoles ont été élaborés. Ainsi, l'azoxystrobine et la pycoxystrobine renferment le même toxophore que les strobilurines naturelles, c'est-à-dire un méthyl β-méthoxyacrylabe. Toutefois, une flexibilité existe autour de cette structure puisque parmi les strobilurines à usage agricole il y a des méthyl-méthoxyimino-acétates (krésoxim-méthyl, trifloxystrobine), des méthyl-méthoxycarbamates (pyraclostrobine) et des méthyl-méthoxyimino-acétamides (métominostrobine, dimoxystrobine) ; la fluoxastrobine qui comporte une dihydro-dioxazine est proche des méthyl-méthoxyimino-acétamides (figure 2). Ces strobilurines sont efficaces sur de nombreux basidiomycètes, ascomycètes et oomycètes. Cette polyvalence ainsi que leur excellente action préventive les rapprochent des fongicides multi-sites avec cependant pour ces strobilurines des doses d'utilisation environ 10 fois plus faibles (50 à 250 $g.ha^{-1}$). De plus, toutes présentent des transferts translaminaires et certaines peuvent être véhiculées par le xylème (azoxystrobine, pycoxystrobine, métominostrobine, dimoxystrobine, fluoxastrobine) ou être redistribuées à l'extérieur en phase vapeur (krésoxim-méthyl,

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

trifloxystrobine, picoxystrobine). Ces diverses propriétés favorisent la bonne persistance d'action des strobilurines et les activités curatives de certaines d'entre elles. Outre leur efficacité contre les maladies fongiques, les strobilurines semblent posséder des effets physiologiques sur les plantes, se traduisant notamment sur les céréales, par un maintien de la coloration verte du feuillage. Pour certains, cette action anti-sénescence résulterait d'effets des strobilurines sur la biosynthèse de phytohormones ainsi que sur le métabolisme azoté des plantes. Pour d'autres, les strobilurines, en éliminant à la surface des feuilles de nombreux micro-organismes (phytopathogènes ou non), limitent l'élicitation de réactions de défense des plantes (fortement consommatrices d'énergie et responsables par voie de conséquence d'une sénescence plus rapide) (Bartlett *et al.*, 2002).

À côté de ces strobilurines, deux autres inhibiteurs du complexe III, de type QoI sont actuellement développés en agriculture. Il s'agit d'une oxazolidinedione, la famoxadone et d'une imidazolinone, la fénamidone (figure 2). Ces deux fongicides sont particulièrement efficaces contre les mildious et comme les strobilurines : ils présentent une forte action préventive et une longue persistance d'action ; ils s'utilisent à des doses comprises entre 50 et 150 $g.ha^{-1}$ (Leroux *et al.*, 2002a).

Au bout de quelques années d'utilisation, l'ensemble des QoI se trouve confronté à des résistances acquises. Ce phénomène d'abord constaté pour des oïdiums et des mildious touche également l'anthracnose du bananier, la septoriose du blé et la tavelure du pommier. Dans la plupart des cas, chez le cytochrome b, le remplacement en position 143 d'une glycine par une alanine confère une très forte résistance à l'ensemble des QoI. Chez certains basidiomycètes producteurs de strobilurines naturelles, la présence d'une alanine en 143 pourrait expliquer en partie leur résistance naturelle aux QoI, sachant toutefois que ce serait surtout la présence d'une isoleucine en 127 (au lieu d'une thréonine chez les organismes sensibles) qui conditionnerait ce phénomène. Par contre, chez deux pathogènes des gazons (*Pyricularia grisea* et *Pythium aphanidermatum*), c'est le remplacement d'une phénylalanine par une leucine en position 129 qui détermine la résistance acquise (Gisi *et al.*, 2002). Par ailleurs chez *Venturia inaequalis,* l'agent de la tavelure du pommier, certaines souches ont la capacité d'hydrolyser l'ester méthylique de quelques strobilurines (principalement le krésoxim-méthyl). Ce mécanisme de détoxification pourrait également expliquer la faible toxicité des strobilurines chez de nombreux organismes non-cibles, notamment des vertébrés. Il convient toutefois de souligner que les organismes aquatiques présentent une forte sensibilité aux strobilurines, qui croît avec leur lipophilie (Bartlett *et al.*, 2002). Quant à l'augmentation de l'activité de l'oxydase alternative (figure 1) qui a été décrite comme mécanisme de résistance *in vitro* aux QoI, elle n'entraîne pas de résistance *in vivo* (Wood et Hollomon, 2003).

1.4. Fongicides affectant la biodisponibilité d'ATP

Au niveau des mitochondries, la phosphorylation oxydative permet de générer de l'ATP par l'intermédiaire d'une ATP synthase. Le fonctionnement de cet enzyme

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

est couplé avec les réactions d'oxydoréductions se produisant au sein de la chaîne respiratoire et aussi avec le transfert de protons de l'intérieur vers l'extérieur des membranes mitochondriales internes.

1.4.1. Inhibiteurs de la phosphorylation oxydative

Dans le domaine phytosanitaire, le groupe le plus important d'inhibiteurs de la phosphorylation oxydative est constitué par les organostanniques qui ont des propriétés fongicides ou acaricides. Ainsi, le fentine-acétate et le fentine-hydroxyde sont des fongicides de surface actifs vis-à-vis d'ascomycètes et d'oomycètes. Du fait de leur manque de sélectivité, l'avenir de ces triphénylétains est incertain. Le seul cas de résistance chez les champignons concerne la cercosporiose de la betterave ; la résistance croisée entre ces organostanniques et l'oligomycine suggère une modification du facteur Fo de l'ATP synthase (Leroux et Delorme, 1997).

1.4.2. Découplants

Les fongicides de ce type sont des découplants protonophores susceptibles de perméabiliser les membranes mitochondriales aux protons. Ces protonophores comportent une fonction acide faible fournie soit par un groupe hydroxyle pour le dinocap ou par une amine secondaire pour le fluazinam. Le dinocap, appartient à la famille des dinitrophénols dont certains sont des herbicides (dinosèbe, dinoterbe). En fait ce fongicide anti-oïdium est un ester lipophile qui est piégé par la cuticule des plantes mais qui, dans les cellules fongiques, subit une hydrolyse libérant la fonction phénol indispensable à l'effet découplant. Quant au fluazinam (figure 2), c'est une pyridinamine qui agit préventivement contre divers ascomycètes et oomycètes. La faible toxicité aiguë du fluazinam pour les vertébrés, comparativement aux dinitrophénols, pourrait s'expliquer par sa rapide détoxification par le glutathion (Guo *et al.*, 1991). Aucun cas de résistance n'a été observé avec le dinocap, alors que récemment des souches de *Botrytis cinerea* résistantes au fluazinam ont été décelées au Japon (Leroux *et al.*, 2002a).

1.4.3. Le silthiofam

Le silthiofam (figure 2) est une silyamide qui possède une analogie structurale avec les carboxamides inhibitrices au complexe II. Toutefois, ce fongicide a la particularité d'être uniquement efficace vis-à-vis du piétin échaudage du blé provoqué par *Gaueumannomyces graminis* var. *tritici*. Il n'a pas d'activité sur la variété *avenae* et même, en laboratoire, certains isolats de la variété *tritici* semblent naturellement résistants. Il a été montré que le silthiofam empêchait le transfert de l'ATP des mitochondries vers le cytoplasme (Joseph-Horne *et al.*, 2000).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

2. *Inhibiteurs de la biosynthèse des stérols*

Les stérols sont largement distribués chez les eucaryotes. Ce sont notamment le cholestérol chez les vertébrés, le sitostérol ou le stigmastérol chez les végétaux supérieurs et l'ergostérol chez de nombreux champignons. La plupart des oomycètes, comme d'ailleurs les insectes, ne synthétisent pas ces dérivés isopréniques. Leur biosynthèse s'effectue dans le cytoplasme et les phases terminales (à partir du squalène) sont catalysées par des enzymes microsomales. Ce sont des composants essentiels des membranes cellulaires dont ils régulent la fluidité et les enzymes qu'elles renferment, notamment les chitines synthases chez les champignons. Par ailleurs chez ces organismes, il est probable qu'une faible fraction d'ergostérol intracellulaire intervienne dans la régulation des cycles cellulaires. Dans ces conditions, les IBS (inhibiteurs de la biosynthèse des stérols), SBI pour les Anglo-Saxons, sont susceptibles d'inhiber l'élongation des hyphes mycéliens. Par voie de conséquence, dans le domaine agricole, ils peuvent présenter des activités curatives vis-à-vis des eumycètes. Actuellement, les IBS à usages agricoles se répartissent en quatre classes de mode d'action dont les cibles sont indiquées dans la figure 3.

2.1. Inhibiteurs de la squalène époxydase

Les inhibiteurs de la squalène époxydase sont principalement utilisés dans le domaine médical ; ils appartiennent à deux familles chimiques, les thiocarbamates (tolnaftate, tolciclate) et les allylamines (naftifine, terbinafine). Il a été montré qu'à des concentrations très faibles ils inhibent de façon non compétitive les squalènes époxydases fongiques, alors que celles de mammifères ne sont affectées (inhibition compétitive) qu'à de très fortes concentrations. Quant au pyributicarbe, c'est un thiocarbamate uniquement développé au Japon sur le riz, à la fois comme herbicide et fongicide (figure 4 ; Koller, 1992 ; Leroux *et al.*, 2002a).

2.2. Inhibiteurs de la 14α-déméthylation des stérols

Ce groupe d'inhibiteurs de la biosynthèse des stérols dénommé IDM (DMI pour les Anglo-Saxons) est très largement utilisé en agriculture (environ 25 % du marché des fongicides) et en médecine. Ces IDM, introduits il y a une trentaine d'années, renferment un hétérocycle qui peut être un imidazole (prochloraze), une pyrimidine (fénarimol), une pyridine (pyrifénox) ou un triazole (époxyconazole, flusilazole, tébuconazole, triadiménol) ; le plus récent comporte une triazolinethione, il s'agit du prothioconazole (figure 4). Ces fongicides qui sont pénétrants ou systémiques (apoplastiques) ont en commun un large spectre d'activité et un bon effet curatif. Ainsi, avec des doses comprises entre 100 et 300 g.ha^{-1}, ces IDM assurent une protection des céréales vis-à-vis de l'ensemble des maladies fongiques.

La 14α-déméthylation des stérols implique une mono oxygénase à cytochrome P450 qui catalyse trois oxydations successives du C-14 méthyle de l'éburicol

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

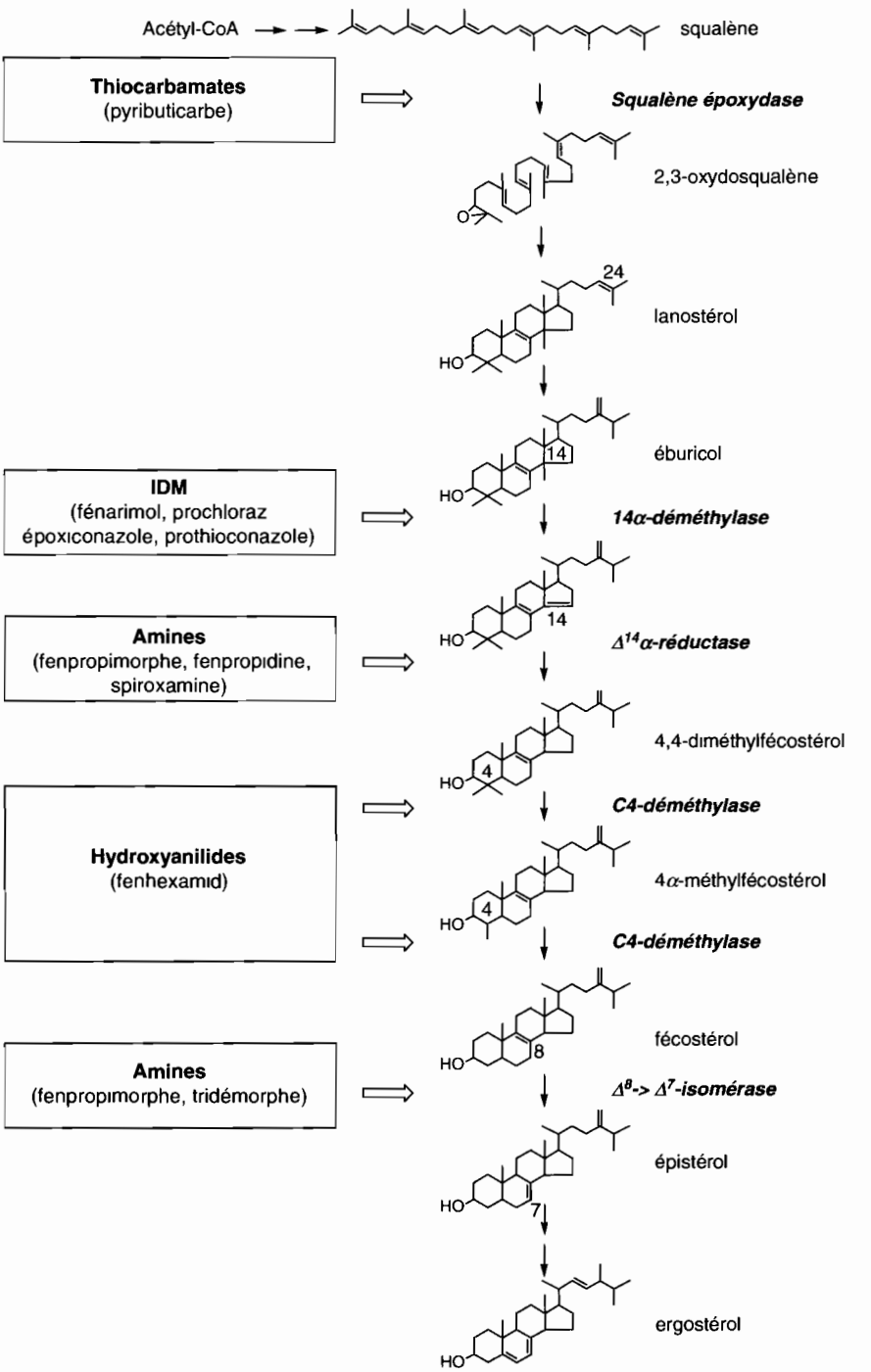


Figure 3 ■ Cibles de fongicides inhibant la biosynthèse des stérols (IBS).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

avant son élimination. Les IDM forment un complexe de type II avec le cytochrome P450 qui résulte de la liaison d'une paire d'électrons non liants d'un atome d'azote de l'hétérocycle du fongicide avec le fer hémique. Outre ce ligand, il existe également des interactions de l'IDM avec le site de fixation du substrat stérolique (éburicol) sur l'apoprotéine. Étant donné que les enzymes à cytochrome P450 sont ubiquistes, des effets secondaires sont attendus. Ainsi, la phytoxicité de certains IDM a pu être corrélée avec une inhibition de la kaurène oxydase, une enzyme à cytochrome impliqué dans la biosynthèse de gibbérellines. En se basant sur ces effets, des analogues structuraux des IDM ont été développés comme régulateurs de croissance des plantes (flurpirimidol, paclobutrazole) (Lyr, 1995).

La résistance acquise aux IDM a été signalée tant dans l'agriculture que dans le secteur médical. Dans de nombreux cas, la résistance se développe progressivement suggérant un déterminisme polygénique. En outre, si parfois des baisses importantes d'efficacité sont observées (tavelure du pommier, piétin-verse des céréales), dans d'autres situations les réductions d'efficacité sont modérées et ne concernent pas tous les IDM (septoriose du blé). Plusieurs mécanismes de résistance ont été identifiés, notamment des mutations ponctuelles du gène codant pour la 14α-déméthylase. Ainsi, en position 136 le remplacement d'une phénylalanine par une tyrosine entraîne chez des oïdiums une résistance forte à quelques IDM dont le triadiménol, alors que, dans le domaine médical, chez *Candida albicans* la présence d'une histidine induit de hauts niveaux de résistance à tous les IDM. Chez *Verticillium inaequalis* et *Penicillium digitatum*, des modifications dans la partie promotrice du gène de la 14α-déméthylase entraînent une surexpression de cet enzyme. Enfin, un mécanisme d'excrétion accrue, faisant intervenir des transporteurs à ABC (ATP *binding cassette*) est susceptible d'entraîner de faibles résistances aux IDM (et à d'autres fongicides) chez certains champignons phytopathogènes ; les répercussions dans le domaine médical sont plus importantes (Sierotzki et Gisi, 2003).

2.3. Inhibiteurs de la Δ14-réduction et/ou de la Δ8 → Δ7-isomérisation des stérols

Cette classe d'IBS, est constituée de matières actives comportant une fonction amine qui est protonée à des pH biologiques. Chez les plus anciennes, cette amine est incluse dans un hétérocycle pouvant être une morpholine (fenpropimorphe, tridémorphe) ou une pipéridine (fenpropidine). Sur céréales, ces fongicides présentent des activités voisines des IDM, avec cependant une spécificité plus marquée vis-à-vis des oïdiums. Leur phytoxicité sur dicotylédones a limité leur utilisation sur d'autres cultures, notamment la vigne. Mais récemment, une amine non cyclique, la spiroxamine, est développée à la fois sur vigne et céréales (figure 4 ; Leroux *et al.*, 2002a).

La Δ14-réductase et la Δ8 → Δ7-isomérase, les deux enzymes cibles de ces amines fongicides, ont en commun la capacité de déclencher une attaque électrophile par un proton sur un carbone nucléophile du substrat, conduisant à la formation

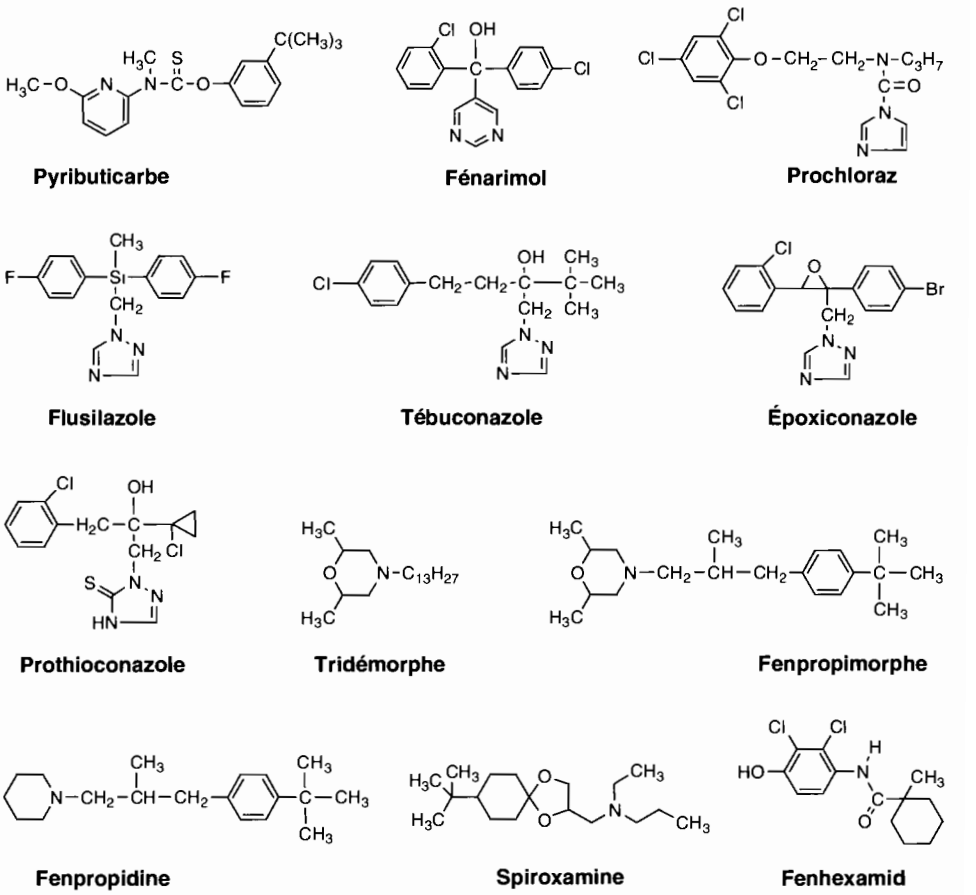


Figure 4 ■ Structures de fongicides inhibant la biosynthèse des stérols.

des stérols à carbocations (en position 14 ou 8). Dans ces conditions, les fongicides sous leur forme ammonium, se comportent comme des analogues des intermédiaires stéroliques à haute énergie (Koller, 1992). Le tridémorphe est principalement actif sur le $\Delta 8 \rightarrow \Delta 7$-isomérase, alors que la fongitoxicité du fenpropimorphe, de la fenpropidine et de la spiroxamine semble être liée à l'inhibition de la $\Delta 14$-réductase. Des souches d'oïdium du blé faiblement résistantes à ces trois dernières matières actives ont été décelées.

2.4. Inhibiteurs de la C4-déméthylation des stérols

Le fenhexamid (figure 4) est une hydroxyanilide qui est utilisée depuis 2000 contre la pourriture grise. Bien que comme les autres IBS, elle affecte l'élongation des filaments germinatifs et des hyphes mycéliens, son activité *in vivo* semble être essentiellement préventive. Elle ne présente pas non plus un large spectre d'activité, puisqu'elle n'est efficace que sur *B. cinerea* et quelques espèces voisines

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

(genres *Monilinia, Sclerotinia*). Le fenhexamid induit la formation de stérones qui résulte de l'inhibition de la 3-céto-réductase impliquée dans les C4-déméthylation des stérols. La spécificité du fenhexamid semble liée à des différences de détoxification et/ou de sensibilité de l'enzyme cible (Debieu *et al.*, 2001). Par ailleurs, avant l'utilisation de cette hydroxyanilide, des souches de *B. cinerea* à sensibilité réduite ont été détectées au champ. En fait, elles présentent des caractéristiques morphologiques, biologiques et génétiques particulières, indiquant qu'elles constituent une entité spécifique que nous avons dénommée *Botrytis pseudocinerea*. Il semble toutefois qu'en pratique les souches de ce type soient correctement maîtrisées par le fenhexamid (Leroux *et al.*, 2002b et c).

3. *Fongicides anti-microtubules*

Les microtubules sont des constituants majeurs du cytosquelette et du fuseau achromatique. Chez les champignons, les substances interférant avec la formation et le fonctionnement de ces microtubules entraînent un arrêt de l'élongation des hyphes et induit d'importantes déformations. L'un des composants majeurs de ces microtubules est la tubuline, un hétérodimère protéique constitué de deux sous-unités α et β. Il semble que la plupart des fongicides anti-microtubules actuels ont la capacité de se fixer sur la β-tubuline.

3.1. Benzimidazoles et thiophanates

Le carbendazime (figure 5) et ses précurseurs le bénomyl et le thiophanate-méthyl ainsi que le thiabendazole, développés à la fin des années 60, ont été les premiers fongicides systémiques (apoplastiques) polyvalents et doués d'une activité curative. Ils ne sont toutefois pas efficaces sur les oomycètes et certains deutéromycètes (*Alternaria, Helminthosporium*). Le carbendazime se fixe sur la β-tubuline des ascomycètes et basidiomycètes, mais son interaction est faible avec celle des oomycètes, des plantes ou des vertébrés. Il semble que c'est la présence d'une phénylalanine en position 200 qui soit déterminante pour l'interaction carbendazime/β-tubuline fongique. À noter en revanche que le nocodazole (figure 5), une molécule voisine du carbendazime, présente une activité anti-tumorale, liée à sa forte interaction avec les β-tubulines de mammifères. Ces observations prouvent que, malgré les fortes homologies entre les β-tubulines chez les eucaryotes, il est possible de développer des anti-microtubules sélectifs. L'utilisation agricole des benzimidazoles a été compromise par la sélection de souches résistantes chez de nombreux champignons phytopathogènes. Cette résistance acquise est généralement déterminée par des mutations dans les codons 198 et 200 du gène de la β-tubuline. Ainsi, en position 200, la tyrosine (également trouvée chez des organismes naturellement résistants au carbendazime) remplace la phénylalanine. Bien qu'en position 198 le glutamate soit conservé chez les eucaryotes, plusieurs substitutions s'observent chez des souches fongiques résistantes aux benzimidazoles ;

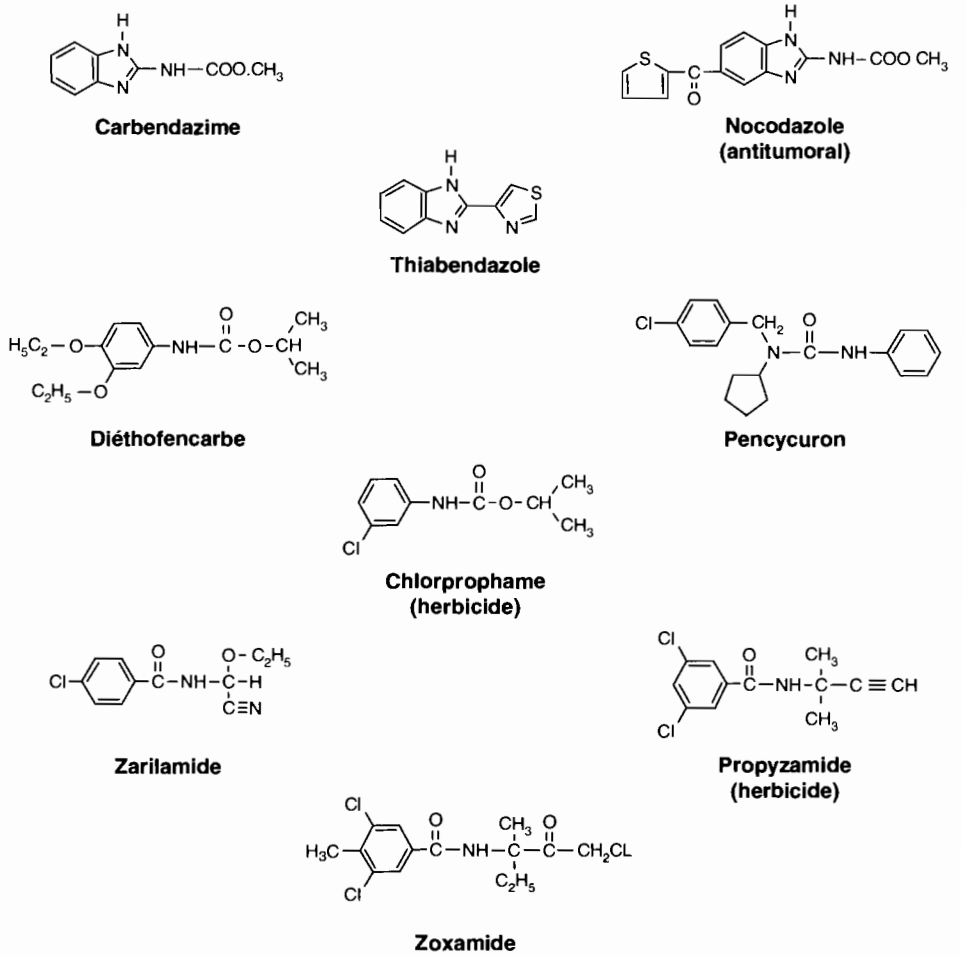


Figure 5 ■ Structures de molécules antimicrotubules.

il s'agit notamment de la lysine, de la valine, de la glycine et de l'alanine. De plus chez plusieurs champignons les souches comportant une β-tubuline avec une alanine en position 198 se maintiennent même en absence de traitement (Leroux *et al.*, 2002b et c ; Leroux, 2003a ; Lyr, 1995).

3.2. Phénylcarbamates

Les phénylcarbamates sont des anti-microtubules initialement développés comme herbicides ou comme anti-germes sur tubercules de pommes de terre (chlorprophame). Or, ces herbicides, s'ils affectent peu les souches d'ascomycètes et de deutéromycètes sensibles aux fongicides benzimidazoles, inhibent par contre certaines souches résistantes comportant une β-tubuline modifiée en 198. La mise en évidence de cette résistance croisée négative entre ces deux familles d'anti-micro-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

tubules a permis d'imaginer une stratégie anti-résistance basée sur une association d'un benzimidazole, le carbendazime avec un phénylcarbamate non phytotoxique, le diéthofencarbe (figure 5). En fait, cette stratégie, développée essentiellement contre *B. cinerea*, est mise en échec par la sélection de souches ayant une β-tubuline modifiée en 200 et résistant simultanément aux benzimidazoles et aux phénylcarbamates (Leroux *et al.*, 2002b et c).

3.3. Benzamides

La propyzamide (figure 5) est utilisée comme herbicide depuis des décennies et cette benzamide agit en bloquant les divisions cellulaires. Deux analogues structuraux particulièrement actifs sur les oomycètes ont été expérimentés ; il s'agit d'une part de la zarilamide qui n'a pu être développée pour des raisons toxicologiques et d'autre part de la zoxamide qui vient d'être autorisée contre les mildious de la vigne et de la pomme de terre. Ces benzamides fongicides se fixent de façon covalente sur la β-tubuline entraînant un arrêt des divisions nucléaires et une disparition du cytosquelette (Young et Slawecki, 2001). Sur un plan pratique, malgré une inhibition de l'élongation des hyphes, ces benzamides agissent surtout préventivement. De plus, afin de limiter le risque de résistance à cette nouvelle famille d'anti-mildious, la zoxamide est toujours associée à un multi-site (Leroux *et al.*, 2002a).

3.4. Pencycuron

Le pencycuron (figure 5) est une urée substituée, non systémique, douée d'une grande spécificité puisqu'il n'est efficace que sur *Rhizoctonia solani*. Il s'utilise sur le riz, la pomme de terre et des cultures ornementales et n'est actif que sur certains groupes d'anastomoses (AG2-2, AG3, AG6) de ce pathogène ; ceux-ci sont considérés par certains comme des espèces différentes. Le pencycuron induit au niveau des hyphes de *R. solani* des altérations similaires à celles provoquées par les benzimidazoles. De plus, en laboratoire (à des températures inférieures à 15 °C), cette urée substituée inhibe d'autres espèces fongiques et présente une résistance croisée négative avec les benzimidazoles. Ces observations suggèrent donc que l'effet primaire du pencycuron se situe au niveau des microtubules ; il n'a toutefois pas été prouvé qu'il se fixait sur les β-tubulines (Leroux, 2003b).

4. Autres fongicides agissant directement sur les champignons

4.1. Inhibiteurs de la biosynthèse des mélanines

Les mélanines sont des pigments noirs polyphénoliques synthétisés par de nombreux organismes dont les champignons chez lesquels elles dérivent du

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1,8-dihydroxynaphtalène qui est issu de la voie des pentakétides. Des inhibiteurs de la biosynthèse des mélanines ou MBI (*melanin biosynthesis inhibitors*) sont essentiellement utilisés sur le riz contre la pyriculariose et plusieurs d'entre eux sont systémiques *via* le xylème (tricyclazole, pyroquilon, carpropamid) (figure 6). Au laboratoire, ces substances n'inhibent pas la croissance mycélienne des champignons, mais en revanche elles modifient leur pigmentation (le noir étant remplacé par des teintes brunes à orangées). Ce changement de coloration est dû à l'accumulation de précurseurs des mélanines comme la flavioline. Les antimélanines peuvent être subdivisés en deux catégories selon qu'ils inhibent des réductases (MBI-R) ou des déshydratases (MBI-D). Ainsi, la cible principale du tricyclazole et du pyroquilon semble être la réductase impliquée dans la transformation du 1,3,8-trihydronaphtalène en vermelone. Quant au carpropamid, il affecte particulièrement la scytalone déshydratase. Dans les deux cas, il semble que les inhibitions enzymatiques s'opèrent de manière compétitive (Motoyoma *et al.*, 1999). Sur un plan pratique, ces MBI présentent une activité anti-pénétrante vis-à-vis de *P. oryzae* et aussi de *Colletotrichum*. Cet effet résulte d'un défaut de mélanisation de la paroi des *appressoria* qui ne peuvent plus produire d'hyphes permettant d'infecter les cellules épidermiques des feuilles des plantes hôtes. Ce rôle spécifique des mélanines dans le processus infectieux a été confirmé en utilisant des mutants albinos (Koller, 1992 ; Lyr, 1995). Les MBI-R, introduits dans les années 70, n'ont jamais été confrontés à la résistance acquise alors que pour le capropamid ce phénomène a été décelé au Japon en 2001, après uniquement 4 années d'utilisation. Cette forte résistance, qui concerne également deux autres MBI-D, le diclocymet et le fénoxanil, mais pas les MBI-R, est liée à une mutation dans le gène codant pour la scytalone déshydratase. Celle-ci entraîne le remplacement d'une valine par une méthionine en position 75 (Kaku *et al.*, 2003).

4.2. Inhibiteurs de l'ARN polymérase I

Les phénylamides (bénalaxyl, métalaxyl, ofurace, oxadixyl) sont des fongicides systémiques apoplastiques spécifiques des oomycètes et ils se caractérisent par une excellente activité curative. Leurs premières utilisations remontent au milieu des années 70 et leur découverte résulte du programme de recherche sur des herbicides de la famille des chloroacétanilides ayant abouti notamment au métolachlore (figure 6). Cette matière active, comme d'ailleurs le métalaxyl, comporte un carbone asymétrique et il a été montré que seul un des deux énantiomères présente une activité biologique. Dans le cas du métolachlore, il s'agit de la forme S, alors que pour le métalaxyl il s'agit de l'énantiomère R. Afin notamment de limiter les impacts environnementaux éventuels de l'énantiomère inactif, le méfénoxam (correspondant à l'énantiomère R du métalaxyl) a récemment remplacé le métalaxyl qui correspondait au mélange racémique. La cible primaire des phénylamides est l'ARN polymérase I responsable de la biosynthèse des ARN ribosomaux. Des fortes résistances (caractère monogénique, semi-dominant) ont été observées chez de nombreux agents de mildiou dont *Phytophthora infestans* chez lequel il

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

a été montré que ce phénomène résultait d'une moindre affinité des phénylamides pour leur cible (Lyr, 1995).

4.3. Inhibiteurs de la biosynthèse d'acides aminés

Le cyprodinil, le mépanipyrim et le pyriméthanil (figure 6) sont trois anilinopyrimidines efficaces essentiellement contre des ascomycètes. Elles ont été introduites au milieu des années 90 et s'utilisent à des doses comprises entre 200 et 1 000 $g.ha^{-1}$. Les maladies visées sont notamment la pourriture grise, la tavelure des arbres fruitiers ; le cyprodinil s'applique aussi sur céréales, contre notamment le piétin-verse. Elles agissent surtout de façon préventive en empêchant la pénétration du champignon dans les tissus des plantes hôtes ; une légère curativité est parfois constatée. Des essais en laboratoire ont montré que la fongitoxicité des anilinopyrimidines était réduite en présence d'acides aminés. Les études biochimiques conduites sur *B. cinerea* indiquent qu'elles inhibent la biosynthèse de méthionine et que la cible pourrait être la cystathionine β-lyase. Toutefois, des études enzymatiques n'ont pas confirmé cette hypothèse. De plus, la séquence de la cystathionine β-lyase est identique chez des souches sensibles et fortement résistantes à ces anilinopyrimidines (Fritz *et al.*, 2003 ; Leroux *et al.*, 2002b). D'autres investigations indiquent que ces fongicides inhibent l'excrétion d'enzymes (protéases, lipases, cutinases, cellulases) impliquées dans les processus infectieux. Chez *B. cinerea*, ce phénomène concerne aussi les laccases et peut expliquer la réduction des teneurs en ces enzymes dans les moûts de raisin issus de parcelles traitées par des anilinopyrimidines.

4.4. Fongicides affectant l'osmorégulation

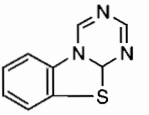
Les fongicides mentionnés dans ce paragraphe ont en commun d'induire des altérations morphologiques similaires des hyphes (ramification, renflement, éclatement des apex) et d'entraîner une accumulation cytoplasmique de polyols (glycérol, mannitol). Par ailleurs, une résistance croisée entre ces fongicides, associée avec une sensibilité accrue à de fortes pressions osmotiques (induites par de fortes teneurs en sucres ou en sels minéraux dans les milieux de culture) est rapportée pour de nombreux mutants de laboratoire. Les produits les plus anciens sont des dérivés aromatiques comme l'hexachlorobenzène (HCB), le dicloran ou le biphényl ; un organophosphoré, le tolclofos-méthyl, est également associé à ce groupe. Une seconde famille plus homogène correspond aux dicarboximides (iprodione, vinchlozoline, procymidone) particulièrement actives sur la pourriture grise et mises au point à la fin des années 70. Enfin, le fenpiclonil et le fludioxonil apparus au début des années 90, sont des analogues structuraux du pyrrolnitrine, un phénylpyrrole naturel produit par divers *Pseudomonas* utilisés pour le biocontrole de champignons phytopathogènes. Ces divers fongicides (figure 6) utilisés en cours de végétation, mais aussi en traitements de semences, sont efficaces sur des ascomycètes et quelques basidiomycètes (*Rhizoctonia*). Les études biochimiques et

génétiques menées à la fois sur des souches fongiques sensibles et résistantes suggèrent que la cible primaire de ce fongicide est une protéine kinase impliquée dans l'osmorégulation. Cette hypothèse est notamment basée sur le fait que chez des mutants de laboratoire ou collectés au champ, la résistance est déterminée par des mutations dans un gène codant pour une histidine protéine kinase. Il convient d'indiquer que chez *B. cinerea*, pour des souches issues de vignobles français, le remplacement en position 365 d'une isoleucine par une serine, une arginine ou une asparagine confère une résistance aux dicarboximides (et dans une moindre mesure aux dérivés aromatiques) mais pas aux phénylpyrroles. En outre, à la différence des souches sélectionnées en laboratoire, cette résistance aux fongicides n'entraîne pas une sensibilité accrue aux pressions osmotiques (Leroux *et al.*, 2002b).

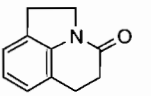
5. *Substances stimulant les réactions de défense des plantes*

En cas d'attaques parasitaires, les plantes mettent en place des systèmes de défense qui sont susceptibles de confiner et parfois de tuer le parasite à son site d'attaque. Cette défense active implique notamment la production de phytoalexines qui sont des métabolites secondaires toxiques pour les micro-organismes. De plus, les parois des cellules végétales peuvent être renforcées par le dépôt de diverses macromolécules (protéines riches en prolines, callose, lignine). Enfin, il y a production d'un grand nombre de protéines de défense dénommées protéines PR *(pathogenesis related)* qui présentent des activités antimicrobiennes. Ainsi, certaines perforent les membranes cytoplasmiques, d'autres sont capables d'hydrolyser des polysaccharides pariétaux (glucanases, chitinases) et quelques-unes peuvent inhiber des enzymes fongiques (Klarzynski et Fritig, 2001). Si l'ensemble de ces systèmes de défense reste localisé aux tissus proches des sites infectieux, il est également possible d'observer leur induction à distance après une première attaque parasitaire. Ce phénomène appelé résistance systémique acquise ou RSA (SAR pour les Anglo-Saxons) implique divers relais dont notamment l'acide salicylique (Dong, 1998). Il convient aussi d'indiquer que d'autres médiateurs comme l'acide jasmonique, l'éthylène et l'oxyde d'azote sont susceptibles d'intervenir dans ces diverses réactions de défense qui généralement ne sont pas spécifiques. Ainsi, une défense induite par un virus implique non seulement le confinement de celui-ci, mais comporte également des réponses antifongiques et antibactériennes et réciproquement (Klarzynski et Fritig, 2001 ; Ton et Mauch-Mani, 2003). L'une des stratégies exploitant le potentiel de défense des végétaux contre des agents phytopathogènes, consiste à appliquer préventivement des substances naturelles ou de synthèse ayant la capacité de stimuler la production des médiateurs naturels antimicrobiens.

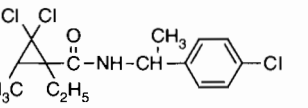
© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit



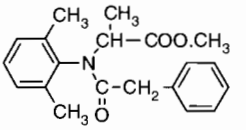
Tricyclazole



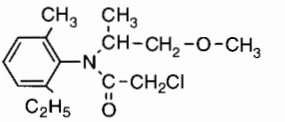
Pyroquilon



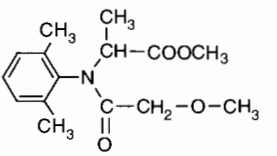
Carpropamid



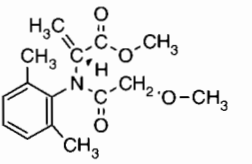
Bénalaxyl



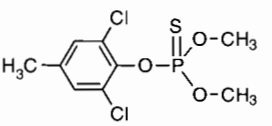
Métolachlore



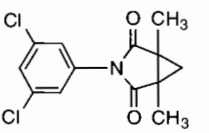
Métalaxyl [R,S]



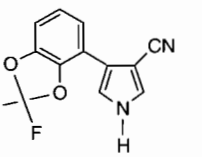
Méfénoxam [R]



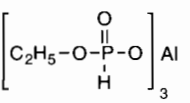
Tolclofos-méthyl



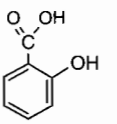
Procymidone



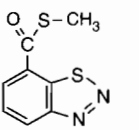
Fludioxonil



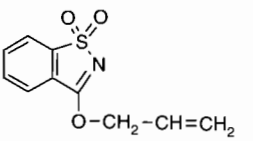
Fosétyl-Al



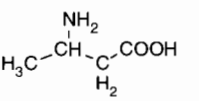
Acide salicylique



Acibenzolar-S-méthyl



Probénazole



BABA

Figure 6 ■ Structures de diverses molécules antifongiques.

5.1. Phosphonates

Le fosétyl-Al (figure 6) et son métabolite principal l'acide phosphonique (en équilibre tautomérique avec l'acide phosphoreux) sont des fongicides utilisés principalement contre des oomycètes (ils présentent également des activités contre des ascomycètes et des phytobactérioses). Ce sont des substances ambimobiles et leur migration par le phloème permet, après leur injection dans le tronc des arbres, de protéger le système racinaire d'attaques de *Phytophthora*. Lors de traitements foliaires avec le fosétyl-Al, la présence de nécroses bloquantes autour des sites d'infections fongiques, ainsi que l'accumulation de phytoalexines, suggèrent que ce phosphonate stimule les réactions de défense des plantes. Toutefois, des études de laboratoire montrent que les phosphonates affectent directement le métabolisme fongique en simulant une carence en phosphates. Par voie de conséquence, les champignons intoxiqués ont la capacité de produire plus de substances naturelles élicitrices (susceptibles de stimuler les réactions de défense des plantes). La détection d'isolats de *Phytophthora cinnamoni* (ainsi que la sélection en laboratoire de mutants de *Phytophthora spp*) résistants *in vitro* et *in vivo* confirment que les phosphonates ne stimulent pas directement les réactions de défense des plantes (Koller, 1992 ; Lyr, 1995 ; Leroux, 2003b).

5.2. Analogues structuraux de l'acide salicylique

Expérimentalement, le traitement des plantes avec l'acide salicylique ou avec de l'acide acétylsalicylique est susceptible d'assurer une certaine protection vis-à-vis de champignons, bactéries et virus. C'est sur cette base qu'est née l'idée de rechercher des analogues structuraux de l'acide salicylique, susceptibles d'être utilisables au champ. Les tout premiers composés ont été l'acide 2,6-dichloroisonicotinique ou INA (*isonicotinic acid*) et son ester méthylique ; leur développement n'a toutefois pas pu se faire car ils pouvaient provoquer de la phytoxicité (Lyr, 1995). En revanche, l'acibenzolar-S-méthyl ou BTH (un benzothiadiazole) est utilisé notamment sur le blé contre l'oïdium et sur le riz contre la pyriculariose (figure 6). Chez diverses dicotylédones comme le tabac, la tomate ou la laitue il est efficace contre des mildious et des phytobactérioses. Le BTH stimule des réactions de défense des plantes impliquées dans les résistances locales et systémiques. Le fait que chez l'arabette (*Arabidopsis thaliana*) les mutants nim 1 non inductibles par l'acide salicylique ne le soient pas par le BTH ou l'INA, suggère que ces diverses substances agissent sur le même système de transduction de signaux. En pratique, l'acibenzolar-S-méthyl s'utilise préventivement à des doses inférieures à 50 $g.ha^{-1}$ et présente une longue persistance d'action. Cette caractéristique est probablement liée au fait que cette molécule et/ou son métabolite acide sont redistribués *via* le xylème et le phloème dans l'ensemble des organes des plantes, y compris ceux formés après le traitement. Du fait de leur mode d'action faisant intervenir une grande variété de substances antimicrobiennes, les analogues structuraux de l'acide salicylique semblent peu exposés à la résistance. Toutefois, leur efficacité peut être

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

insuffisante en cas de fortes infestations ou d'interventions trop tardives ; par ailleurs elles peuvent induire des effets quantitatifs ou qualitatifs défavorables sur les récoltes (Gullino *et al.*, 2000).

5.3. Autres inducteurs de résistance

5.3.1. Probénazole

Le probénazole est un fongicide systémique (apoplastique) largement utilisé au Japon depuis une vingtaine d'années sur le riz pour lutter contre la pyriculariose ; il est également efficace sur *Xanthomonas oryzae*. Dans les plantes, il est converti en saccharine et en N-glycopyranosyl saccharine qui toutefois, comme le probénazole, sont dépourvues d'effets antimicrobiens directs. Par contre, ces substances ont la capacité de stimuler les réactions de défense du riz ; en effet l'analyse de plantes traitées indique une production accrue de phytoalexines et la lignification des cellules autour des sites d'infections (Lyr, 1995).

5.3.2. Acide β-aminobutyrique ou BABA

Cet acide aminé non protéique a été expérimenté principalement vis-à-vis d'oomycètes. Ainsi, en application foliaire il est actif contre des mildious de diverses cultures (tomate, tabac, chou, tournesol, vigne). De plus, en traitement de sol, il permet de lutter contre des agents de trachéomycoses comme par exemple *Fusarium oxysporum* (Cohen, 1996). Le BABA (*β amino butyric acid*) est principalement véhiculé par le xylème et il peut également subir un transfert translaminaire. Dans le cas de la tomate, les feuilles traitées, puis inoculées par *P. infestans*, présentent une réaction d'hypersensibilité avec dépôt de lignine et de callose aux sites d'infections (Cohen, 1996). Un effet assez similaire s'observe avec le couple arabette/*Peronospora parasitica* et semble impliquer une voie de signalisation indépendante de celle de l'acide salicylique. Il a été par ailleurs observé que le BABA avait la capacité d'induire chez l'arabette une résistance à des stress abiotiques (sécheresse, salinité) (Ton et Mauch-Mani, 2003).

5.3.3. Glucanes d'algues

Les cellules végétales présentent la capacité de détecter des composés produits par les champignons et parmi ces éliciteurs fongiques capables de déclencher des réactions de défense chez les plantes, il y a des polysaccharides (Ebel et Cosio, 1994). Récemment, il a été montré que la laminarine, un glucane β1,3-1,6 naturel (de structure voisine de celle de polysaccharides fongiques), extrait d'une algue brune, était capable de stimuler la résistance des plantes à divers champignons phytopathogènes. Ce phénomène entraîne notamment des réactions localisées avec production de phytoalexines ainsi que l'accumulation d'acide salicylique et de PR protéines qui sont des signaux impliqués dans la RSA (Klarzynski et Fritig,

2001). En pratique, des essais conduits sur céréales (blé, orge, riz) et sur cultures pérennes (vigne, pommier) ont montré que cette laminarine présentait un large spectre d'activité (Joubert *et al.*, 1998). En France, elle est autorisée sur le blé contre l'oïdium, la septoriose et le piétin-verse à la dose de 37 $g.ha^{-1}$. Bien que son efficacité soit plus faible que celle des fongicides classiques, elle s'utilise lorsque les risques parasitaires sont faibles, ainsi que dans le cadre de l'agriculture biologique.

6. *Résistance acquise aux fongicides*

D'une manière générale, la résistance acquise à un fongicide correspond à un changement génétique (chez une espèce fongique naturellement sensible) entraînant une réduction de la fongitoxicité vis-à-vis des mutants résistants. Chez les champignons le principal mécanisme de résistance correspond à une réduction d'affinité du fongicide pour sa cible. Un tel phénomène concerne notamment les benzimidazoles, les phénylamides anti-mildiou et les strobilurines, pour respectivement la β-tubuline, l'ARN polymérase I et le cytochrome b. Généralement les niveaux de résistance sont importants et il y a résistance croisée entre toutes les matières actives de la même famille. Ces caractéristiques phénotypiques, ainsi que la connaissance de la mutation dans le gène de la cible, permettent de développer des méthodes biologiques ou moléculaires (PCR : *polymerase chain reaction*) de diagnostic des résistances (Sierotski et Gisi, 2003). Le déterminisme génétique des résistances acquises implique d'une manière générale des gènes chromosomiques. L'un des seuls cas connus de résistance extrachromosomique concerne les strobilurines (et plus largement les QoI) qui interfèrent avec le cytochrome b dont l'apoprotéine est codée par un gène mitochondrial (Leroux 2003a ; Sierotski et Gisi, 2003). D'autres mécanismes impliquant une détoxication accrue ou une pénétration réduite du fongicide sont plus rares et conduisent souvent à des résistances faibles ayant des implications limitées au champ (IDM).

En matière de résistance acquise aux fongicides, deux catégories d'évolution sont classiquement décrites. La première, dite disruptive ou qualitative, conduit généralement à des pertes brutales d'efficacité (benzimidazoles, phénylamides, QoI). La seconde dite progressive ou quantitative, implique la présence de phénotypes plus ou moins résistants et entraîne une érosion limitée ou progressive de la performance du fongicide (IBS). Ces deux profils d'évolution des populations fongiques sont souvent interprétés comme correspondant respectivement à des résistances monogénique et polygénique (Brent et Hollomon, 1998). Parmi les facteurs qui favorisent la résistance, il y a ceux inhérents au fongicide et au champignon visé. Ainsi, un inhibiteur spécifique est plus exposé à la résistance qu'une molécule multi-site. Par ailleurs, au sein des uni-sites, les risques apparaissent plus limités pour ceux interagissant avec le site actif de l'enzyme cible, comme pour les IBS. Concernant les champignons, ceux qui ont des cycles de multiplication courts et/ou de nombreuses générations, une fécondité importante et une

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

large dissémination (oïdium, mildious) sont particulièrement exposés (Brent et Hollomon, 1998). Un élément important est également le coût biologique (*fitness*) de l'acquisition de la résistance qui va conditionner le maintien des souches résistantes en absence de pression sélective. Ainsi, chez *B. cinerea*, la résistance est non persistante vis-à-vis des dicarboximides ; dans le cas des benzimidazoles un phénomène similaire s'observe pour la mutation en 200 de la β-tubuline, alors que la résistance est persistante si la mutation se situe en position 198 (Leroux *et al.*, 2002b). Il existe par ailleurs des facteurs opérationnels et agronomiques qui vont influer sur le développement des résistances au champignon (anonyme, 1999). Ainsi, une lutte chimique impliquant un nombre élevé d'applications et des surfaces traitées importantes sont particulièrement favorables. Des pratiques agronomiques, comme l'utilisation de cultivars sensibles ou de certaines conduites culturales (monoculture, travail du sol, fertilisation), n'influent pas directement sur la pression sélective exercée par les fongicides, mais elles peuvent accroître le risque parasitaire et donc le recours à la lutte chimique.

La gestion de la résistance acquise aux fongicides implique l'élaboration de stratégies garantissant, dans l'espace et le temps, une bonne efficacité de la lutte chimique. Les solutions à privilégier sont celles qui sélectionnent peu ou pas les souches résistantes, sachant qu'il faut faire face, en pratique, à la suite de leur généralisation, aux cas avérés de résistance. D'une manière générale, la limitation du nombre d'applications des fongicides « à risque » constitue la base des stratégies anti-résistance. Les données de terrain peuvent *a posteriori* fournir des indications objectives sur le niveau de limitation d'emploi (une seule application par saison des diverses familles d'anti-*Botrytis* sur la vigne). Par contre, dans de nombreuses situations, notamment pour de nouvelles matières actives, des décisions sont prises *a priori* sur une base de précaution (exemple : trois applications maximum par saison contre le mildiou de la vigne), avec nécessité de suivre l'évolution des populations fongiques pour moduler les préconisations (anonyme, 1999). En cas de généralisation de la résistance, un arrêt définitif ou momentané du traitement peut être préconisé (cas des benzimidazoles). Corrélativement à cette mesure de limitation, des alternances ou des séquences faisant appel à plusieurs classes de fongicides sont préconisées, surtout lorsque les programmes impliquent un nombre élevé d'interventions. Ainsi, l'alternance des diverses classes d'anti-*Botrytis* est pratiquée dans les vignobles français. Les séquences sont recommandées notamment contre le mildiou de la vigne ou la tavelure des arbres fruitiers. En cas de résistance non persistante, cet usage séquentiel peut être une meilleure stratégie que l'alternance. Les associations ou mélanges de fongicides (sans résistance croisée entre eux) constituent la stratégie anti-résistance favorite des firmes phytosanitaires. Les données expérimentales et les simulations mathématiques indiquent qu'elles peuvent effectivement retarder, sous certaines conditions, le développement de la résistance (Brent et Hollomon, 1998). Toutefois, elles sont généralement conçues pour être efficaces même en cas de résistance généralisée à l'un des partenaires. Ceci ouvre notamment le débat autour de l'influence des doses d'emploi des fongicides sur le développement de la résistance (Leroux, 2003a). Pour terminer sur

les combinaisons de matières actives, une possibilité est offerte avec des couples comme par exemple le carbendazime/diéthofencarbe, qui présentent entre eux une résistance croisée négative : toutefois, le risque existe de développement de mutants résistants simultanément à ces deux types d'anti-microtubules (Leroux *et al.*, 2002a et b).

Il faut enfin indiquer que de nombreuses mesures d'accompagnement peuvent contribuer au succès des stratégies anti-résistance évoquées précédemment. Elles consistent notamment à limiter le développement des maladies fongiques grâce à des mesures prophylactiques et à l'usage de procédés non chimiques de phytoprotection (comme la lutte biologique, ou la lutte génétique). De plus, l'usage raisonné des fongicides, en fonction notamment des risques pathologiques avérés, devrait limiter le nombre des interventions. Tout ceci se place dans un contexte de protection intégrée des cultures.

Conclusion et perspectives

Les fongicides constituent un moyen efficace de lutte contre les maladies majeures des plantes cultivées. Toutefois, pour que cette lutte chimique puisse continuer à jouer un rôle important, il est indispensable de disposer de matières actives utilisables à de faibles doses, possédant une bonne persistance d'action, ne présentant pas d'effets néfastes pour les manipulateurs, les consommateurs et n'ayant pas d'impact sur l'environnement. Ces diverses contraintes ont notamment conduit au retrait de nombreux fongicides multi-sites, et elles sont responsables du coût de développement élevé de nouvelles matières actives. Dans ces conditions, il n'est pas surprenant que les firmes privilégient la mise au point de fongicides polyvalents (strobilurines). Parallèlement à l'amélioration des performances potentielles des fongicides agricoles, les phénomènes de résistance acquise chez un nombre élevé de champignons phytopathogènes ont pris de l'ampleur depuis les années 70. Ceci a coïncidé avec la découverte de molécules uni-sites qui, souvent, étaient systémiques et agissaient curativement. Cette dernière caractéristique devrait être un atout positif dans le cadre d'une lutte raisonnée en permettant de limiter les applications aux périodes de risques parasitaires effectifs. Malheureusement, avec la multiplication des cas de résistance, il est souvent recommandé d'associer les matières actives uni-sites « à risque » avec des fongicides multi-sites (peu ou pas concernés par ces phénomènes) ; dans ces conditions, l'efficacité pratique de cette association implique des interventions préventives. Il existe bien une autre stratégie anti-résistance qui consiste à limiter l'emploi des fongicides « à risque », en pratiquant des alternances de matières actives de classes différentes (Leroux, 2003a). Cette mesure nécessite l'identification de nouvelles cibles et des pistes nouvelles émergeront très certainement des données issues de la génomique des champignons phytopathogènes mais aussi de leurs plantes hôtes. Grâce à ces connaissances, il sera possible de développer des systèmes cellulaires ou enzymatiques

© Lavoisier - La photocopie non autorisée est un délit

miniaturisés permettant un criblage à haut débit de molécules potentiellement antifongiques (Grosjean-Courmayer *et al.*, 1999 ; Knight *et al.*, 1997). Bien d'autres essais seront nécessaires pour choisir les nouvelles matières actives et optimiser leurs conditions d'utilisation au champ.

Références bibliographiques

Anonyme (1988). Fungicide resistance: definitions and use of terms. *EPPO Bull.*, **18** : 569-574.

Anonyme (1999). Resistance risk analysis. *EPPO Bull.*, **29** : 325-347.

Bartlett D.W., Clough J.M., Godwin J.R., Hall A.A., Hamer M., Parr-Dobrzanski B. (2002). The strobilurin fungicides. *Pest Manag Sci*, **58** : 649-662.

Brent K.J., Hollomon D.W. (1998). *Fungicide resistance: the assessment of risk*. GCPF, Brussels.

Brun L., Geoffrion R. (2003). Mildiou de la vigne, cuivre et sol : une longue histoire commune. *Phytoma*, **564** : 37-39.

Chabasse D. (1998). Origine et interrelation des champignons avec le vivant, évolution durant des temps géologiques. *J Mycol Med*, **8** : 125-138.

Cohen Y. (1996). Induced resistance against fungal diseases by aminobutyric acids. *In* Lyr H., Russel P.E., Sisler H.D., *Modern fungicides and antifungal components I*. Intercept, Andover, 461-466.

Debieu D., Bach J., Hugon M., Malosse C., Leroux P. (2001). The hydroxyanilide fenhexamid, a new sterol biosynthesis inhibitor fungicide efficient against the plant pathogenic fungus *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*). *Pest Manag Sci*, **57** : 1060-1067.

Dong X. (1998). SA, JA, ethylene, and disease resistance in plants. *Curr Opin Plant Biol*, **1** : 316-323.

Ebel J., Cosio E.G. (1994). Elicitors of plant defense responses. *Internat Rev Cyto*, **148** : 1-36.

Fritz R., Lanen C., Chapeland-Leclerc F., Leroux P. (2003). Effect of the anilinopyrimidine fungicide pyrimethanil on the cystathionine β-lyase of *Botrytis cinerea*. *Pestic Biochem Physiol*, **77** : 54-65.

Gisi U., Sierotzky H., Cook A., Mc Caffery A. (2002). Mechanisms influencing the evolution of resistances to Qo inhibitor fungicides. *Pest Manag Sci*, **58** : 589-867.

Grosjean-Courmayer M.C., Clergeot P.H., Payne A., Brozek V., Hollomon D.W., Latorse M.P., Lebrun M.H. (1999). Molecular approaches to antifungal discovery. In Brooks G.T., Roberts T.R., *Pesticide chemistry and bioscience*, RSC, Cambridge, 247-255.

Gullino M.L., Leroux P., Smith C.M. (2000). Uses and challenge of novel compounds for plant diseases control. *Crop Prot*, **19** : 1-11.

Guo Z., Miyoshi H., Komyoji T., Hoga T., Fujita T. (1991). Uncoupling activity of a newly developed fungicide, fluazinam. *Biochim Biophys Acta*, **1056** : 89-92.

Joseph-Horne T., Hollomon D.W., Heppner C. (2000). Silthiofam interferes with mitochondrial function in take-all diseases of wheat. *In the BCPC conference, pests and diseases*, British Crop Protection Council, Farnam, 883-888.

Joubert J.M., Yvin J.C., Barchietto T., Seng J.M., Plesse B., Klarzynski O., Kopp M., Fritig B., Kloareg B. (1998). A β-1,3 glucan, specific to a marine alga, stimulates plant defence reactions and induces broad range resistance against pathogens. *In the BCPC conference, Pests and diseases*. British Crop Protection Council, Farnam, 441-448.

Kaku K., Takagaki M., Shimizu T., Nagayama K. (2003). Diagnosis of dehydratase inhibitors in melanin biosynthesis inhibitor (MBI-D) resistance by primer-introduced restriction enzyme analysis in scytalone dehydratase gene of *Magnaporthe grisea*. *Pest Manag Sci*, **59** : 843-846.

Klarzynzki O., Fritig B. (2001). Stimulation des défenses naturelles des plantes. *C.R. Acad Sci Paris, Sciences de la vie*, **324** : 953-963.

Knight S.C., Anthony V.M., Brady A.M., Greenland A.J., Heanay S.P., Murray D.C., Powell K.A., Schultz M.A., Spinks C.A., Worthington P.A., Youle D. (1997). Rationale and perspectives on the development of fungicide. *Annu Rev Phytopathol*, **35** : 349-372.

Koller W. (1992). *Target sites of fungicide action*. CRC Press, Boca Raton.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Lepoivre P. (2003). *Phytopathologie*. Éditions De Boeck Université, Bruxelles.

Leroux P. (2002). Classification des fongicides et résistance. *Phytoma*, **554** : 43-50.

Leroux P. (2003a). Résistance des champignons phytopathogènes aux fongicides. *Phytoma*, **566** : 36-40.

Leroux P. (2003b). Mode d'action des produits phytosanitaires sur les organismes pathogènes des plantes. *C.R. Biologies*, **326** : 9-21.

Leroux P., Delorme R. (1997). La respiration cellulaire, une cible toujours d'actualité pour divers groupes de produits phytosanitaires. *Phytoma*, **494** : 17-23.

Leroux P., Delorme R., Gaillardon (2002a). Évolution des produits phytosanitaires à usage agricole, 2-les fongicides. *Phytoma*, **545** : 8-15.

Leroux P., Fournier E., Brygoo Y., Panon M.-L. (2002b). Biodiversité et variabilité chez *Botrytis cinerea*, l'agent de la pourriture grise. *Phytoma*, **554** : 38-42.

Leroux P., Fritz R., Debieu A., Albertini C., Lanen C., Bach J., Gredt M., Chapeland F. (2002c). Mechanisms of resistance to fungicides in field strains of *Botrytis cinerea*. *Pest Manag Sci*, **58** : 876-888.

Lyr H. (1995). *Modern selective fungicides*. Gustav Fischer Verlag, Jena.

Motoyoma T., Nakasako M., Yamaguchi I. (1999). Molecular action mechanism of a new melanin biosynthesis inhibitor. *In* Lyr H., Russell P.E., Dehne H.W., Sisler H.D., *Modern fungicides and anti fungal compounds II*. Intercept, Andover, 111-119.

Oerke E.C. (1996). The impact of diseases and disease control on crop production. *In* Lyr H., Russell P.E., Sisler H.D., *Modern fungicides and antifungal compounds I*. Intercept, Andover, 17-24.

Sierotski H., Gisi U. (2003). Molecular diagnostics for fungicide resistance in plant pathogens. *In* Voss G., Ramos G., *Chemistry of crop protection*. Wiley-VCH, Weinheim, 71-88.

Ton J., Mauch-Mani B. (2003). Elucidating pathways controlling induced resistance. *In* Voss G., Ramos G., *Chemistry of crop protection*. Wiley-VCH, Weinheim, 99-109.

Wood P.W., Hollomon D.W. (2003). A critical evaluation of the role of alternative oxidase in the performance of strobilurin and related fungicides acting at the Qo site of complexe III. *Pest Manag Sci*, **59** : 499-511.

Young D.H., Slawecki R.A. (2001). Mode of action of zoxamide, a new Oomycete fungicide. *Pestic Biochem Physiol*, **69** : 100-111.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

3

Modes d'action des herbicides

Christian Gauvrit

Les herbicides sont des substances qui, généralement, détruisent leurs plantes cibles, nommées adventices ou mauvaises herbes. Quelques-uns ne sont pas létaux à leur dose d'utilisation ; cependant, ils freinent suffisamment la croissance et le développement des plantes touchées pour les empêcher de nuire à la culture. En outre, lorsque celle-ci est semée à forte densité (par exemple une céréale), elle contribue aux côtés de l'herbicide à la mise hors d'état de nuire des adventices.

Si l'on excepte le DNOC (dinitro-ortho-crésol), révélé comme herbicide en 1932, l'histoire de ces produits débute au cours du deuxième conflit mondial lorsque quatre équipes préparent de manière indépendante des auxines synthétiques et montrent leurs effets : régulateur de croissance puis herbicide (Troyer, 2001). Celles-ci sont encore utilisées et, paradoxalement, leur ancienneté n'a pas permis de complètement élucider leur mode d'action. Jusqu'à l'orée des années 50, les nouveaux herbicides étaient majoritairement à pénétration foliaire et visaient surtout les dicotylédones. Puis pendant deux décennies, de nombreux produits agissant *via* le sol et à spectre plus large sont apparus. Ils ont permis les fameux « traitements d'assurance », si confortables pour les agriculteurs, mais qui présentent les défauts d'être indiscriminés et parfois appliqués à doses inutilement élevées. En outre, agissant par le sol, ces herbicides doivent présenter une longue persistance chimique dans ce milieu, et l'on n'a pas tardé à en réaliser les inconvénients environnementaux. C'est ainsi qu'au début des années 80, le balancier est retourné vers les herbicides à pénétration foliaire, d'autant que les nouveaux herbicides agissant *via* le sol y sont maintenant très peu mobiles.

Le mode d'action des herbicides est la succession des événements qui concourent à la destruction ou à l'arrêt de croissance des plantes cibles : absorption par ces dernières, éventuelle migration vers les tissus cibles et interaction avec la

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

cible biochimique, sans oublier la métabolisation qui conduit la plupart du temps à une inactivation. Ce dernier point ne sera évoqué ici que dans la mesure où il participe à la sélectivité de l'herbicide, c'est-à-dire à sa faculté de détruire les plantes gênantes sans affecter la culture. Dans certains cas (aryloxyphénoxypropionates ou fops, esters d'herbicides auxiniques, chlorthiamide, isoxaflutole), la molécule appliquée est en fait un pro-herbicide, qui est activé en herbicide actif après métabolisation dans la plante. La plupart du temps, il s'agit d'esters, hydrolysés dans la plante en acides, qui constituent les molécules herbicides.

Dans ce chapitre, l'action des herbicides sera décrite, de l'interaction avec la cible biochimique jusqu'à ses conséquences physiologiques ; les modes de pénétration, de migration, ainsi que les causes de leur sélectivité seront aussi indiqués.

1. Absorption des herbicides par les végétaux

1.1. Absorption par les parties souterraines

L'un des modes d'absorption *via* le sol est la diffusion de l'herbicide dans les tissus souterrains situés au niveau ou au-dessus de la graine. En effet, la partie supérieure des racines joue un faible rôle car leur épiderme se subérise rapidement et devient virtuellement imperméable. L'autre mode d'absorption est un flux de masse qui suit l'entrée d'eau dans la zone des poils absorbants. Là, les herbicides rencontrent une barrière de diffusion constituée par l'anneau de Caspari. Il s'agit d'une assise cylindrique de cellules dont les parois sont subérifiées et pratiquement imperméables. Pour accéder au cylindre central, les herbicides doivent donc traverser ces cellules, et par conséquent la membrane phospho-lipidique de leur plasmalemme. La lipophilie des molécules joue alors un rôle important. On l'évalue par le coefficient de partage P entre le n-octanol et l'eau, c'est-à-dire le rapport des concentrations de l'herbicide à l'équilibre entre les deux phases de ces liquides non miscibles. Les herbicides neutres et de lipophilie moyenne (log P compris entre 1,5 et 2,5) sont favorisés lors de ce transfert car ces propriétés leur permettent de franchir aisément les membranes biologiques des cellules de l'anneau de Caspari (Briggs *et al.*, 1982). C'est le cas de beaucoup des inhibiteurs de la photosynthèse comme les triazines et les urées substituées.

1.2. Absorption par les parties aériennes

L'absorption par les parties aériennes (souvent raccourcie en « absorption foliaire ») s'effectue par diffusion à travers la cuticule, structure protectrice présente à la surface des organes aériens des végétaux (Gauvrit, 1996). La pénétration par les stomates joue un rôle tout à fait négligeable. L'absorption foliaire est un processus physique (Briggs et Bromilow, 1994 ; Baur *et al.*, 1996), toutefois influencée par la physiologie de la plante. Une substance pénètre d'autant mieux dans un végétal qu'elle est lipophile car alors elle présente une grande affinité pour les

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

cires de la cuticule. Les cuticules recouvertes de cires cristallines sont en général plus perméables que les cuticules dont les cires sont amorphes. D'autre part, les substances pénètrent d'autant mieux que leur point de fusion est bas. Enfin, si elles sont rapidement métabolisées dans le végétal (cas des pro-herbicides), leur pénétration est accélérée. Cela tient à ce que le gradient de concentration entre l'extérieur et l'intérieur de la plante reste élevé, ce qui favorise le flux de matière. Ce gradient est aussi influencé par l'activité physiologique du végétal. Si celle-ci est importante, les mouvements d'eau dans les tissus le sont aussi ; l'herbicide absorbé est alors rapidement transporté hors de la zone d'absorption, ce qui maintient localement le gradient à un niveau élevé.

2. *Déplacement des herbicides dans les végétaux*

Dans les plantes, le transport des herbicides à longue distance (au-delà de quelques mm) s'effectue grâce aux déplacements d'eau dans les vaisseaux de sèves brute et élaborée. Leur migration obéit à des facteurs physicochimiques et physiologiques. Parmi les facteurs physicochimiques, on trouve la lipophilie. Les herbicides très lipophiles ne sont pas mobiles, en particulier si leur log P est supérieur à quatre, car ils se partagent mal dans les phases aqueuses du végétal et donc dans les sèves qui constituent leur véhicule dans la plante (Briggs et Bromilow, 1994). De même, les herbicides à effets rapides se déplacent peu car leur action violente conduit à une dessication des tissus, qui interrompt les mouvements d'eau et par conséquent le leur.

Parmi les herbicides mobiles, on observe que certains se déplacent dans le xylème (vaisseaux conducteurs de sève brute), d'autres dans le phloème (vaisseaux conducteurs de sève élaborée). Le xylème est un tissu acide (pH entre 5 et 6) et mort ; au contraire, le phloème est alcalin (pH 8 à 9) et constitué de cellules vivantes. Pour accéder à la sève élaborée, les herbicides doivent donc traverser leur membrane plasmique. Les herbicides neutres et moyennement lipophiles se déplacent bien dans le xylème ; en effet, ces propriétés leur permettent de s'échanger sans contrainte entre les deux systèmes vasculaires. On les voit donc se mouvoir dans le système qui est le siège du courant d'eau le plus rapide et le plus important, c'est-à-dire le xylème. Les herbicides qui portent une fonction acide se déplacent dans le phloème car ils s'accumulent dans ce tissu (Briggs *et al.*, 1987). Du fait de leur dissociation dans l'eau, ils y sont présents sous deux formes, l'une neutre et l'autre dissociée, anionique (figure 1). Le phloème étant alcalin, l'équilibre de dissociation y est déplacé en faveur de la forme anionique. Prenons l'exemple d'un herbicide ayant un pKa de 3. Si le xylème est à pH 5, la différence de pH étant 2 unités, la forme anionique y sera 100 fois plus abondante que la forme neutre. Si le phloème est à pH 8, la forme anionique y sera 10^5 fois plus abondante que la forme neutre. La forme neutre traverse aisément les membranes biologiques ; au contraire, en raison de sa polarité, la forme anionique est peu perméante. L'équi-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

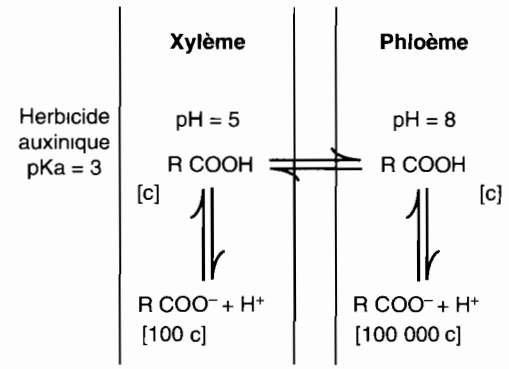


Figure 1 ■ Mécanisme de l'accumulation et de la rétention des herbicides acides dans le phloème.

libration entre les deux systèmes vasculaires ne peut donc se faire que par la forme neutre. La forme anionique est largement majoritaire dans les deux systèmes, et avant tout dans le phloème. Elle y est donc fortement accumulée et retenue, et l'on voit l'herbicide se déplacer dans ce tissu.

3. *Sites d'action des herbicides*

L'action d'un herbicide résulte de son interaction avec une cible biochimique, parfois de plusieurs. La conséquence est généralement le blocage d'une fonction, avec des répercussions dommageables pour la cellule végétale et *in fine* l'organisme entier. On recense à ce jour dix-neuf cibles connues d'herbicides, désignée chacune par des lettres de A à P (tableau 1).

Dans la figure 2 sont représentés des exemples d'herbicides membres de familles parmi les plus utilisées.

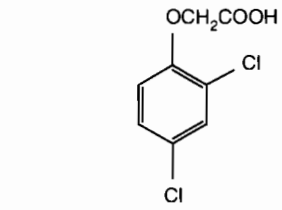
3.1. La photosynthèse

3.1.1. Inhibition du transfert d'électrons (cible C) : amides, bentazone, nitriles, phénylcarbamates, triazines, triazinones, uraciles, urées substituées

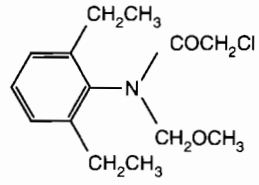
L'énergie lumineuse absorbée par la chlorophylle est utilisée par une chaîne de transfert d'électrons qui part de la photolyse de l'eau (avec production de dioxygène) et aboutit à la réduction du $NADP^+$ (nicotinamide adénine dinucléotide phosphate). Entre les deux, les électrons sont transférés entre des ensembles protéiques dont les principaux sont les photosystèmes I et II (PS I et PS II), entre lesquels se trouve le complexe des cytochromes b_6f (figure 3). Les triazines, les urées substituées et autres herbicides à site d'action nommé C agissent sur le PS II.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

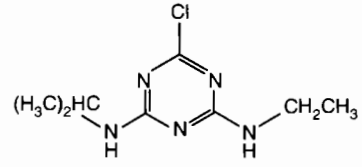
© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit



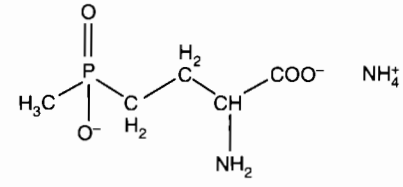
2,4-D (acides phénoxycarboxyliques)



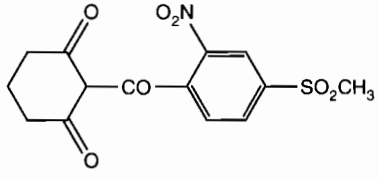
Alachlor (chloroacétamides)



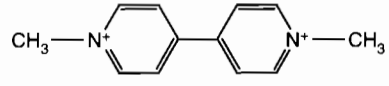
Atrazine (triazines)



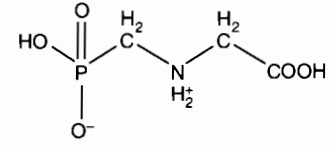
Glufosinate-ammonium



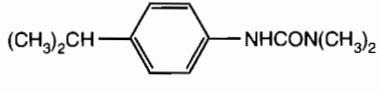
Mésotrione (tricétones)



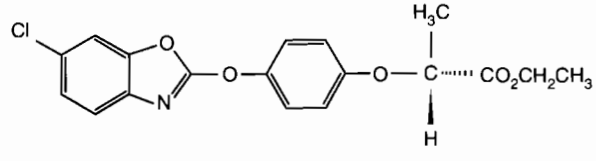
Paraquat (bipyridyles)



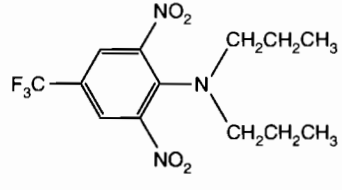
Glyphosate



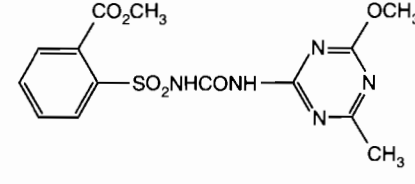
Isoproturon (urées substituées)



Fénoxaprop-éthyl (aryloxyphénoxypropionates ou fops)



Trifluraline (dinitroanilines)



Metsulfuron-méthyle (sulfonylurées)

Figure 2 ■ Structures chimiques d'herbicides représentatifs des familles les plus importantes.

Tableau I ■ Cibles biochimiques des herbicides (www.plantprotection.org/HRAC.htm).

Code	Cible
A	Acétyl-coenzyme A carboxylase
B	Acétolactate synthase
C	Transfert d'électrons photosynthétique (inhibition)
D	Transfert d'électrons photosynthétique (diversion d'électrons)
E	Protoporphyrinogène oxydase
F_1	Phytoène désaturase
F_2	4-hydroxyphénylpyruvate dioxygénase
F_3	Pigments, cible inconnue
F_4	1-desoxy-D-xylulose 5-phosphate
G	Énolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase
H	Glutamine synthase
I	7,8-dihydroptéroate synthase
K_1	Division cellulaire : assemblage des microtubules
K_2	Division cellulaire : organisation des microtubules
K_3	Élongation des acides gras
L	Synthèse de la cellulose
M	Membranes cellulaires
N	Élongation des acides gras
O	Récepteur de l'auxine
P	Transport de l'auxine

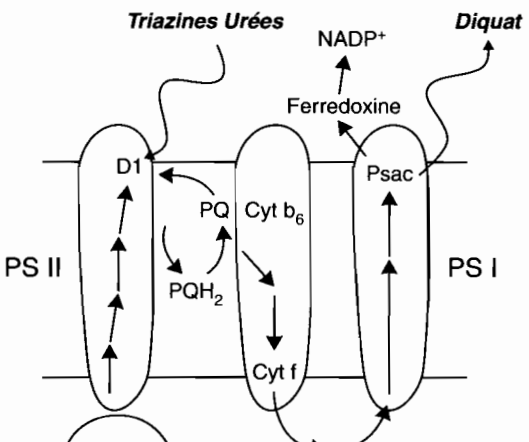


Figure 3 ■ Sites d'action des herbicides agissant sur la photosynthèse.
PS I et PS II : respectivement photosystèmes I et II. Cyt : cytochrome. PQ : plastoquinone. PQH2 : plastohydroquinone. D1 : protéine D1.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Celui-ci transfère les électrons au complexe des cytochromes b_6f par le biais d'un transporteur mobile, la plastoquinone (PQ). À l'état oxydé, celle-ci se fixe sur la protéine D_1 du PS II, qui la réduit en plastohydroquinone (PQH_2). L'affinité de la PQH_2 pour la protéine D_1 étant faible, elle s'en dissocie et diffuse vers le complexe des cytochromes b_6f, qu'elle réduit. Les herbicides de type C entrent en compétition avec la PQ en se fixant au niveau de son site de réduction sur la protéine D_1. Il en résulte un arrêt du transfert photosynthétique d'électrons. Cependant, la mort de la cellule ne résulte pas de l'interruption de la production de sucres, mais de réactions de photo-oxydation provoquées par un état excité de la chlorophylle ainsi que par la production d'une forme réactive de l'oxygène (Hess, 2000).

Quand elle capte de l'énergie lumineuse, la chlorophylle passe d'un état fondamental à un état excité dit singulet, et retourne à son état fondamental après transfert de l'énergie d'excitation aux centres réactionnels des photosystèmes. En présence d'inhibiteurs du transfert d'électrons, le retour de la chlorophylle à l'état fondamental ne peut pas s'effectuer par cette voie, et les molécules à l'état singulet s'accumulent, dont une partie est convertie à l'état triplet. La chlorophylle à l'état triplet peut transférer son énergie d'excitation à des molécules de dioxygène (O_2), ce qui le convertit en oxygène singulet ($^1O_2$). En conditions normales la chlorophylle à l'état triplet et l'oxygène singulet sont désactivés par les caroténoïdes, mais quand le transfert d'électrons est inhibé, ce système est saturé. Ces espèces chimiques réactives déclenchent alors la peroxydation des lipides et la destruction des pigments photosynthétiques. On observe une disparition des pigments, d'abord des caroténoïdes puis des chlorophylles, ce qui conduit au symptôme de chlorose observé sur le feuillage. D'autre part, les lipides qui assurent l'intégrité des membranes cellulaires étant peroxydés, celles-ci se déstructurent, ce qui conduit à la mort des cellules.

On distingue trois groupes de molécules qui agissent sur des aires d'interaction avec la protéine D_1 chevauchantes mais différentes : C1 (triazines, triazinones, uraciles et phénylcarbamates), C2 (urées substituées et amides) et C3 (bentazone et nitriles ou oxynils).

La sélectivité de ces herbicides est souvent de type métabolique (bentazone chez le soja, triazines chez le maïs, urées substituées chez les céréales), la culture les inactivant plus vite que les adventices sensibles. Cependant, la sélectivité de position intervient aussi dans ce dernier cas. Du fait de son adsorption sur les matières organiques, l'herbicide est localisé dans les couches superficielles du sol, au-dessus de la zone où les racines de la culture puisent l'eau. Par contre, la plupart des adventices qui lèvent proviennent de germinations superficielles, et établissent donc leur système racinaire dans la zone du sol riche en herbicide.

3.1.2. Diversion d'électrons (cible D) : bipyridyles

Le site d'action des bipyridyles (diquat et paraquat) est situé dans les chloroplastes au niveau du PS I (figure 3). Ce dernier réduit le $NADP^+$ par l'intermédiaire de la ferredoxine, une petite protéine qui est un transporteur mobile d'électrons. La ferredoxine est réduite par une protéine du PS I nommée PsaC et les bipyridyles

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

peuvent eux aussi être réduits sur ce site, ou à proximité (Hess, 2000). Ils transfèrent l'électron ainsi acquis à une molécule de dioxygène et, retournant alors à leur état initial, peuvent recommencer un cycle. La molécule de dioxygène réduite est l'ion superoxyde, un radical libre très réactif. Les plantes, comme tous les organismes aérobies, inactivent ce radical grâce au système superoxyde dismutase/catalase/peroxydase, la première enzyme formant du peroxyde d'hydrogène, lequel est décomposé ensuite en eau et oxygène. Mais sous l'action des bipyridyles, la production d'ion superoxyde est très importante puisqu'elle se place directement sous le flux d'électrons photosynthétique ; le système d'inactivation est alors saturé. L'ion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène s'accumulant, ils conduisent à la formation de radicaux hydroxyles qui sont de puissants oxydants. Ces espèces chimiques hautement réactives détruisent rapidement les cellules.

Les bipyridyles étant fortement liés aux argiles, ils ne sont présents qu'à de faibles concentrations dans la solution du sol, et ne sont de ce fait actifs que par absorption foliaire. Ce sont des herbicides non sélectifs, utilisés en désherbage total ou dirigé (vergers par exemple). Bien que très solubles dans l'eau, ils ne sont pas lessivés du feuillage par la pluie. Ils s'adsorbent fortement sur les cuticules végétales, probablement par interaction entre leur charge positive (ce sont des cations) et la charge négative portée par la cuticule. L'interaction est suffisamment forte pour que l'eau ne puisse pas les déplacer. Cela leur procure un avantage agronomique évident dans les zones où les précipitations sont fréquentes (zones intertropicales, aires océaniques).

3.2. Les membranes cellulaires (cible M) : phénols nitrés (oxynils)

Outre un site d'action de type C3 (Hess, 2000), ces herbicides perméabilisent les membranes végétales aux ions H^+ en les transportant à travers ces dernières (Frear, 1976). Le cytosol des cellules végétales a un pH voisin de la neutralité et jouxte des compartiments acides, comme les vacuoles ou la paroi cellulaire. En présence de ces herbicides, il se produit une entrée massive d'ions H^+ dans le cytosol. Les ATPases plasmique et tonoplasmique ont pour fonction d'expulser les ions H^+ en excès dans le cytosol, respectivement vers la paroi et la vacuole (figure 4). Mais ces herbicides perméabilisent également les membranes mitochondriales, bloquant ainsi la synthèse de l'ATP (adénosine triphosphate) nécessaire au fonctionnement des ATPases. La régulation du pH cytosolique ne peut donc s'effectuer et il en résulte une mort rapide de la cellule. Comme l'action sur les mitochondries peut aussi s'exercer chez les mammifères, tous ces produits leur sont potentiellement toxiques s'ils ne les dégradent pas rapidement. Pour cette raison, plusieurs herbicides phénoliques (DNOC, dinosèbe) ayant ce mode d'action ont été interdits au cours des dernières années.

Les oxynils sont surtout actifs sur dicotylédones. Les bases de leur sélectivité sont multiples. Tout d'abord, les méristèmes des dicotylédones sont directement exposés à la pulvérisation du produit, donc à son action violente. Par contre, les méristèmes des graminées sont protégés par les gaines des feuilles. Ensuite, lors d'un traitement, les parties aériennes des dicotylédones retiennent en général davantage de

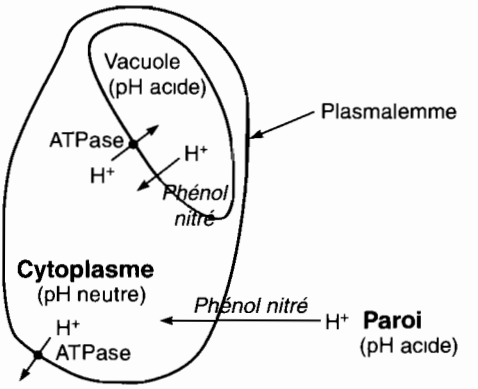


Figure 4 ■ Perméabilisation des membranes cellulaires par les phénols nitrés.

bouillie de pulvérisation que les graminées. Enfin, certaines espèces cultivées comme le blé possèdent une nitrilase qui dégrade cet herbicide.

3.3. La synthèse de la cellulose (cible L) : nitriles et benzamides

Deux herbicides, le dichlobenil et l'isoxaben, inhibent la synthèse de la cellulose (Hogetsu *et al.*, 1974 ; Heim *et al.*, 1980). Vu l'importance de ce polymère dans la constitution et la fonctionnalité des tissus végétaux, on comprend aisément l'effet de ces herbicides. La chlortiamide est un pro-herbicide, précurseur du dichlobénil.

3.4. La synthèse des lipides

3.4.1. Inhibition de l'acétyl-coenzyme A carboxylase (cible A) : aryloxyphénoxypropionates (ou fops) et cyclohexane-diones (ou dimes)

L'acétyl-coenzyme A carboxylase (ACCase) catalyse la première étape de la synthèse des acides gras, c'est-à-dire la formation du malonyl coenzyme A (figure 5). Cette réaction s'effectue en deux étapes. Tout d'abord le CO_2 est activé par l'ATP et est fixé sur la biotine (biotine carboxylase) ; ensuite le CO_2 est transféré de la biotine à l'acétyl-coenzyme A (carboxyl transférase). L'ACCase se rencontre dans le chloroplaste et le cytosol. En général, il s'agit d'une enzyme multimérique, les différentes étapes de la réaction étant catalysées par des monomères différents.

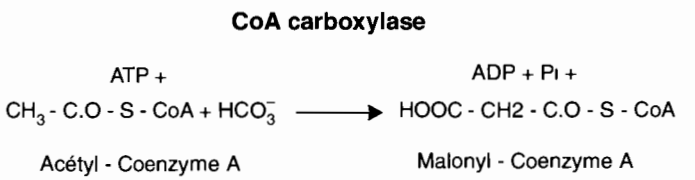


Figure 5 ■ Réaction catalysée par l'acétyl-coenzyme A carboxylase.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Cependant, les graminées possèdent dans le chloroplaste une forme dite eucaryotique où une seule chaîne peptidique comporte les domaines catalysant les différentes réactions. Seule cette forme est très sensible à deux groupes d'herbicides : les aryloxyphénoxypropionates (ou « fops ») et les cyclohexane diones (ou « dimes »). L'inhibition porte sur l'activité carboxyl transférase et elle est compétitive pour l'acétyl-coenzyme A. Ces herbicides sont peu actifs sur l'ACCase multimérique des dicotylédones.

Certaines *Geraniaceae* (genres *Erodium* et *Pelargonium*) constituent des exceptions car elles sont sensibles aux fops et aux dimes : il a été montré qu'elles ne possèdent pas l'ACCase multimérique (peu sensible) (Christopher et Holtum, 2000). À l'inverse, des Poacées comme *Poa annua* et *Festuca rubra* possèdent une ACCase non sensible ; un phénomène de coopérativité négative pour la fixation de l'herbicide sur l'enzyme pourrait être en cause (Price *et al.*, 2003). Les herbicides de type A offrent donc un exemple de sélectivité liée au site d'action. Toutefois, la sélectivité que certains de ces produits montrent à l'égard des céréales est le résultat d'une plus grande métabolisation par l'espèce cultivée (qui peut être renforcée par un phytoprotecteur).

3.4.2. *Inhibition de l'élongation des acides gras. cible K_3 : chloroacétamides, acétamides, oxyacétamides ; cible N : benzofuranes, thiocarbamates*

Ces herbicides inhibent l'élongation des acides gras à longue chaîne (20 à 24 atomes de carbone). Plusieurs enzymes semblent impliqués, comme en témoigne le fait que la concentration amenant une inhibition 50 % décroît avec la longueur de la chaîne (Schmalfuss et *al.*, 2000). Une utilisation des acides gras à longue chaîne est la formation des cires de la cuticule, qui constituent une barrière de diffusion à l'égard de l'eau et des diverses molécules de faible poids moléculaire présentes dans les tissus végétaux (Riederer et Schreiber, 1994). Les herbicides de type N et K_3 occasionnent donc des pertes de ces constituants. D'autre part, les sphingolipides contiennent souvent de longues chaînes carbonées (22 à 24 unités). Or, ce sont des composants majeurs de la membrane plasmique. Enfin, ce groupe d'herbicides limite la croissance par un mécanisme mal élucidé, qui pourrait concerner la synthèse de précurseurs des gibbérellines.

Ces produits agissent *via* le sol et sont plutôt actifs à l'égard des graminées. Leur sélectivité fait intervenir des différences de métabolisation entre les adventices et les espèces cultivées, renforcées parfois par une sélectivité de position.

3.5. La synthèse d'acides aminés

3.5.1. *Inhibition de l'énolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase (cible G) : glyphosate*

Le glyphosate inhibe l'enzyme EPSP synthase (enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase) qui catalyse la condensation du shikimate-3-phosphate et du phos-

phospho-énolpyruvate en 5-énolpyruvylshikimate-3-phosphate (Amrhein *et al.*, 1980). Le glyphosate se fixe sur le site actif du phosphoénolpyruvate et exerce une inhibition compétitive. L'EPSP synthase est l'avant-dernière étape de la voie de l'acide shikimique, qui produit le chorismate et conduit aux acides aminés aromatiques : phénylalanine, tyrosine et tryptophane, mais aussi à l'ubiquinone et à l'acide folique (figure 6). Son blocage se traduit évidemment par un arrêt de la synthèse protéique, mais les conséquences physiologiques sont plus diverses car, par exemple, le tryptophane est situé sur la voie de synthèse de l'auxine ; et la phénylalanine conduit à la lignine, dont on connaît la fonction dans les tissus de soutien du végétal. Pour souligner l'importance de la voie du shikimate, rappelons que, selon les auteurs, 20 à 35 % des substances carbonées d'un végétal en proviennent. Cette voie ne se rencontre que chez les végétaux et les micro-organismes. Outre cette atteinte aux divers métabolismes cités, le glyphosate provoque un épuisement des ressources carbonées du végétal par dérégulation de l'entrée de carbone dans la voie du shikimate.

L'EPSP synthase est située dans le chloroplaste mais est codée par un gène nucléaire. Le polypeptide produit est terminé par une séquence d'adressage, nécessaire pour qu'il pénètre dans le chloroplaste. Une fois à destination, la séquence d'adressage est coupée. Le glyphosate inhibe également l'importation du précurseur de l'enzyme dans le chloroplaste.

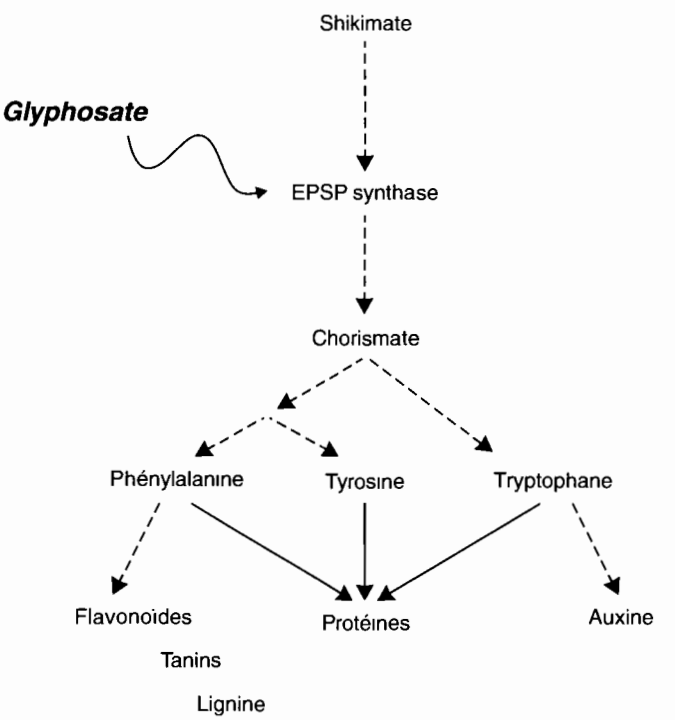


Figure 6 ■ Site d'action du glyphosate dans la voie du shikimate.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Le glyphosate présente une bonne mobilité dans les végétaux, où il se déplace dans le xylème et le phloème. Comme il affecte une enzyme présente dans toutes les parties du végétal, il peut détruire les parties souterraines des plantes pérennes, vers lesquelles il est véhiculé par la sève élaborée. De plus, comme il n'est que peu ou pas métabolisé par les végétaux, il possède un large spectre d'action qui en fait un herbicide non sélectif. Il est rapidement inactivé dans le sol par adsorption sur les argiles, ce qui permet l'implantation d'une culture dans un bref délai après le traitement. Ces multiples propriétés expliquent son succès au point qu'il est l'herbicide le plus utilisé dans le monde : désherbage total, désherbage des cultures pérennes (en traitement dirigé), désherbage après récolte ou avant semis.

3.5.2. *Inhibition de l'acétolactate synthase (cible B) : sulfonylurées, imidazolinones, triazolo-pyrimidines sulfonates, pyrimidynaloxybenzoates*

L'acétolactate synthase (ALS, parfois AHAS pour acétohydroxyacide-synthétase) est située au début des chaînes métaboliques conduisant à la biosynthèse des acides aminés branchés leucine, et isoleucine d'une part, valine d'autre part (figure 7). Elle est localisée dans le chloroplaste et est exprimée tout au long de la vie de la plante. C'est une enzyme allostérique, sujette à de nombreuses rétrorégulations. Les herbicides du groupe B sont des inhibiteurs allostériques dont le site d'action est distinct du site de fixation du substrat (Schloss *et al.*, 1988). On estime que l'action de ces herbicides résulte de l'accumulation d'α-cétobutyrate et d'α-aminobutyrate, toxiques, plutôt que du tarissement de la source d'acides aminés branchés.

Les sulfonylurées s'utilisent à très faibles doses (quelques g par hectare). Deux raisons peuvent expliquer cette pratique. Tout d'abord, l'ALS est peu abondante

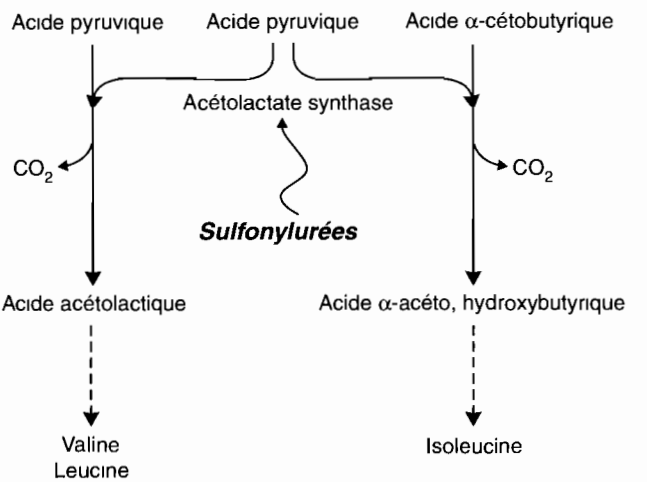


Figure 7 ■ Schéma des voies de synthèse des acides aminés branchés.

dans les végétaux, beaucoup moins que par exemple les protéines du transfert d'électrons photosynthétique. En second lieu, la stœchiométrie de l'interaction entre une sulfonylurée comme le chlorsulfuron et l'ALS est inférieure à l'unité (Schloss *et al.*, 1988).

Les herbicides de ces familles sont connus pour agir très lentement (trois à quatre semaines). Leur sélectivité est basée sur la métabolisation de l'herbicide par les espèces cultivées. Ils sont actifs aussi bien par absorption foliaire que racinaire ; cependant, l'importance de cette dernière voie de pénétration dépend de leur persistance dans le sol. Certaines sulfonylurées y étant très rapidement dégradées, elles ont de ce fait une action essentiellement foliaire.

3.5.3. Inhibition de la glutamine synthase (cible H) : glufosinate-ammonium

Le glufosinate-ammonium est le sel d'ammonium de la phosphinotricine, substance produite par divers *Streptomyces*, en particulier par *S. viridochromogenes*. C'est un herbicide non sélectif et qui est le seul à toucher la glutamine synthase (GS) (Hess, 2000). La GS présente des formes cytosolique et chloroplastique, et condense l'ammonium sur le glutamate (figure 8). Le glufosinate-ammonium se fixe sur l'enzyme en compétition avec le glutamate et, une fois lié, il est phosphorylé par l'ATP, ce qui rend sa liaison avec l'enzyme irréversible. L'activité GS est particulièrement importante dans le chloroplaste, non pas tant pour la production de glutamine, qui peut provenir d'autres points du métabolisme, mais car cette réaction permet de fixer l'ion ammonium, toxique pour le chloroplaste. En effet, l'ammonium est un perméabilisant de la membrane des thylakoïdes et en présence de trop fortes concentrations, le chloroplaste ne peut plus synthétiser d'ATP (effet découplant). L'ammonium est produit en grandes quantités lors de la réduction du nitrite et par la photorespiration. En outre, l'ammonium de la glutamine permet de transaminer le glyoxylate, toxique, produit par la photorespiration. De fait, les plantes à photosynthèse en C4, qui n'ont pas de photorespiration, sont moins facilement détruites que les plantes à photosynthèse en C3. Notons toutefois que l'implication de l'ion ammonium dans la phytotoxicité du glufosinate-ammonium est parfois controversée. Certains auteurs estiment que l'accumulation du glyoxylate en serait responsable. Ce dernier inhibe la ribulose di-phosphate carboxylase, laquelle rétro-inhibe la chaîne de transfert d'électrons, et l'on retrouverait les effets décrits pour les inhibiteurs du PSII.

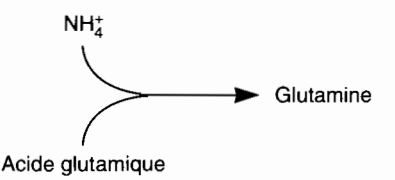


Figure 8 ■ Réaction catalysée par la glutamate synthase.

© Lavoisier – La photocopie non autonsée est un délit

3.6. La synthèse de pigments

3.6.1. Inhibition de la synthèse des caroténoïdes (cibles F)

Les tissus touchés par des herbicides bloquant la synthèse des caroténoïdes sont aussi dépourvus de chlorophylle ; c'est la conséquence du rôle protecteur des caroténoïdes dans la neutralisation de la chlorophylle à l'état triplet et de l'oxygène singulet. Les plantes traitées présentent des tissus albinos, essentiellement les plus jeunes car les caroténoïdes qui préexistent au traitement ne sont pas touchés. La synthèse des caroténoïdes peut être affectée en plusieurs sites (Hess, 2000). La cible F1 est la phytoène désaturase (PDS), la cible F2 est la 4-hydroxyphénylpyruvate dioxygénase (ou HPPD), et la cible F3 rassemble les produits bloquant la synthèse des caroténoïdes, mais dont la cible biochimique n'est pas connue avec précision. Pour l'amitrole, on suppose qu'il s'agit de la lycopène cyclase. Dans le cas de la clomazone, la synthèse des diterpènes et des tétraterpènes (voie des isoprénoïdes) est inhibée, sans que l'enzyme cible soit clairement identifiée.

3.6.1.1. Inhibition de la phytoène désaturase (cible F1) : pyridinecarboxamides, flurtamone, flurochloridone

Les inhibiteurs de la phytoène désaturase sont surtout actifs contre les dicotylédones, avec des activités complémentaires contre certaines Poacées comme *Agrostis stolonifera*, *Poa annua* et *Alopecurus myosuroides*. Parmi les plus utilisés, on trouve le diflufénican, la flurochloridone, le norflurazon et le récent picolinafen. Dans le cas du diflufénican et du norflurazon, il a été montré que l'inhibition de l'enzyme est réversible et non compétitive. Le diflufénican présente un cas somme toute assez rare de sélectivité liée à des différences de pénétration dans les plantes. *Via* le sol, le diflufenican pénètre environ cent fois plus dans *Viola tricolor* que dans le blé ; les valeurs correspondantes pour *Stellaria media*, *Digitaria sanguinalis* et *Galium aparine* se situent respectivement autour de 70, 60 et 10. Par pénétration foliaire, on constate aussi de nettes différences. En raison de sa forte lipophilie (logP = 4,9), le diflufenican se dissout facilement dans les cires de la cuticule. Par contre, il se désorbe très mal de la cuticule vers les parois pecto-cellulosiques des cellules épidermiques, milieu hydrophile pour lequel il a très peu d'affinité. Il ne pénètre en fait de manière significative que par les méristèmes (Knight et Kirkwood, 1991). Or, les méristèmes des Poacées sont protégés de la pulvérisation par les gaines des feuilles. En conséquence, la pénétration foliaire du diflufenican dans les graminées est faible par rapport à ce que l'on observe chez les dicotylédones.

3.6.1.2. Inhibition de la 4-hydroxy phényl pyruvate dioxygénase (HPPD) (cible F2) : tricétones, isoxaflutole

Les tricétones (mésotrione et sulcotrione) et l'isoxaflutole occasionnent les mêmes symptômes de phytotoxicité que les inhibiteurs de la phytoène désaturase. Cependant, ils n'ont aucune action directe sur cette enzyme. Ce sont des inhibiteurs com-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un delit

pétitifs de l'HPPD, qui mène à la production d'homogentisate, précurseur clé dans la synthèse des tocophérols et des quinones. Parmi ces dernières, on trouve la plastoquinone (PQ) dont il a été question au sujet des herbicides de type C. La PQ étant un co-facteur de la phytoène désaturase, les herbicides de type F2 bloquent indirectement cette enzyme (Hess, 2000). La mise au point des tricétones résulte d'un travail de chimie mené à partir d'une tétracétone, la leptospermone, substance allélopathique produite par des espèces de Myrtacées du genre *Callistemon*. La leptospermone a un caractère d'herbicide total, c'est-à-dire sans sélectivité, et elle est active à la dose 5 $kg.ha^{-1}$. La mésotrione et la sulcotrione sont sélectives du maïs et homologuées aux doses respectivement 100 et 300 $g.ha^{-1}$.

La sélectivité de ces herbicides est basée sur la métabolisation par la plante cultivée (Pallett *et al.*, 1998). L'isoxaflutole diffère des tricétones par son mode d'emploi. Alors que ces dernières sont appliquées en post-levée et entrent dans les plantes par les parties aériennes et souterraines (avec une prédominance pour les premières), l'isoxaflutole est appliqué en pré-levée et agit *via* le sol. En fait, c'est un isomère, le dicétonitrile, qui constitue la molécule active par fixation quasi-irréversible sur la HPPD. L'isoxaflutole, non herbicide, pénètre mieux dans les plantes et y est ensuite converti en dicétonitrile (figure 9).

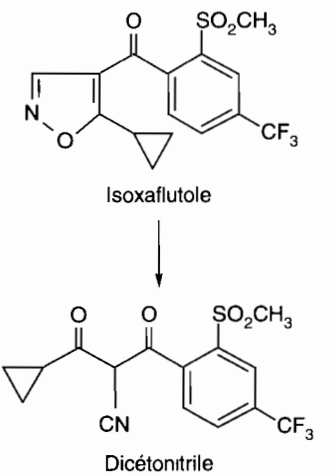


Figure 9 ■ Isomérisation de l'isoxaflutole en dicétonitrile.

L'implication de la PQ dans l'action des herbicides de type C et F2, explique les synergies observées entre les produits de ces deux groupes. Les premiers sont des inhibiteurs compétitifs de la PQ au niveau de son site de réduction par le PS II. La baisse de concentration de PQ résultant de l'action d'un herbicide F2 renforce donc l'action d'un herbicide C.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

3.6.2. *Inhibition de la protoporphyrinogène oxydase (cible E) : diphényléthers, oxadiazoles, triazolinones, N-phénylphtalimides, phénylpyrazoles*

De nombreux herbicides inhibent la protoporphyrinogène oxydase (PPO), enzyme de la voie de synthèse des chlorophylles. L'action toxique résulte de l'accumulation de protoporphyrine IX (Hess, 2000). Sous l'influence de la lumière, cette dernière produit (comme la chlorophylle) des espèces activées de l'oxygène. Sous de fortes luminosités, ces produits exercent une action rapide, semblable à celle des bipyridyles : la mort de la plante fait suite à des dommages oxydatifs. Les herbicides de ce type qui ont été étudiés à ce jour sont des inhibiteurs compétitifs de la PPO vis-à-vis du protoporphyrinogène IX.

Ce sont des produits peu solubles dans l'eau, fortement fixés dans les couches superficielles du sol. Ceux d'entre eux qui sont peu persistants dans ce milieu (biténox, oxyfluorfène, pyraflufen-éthyl, carfentrazone-éthyl) sont essentiellement des herbicides à pénétration foliaire. La sélectivité des diphényléthers fait intervenir leur métabolisation par la plante cultivée, renforcée dans certains cas par la sélectivité de position.

3.7. La division cellulaire (cible K_1) dinitroanilines, benzamides, pyridines

Les dinitroanilines constituent le groupe le plus important. Ces herbicides agissent *via* le sol où ils bloquent la croissance des racines, dont l'extrémité se renfle. L'examen au microscope montre que dans le méristème, les divisions cellulaires sont bloquées au stade de la prophase. Cette action résulte d'une fixation de l'herbicide sur l'α-tubuline (Morejohn *et al.*, 1987). L'hétéropolymère d'α- et de β-tubuline ne peut alors plus se former, ce qui empêche la polymérisation de la tubuline en microtubules. En outre, ces herbicides causent la dépolymérisation des microtubules. Ces derniers étant essentiels à la migration des chromosomes lors de la division cellulaire, celle-ci ne peut plus se dérouler normalement. Ces herbicides se fixent mal sur la tubuline de mammifères et sont donc peu toxiques à leur égard.

Les bases de leur sélectivité sont multiples. Les dinitroanilines ne sont pas métabolisées par les plantes, qu'elles soient sensibles ou résistantes. Par contre, on observe une pénétration plus importante dans les plantes sensibles, sans que ce phénomène soit bien expliqué. Ensuite, les plantes riches en lipides séquestrent ces herbicides dans leurs compartiments lipophiles (le plus souvent au niveau de la graine) et limitent ainsi leur biodisponibilité. Enfin, la sélectivité de position joue aussi un rôle.

3.8. Le récepteur de l'auxine (cible O) : acides phénoxycarboxyliques, acides benzoïques, acides pyridyne carboxyliques, acides quinoléine carboxyliques

Les acides phénoxycarboxyliques furent les premiers inventés (Troyer, 2001). Les dérivés benzoïques sont plus stables dans les végétaux, de même que les dérivés

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

pyridyne et assimilés. Les acides quinoléines carboxyliques sont les plus récents, le quinlorac inhibant également la synthèse de cellulose. Les herbicides auxiniques sont des anti-dicotylédones de post-levée ; cependant, le clopyralid peut être utilisé dans des cultures de dicotylédones (betterave, colza, chou) car elles sont capables de le métaboliser.

À faibles doses, les herbicides auxiniques agissent de manière similaire à l'auxine naturelle (acide indolacétique). À fortes doses, les plantes ne sont pas capables de réguler leur concentration dans les différents tissus et ils occasionnent alors des perturbations de croissance. On observe des symptômes d'épinastie, ou courbure des tissus en croissance, qui peuvent être spectaculaires avec de véritables enroulements des tiges. Il se produit aussi des fasciations, ou épaississement des tiges, qui résultent de proliférations cellulaires dans les cambiums. On considère que cette action est souvent responsable de la mort des plantes traitées car, les cambiums étant situés au niveau des systèmes vasculaires, leur développement anarchique comprime les vaisseaux et déprime les mouvements de sève. Dans les cas extrêmes, des déchirures apparaissent sur la tige, par lesquelles s'engouffrent des micro-organismes. Les monocotylédones ne possédant pas de cambiums, elles sont moins sensibles aux herbicides auxiniques que les dicotylédones. Comme pour les oxynils, la sélectivité à l'égard des graminées résulte aussi de la moindre exposition de leurs méristèmes et de la plus faible mouillabilité de leurs surfaces foliaires. La métabolisation peut aussi jouer un rôle important (Pillmoor et Gaunt, 1981).

3.9. Le transport de l'auxine (cible P) : naptalame

Le naptalame est un inhibiteur du transport de l'auxine (Schmidt, 1997) ; il inverse aussi le géotropisme.

3.10. La 7,8-dihydroptéroate synthase (cible I) : asulame

L'asulame est le seul herbicide à inhiber la 7,8-dihydroptéroate synthase (DHP), qui prend part à la synthèse de l'acide folique. Celui-ci est impliqué dans la synthèse des bases puriques et pyrimidiques et de certains acides aminés. L'asulame agit aussi comme inhibiteur des mitoses. Il a pour particularité d'être actif sur les fougères.

Conclusion

Cet exposé montre la prévalence du chloroplaste comme cible des herbicides. On le rencontre bien sûr dans le cas des produits qui interfèrent avec la photosynthèse, mais aussi pour ceux qui affectent les nombreuses synthèses dont il est le siège : lipides (cible A), acides aminés (cibles B, G et H), pigments (cibles E et F). Il est fort probable que cette prévalence a un lien avec la sélectivité d'action des herbicides à l'égard des végétaux.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

On pourrait s'étonner du faible nombre de cibles (dix-neuf identifiées), en regard de la multitude d'enzymes présentes dans la cellule végétale : autour de 25 000 chez *Arabidopsis thaliana* (Gressel, 2002). Cependant, de nombreuses d'entre elles peuvent être inhibées sans que le fonctionnement de la cellule et la croissance du végétal soient fortement perturbés. Seule une minorité (entre 250 (Gressel, 2002) et 1200 (Vizir *et al.*, 1994)) ne présente pas de redondances (isozymes), ou des métabolismes parallèles permettant de pallier leur inhibition. Encore faut-il que la plante ne dispose pas de réserves suffisantes lui permettant de survivre jusqu'à ce que l'herbicide soit inactivé. Une situation favorable s'observe lorsque, à la suite de l'inhibition d'une enzyme, un précurseur toxique s'accumule. Seule une minorité de ces 250 à 1200 sites putatifs présenterait ces caractéristiques, au total quelques dizaines d'enzymes. Les expériences d'inactivation de gènes, qui permettent d'identifier des enzymes dont le blocage a des conséquences létales, apportent des résultats cohérents avec ces vues (Gressel, 2002). La mise au point d'herbicides au cours des soixante dernières années a donc consisté à rechercher des substances capables d'affecter ces étapes métaboliques sensibles. Contrairement à ce que l'on observe pour les insecticides, les substances naturelles ont peu inspiré les chimistes, sauf dans les cas du glufosinate-ammonium et des tricétones.

Références bibliographiques

Amrhein N., Deus B., Gehrke P., Steinrücken H.C. (1980). The site of the inhibition of the shikimate pathway by glyphosate. *Plant Physiol*, **66** : 830-834.

Baur P., Marzouk H., Schönherr J., Bauer H. (1996). Mobilities of organic compounds in plant cuticles as affected by structure and molar volumes of chemicals and plant species. *Planta*, **199** : 404-412.

Briggs G.G., Bromilow R.H., Evans A.A. (1982). Relationships between lipophilicity and root uptake and translocation of non-ionised chemicals by barley. *Pestic Sci*, **13** : 495-504.

Briggs G.G., Rigitano R.L.O., Bromilow R.H. (1987). Physicochemical factors affecting the uptake by roots and translocation to shoots of weak acids in barley. *Pestic Sci*, **19** : 101-112.

Briggs G.G., Bromilow R.H. (1994). Influence of physicochemical properties on uptake and loss of pesticides and adjuvants from the leaf surface. *In* Holloway P.J., Rees R., Stock D., *Interactions between adjuvants, agrochemicals and target organisms*. Springer Verlag, Berlin, 1-26.

Christopher J.T., Holtum J.A.M. (2000). Dicotyledons lacking the multisubunit form of the herbicide-target enzyme acetyl coenzyme A carboxylase may be restricted to the family Geraniaceae. *Austral J Plant Physiol*, **9** : 845-850.

Frear D.S. (1976). Ioxynil and bromoxynil. *In* Kearney P.J., Kaufmann D.D., *Herbicides*, Vol 2. Marcel Dekker, New York, 582-587.

Gauvrit C. (1996). La pénétration par les organes aériens. *In* Gauvrit C., *Efficacité et sélectivité des herbicides*. INRA Éditions, Versailles, 3-14.

Gressel J. (2002). *Molecular Biology of Weed Control*. Taylor & Francis, London.

Heim D.R., Skomp J.R., Tschabold E.E, Larrinua I.M. (1990). Isoxaben inhibits the synthesis of acid-insoluble cell wall materials in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol*, **93** : 695-700.

Hess F.D. (2000). Light-dependent herbicides: an overview. *Weed Sci*, **48** : 160-170.

Hogetsu T., Shibaoka H., Shimokoriyama M. (1974). Involvement of cellulose synthesis in actions of gibberellin and kinetin on cell expansion. 2,6-dichlorobenzonitrile as a new cellulose-synthesis inhibitor. *Plant Cell Physiol*, **15** : 389-393.

Knight H., Kirkwood R.C. (1991). Cuticular penetration of foliar-applied diflufenican in *Galium aparine* L. *Pestic Sci*, **33** : 305-318.

Morejohn L.C., Bureau T.E., Mole-Bajer J., Bajer A.S., Fosket D.E. (1987). Oryzalin, a dinitroaniline herbicide, binds to plant tubulin and inhibits microtubule polymerization *in vitro*. *Planta*, **172** : 252-264.

Pallett K.E., Little J.P., Sheekey M., Veerasekaran P. (1998). The mode of action of isoxaflutole. I. Physiological effect, metabolism, and selectivity. *Pestic Biochem Physiol*, **62** : 113-124.

Pillmoor J.B., Gaunt J.K. (1981). The behaviour and mode of action of phenoxyacetic acids in plants. *In* Hutson D.H., Roberts T.R., *Progress in Pesticide Biochemistry*, Vol 1, Wiley, 147-218.

Price L.J., Herbert D., Moss S.R., Cole D.J., Harwood J.L. (2003). Graminicide insensitivity correlates with herbicide-binding co-operativity on acetyl-CoA carboxylase isoforms. *Biochem J*, **375** : 415–423.

Riederer M., Schreiber L. (1994). Waxes – The transport barrier of plant cuticles. *In* Hamilton R.J., *Waxes : chemistry, molecular biology and functions*. Wiley, London, 131-156.

Schloss J.V., Ciskanik L.M., Van Dyck D.E. (1988). Origin of the herbicide binding site of acetolactate synthase. *Nature*, **331** : 360-362.

Schmalfuss J., Matthes B., Knuth K., Böger P. (2000). Inhibition of Acetyl-CoA elongation by chloroacetamide herbicides in microsomes from leek seedlings. *Pestic Biochem Physiol*, **67** : 25-35.

Schmidt R.R. (1997). HRAC Classification of Herbicides according to Mode of Action. *British Crop Protection Conference – Weeds*, 1133-1140.

Troyer J.R. (2001). In the beginning: the multiple discovery of the first hormone herbicides. *Weed Sci*, **49** : 290-297.

Vizir I., Anderson M., Wilson Z., Mulligan B. (1994). Isolation of deficiencies in the *Arabidopsis* genome by γ-irradiation of pollen. *Genetics*, **137** : 1111-1119.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

4

Les régulateurs de croissance en agriculture

Gérard Vansuyt, Grégory Vert,
Marièle Larcher

D'un point de vue réglementaire, les régulateurs de croissance employés pour divers usages dans la plupart des cultures sont assimilés aux produits de protection des plantes. De ce fait, leur commercialisation est conditionnée par une autorisation de mise sur le marché (AMM ou homologation) qui est délivrée après évaluation des effets bénéfiques et des risques réalisée selon les mêmes procédures que pour les autres produits phytopharmaceutiques. Certaines molécules commercialisées en tant qu'herbicides ou fongicides présentent aussi des effets sur la croissance des plantes. Elles peuvent donc aussi bénéficier d'une AMM en tant que régulateur de croissance.

L'utilisation des substances de croissance en agriculture est relativement récente. Elle a débuté dans les années 60 avec l'emploi d'anti-germes sur pomme de terre et d'un réducteur de paille en céréales. Pourtant, les premières démonstrations de l'effet auxinique sont réalisées par Darwin au XIX^{e} siècle.

Ces régulateurs de croissance sont utilisés en agriculture avant tout pour modifier le potentiel de croissance et de rendement de la plante, pour faciliter la conduite de la culture, pour garantir la qualité de la récolte. En effet, ces molécules ont la capacité de stimuler ou de limiter la croissance végétative des parties aériennes, d'en modifier la ramification mais aussi de moduler la croissance et la productivité des organes reproducteurs. Ces molécules sont particulièrement utiles à la conservation des fruits après récolte, car en modifiant l'évolution métabolique des produits récoltés, elles contribuent à limiter l'incidence et la gravité des maladies physiologiques.

Les effets stimulateurs ou inhibiteurs des processus physiologiques, qui influencent de manière positive ou négative la vigueur des végétaux, peuvent également

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

influencer leur résistance aux maladies et aux insectes, les rendant plus sensibles ou au contraire plus résistants à ces bio-agresseurs.

Les effets négatifs avérés des régulateurs de croissance sont souvent associés au surdosage ou sous dosage mais d'autres facteurs associés à l'environnement comme la pollution en métaux lourds peut entraîner des conséquences inattendues.

Ce chapitre sur les substances de croissance, dénommées régulateurs pour leur usage en agriculture, est consacré à leur histoire, leurs usages, les effets physiologiques et les interactions métaboliques ainsi que la dépendance de leur mode d'action avec l'environnement biotique et abiotique.

1. *Origine de l'utilisation des substances de croissance*

Les milieux mis au point pour les cultures de bactéries en conditions aseptiques par Pasteur et Koch, ont permis d'effectuer les premières expériences de culture *in vitro* de tissus de plante. En 1902, l'échec de la culture de cellules végétales par l'Allemand Haberland, le conduit à conclure que cette mise en culture deviendra possible lorsque les « éléments régulateurs » seront découverts. La purification de la première molécule à activité auxinique, l'acide indole acétique (AIA), en 1933 a rendu possible la culture des tissus méristèmatiques d'arbres, de carottes ou de racines de tomate. Le rôle important des régulateurs de croissance chez les végétaux fut aussi révélé lors de la mise au point de la culture *in vitro* de méristèmes apicaux, permettant la régénération d'une plante à partir d'amas cellulaires indifférenciés. En 1946, E. Ball régénérait quelques plantes de lupin et de capucine à partir d'apex méristèmatiques, et en 1952, Morel et Martin obtenaient une plante de dahlia indemne de virus, régénérée à partir de méristème apical de plante virosée, en utilisant les phytohormones connues et des extraits végétaux (Margara, 1984). L'acide gibbérellique et la kinétine furent isolés dans les années 50, et en 1956 Wickson et Thimann observaient que la dominance apicale des pois était levée par des traitements aux cytokinines. Les travaux de Skoog et Miller en 1957, sur l'équilibre auxines sur cytokinines ont ouvert la voie à la micropropagation des plantes *in vitro* (Doré, 1989). Ces substances de croissance ont des actions stimulatrices sur le métabolisme cellulaire, alors que d'autres, isolées plus tard, comme l'acide abscissique et l'éthylène, isolés respectivement en 1967 et 1968, ont des effets inhibiteurs. Par contre, sur « plante entière » chacune d'entre elles, selon la dose employée et la période d'application, peut être stimulatrice ou inhibitrice d'une étape physiologique. Des analogues artificiels de ces substances biologiques naturelles ont été synthétisés dans les années 40 (Audus, 1976), comme les acides naphthylacétique (ANA), méthylchlorophénoxyacétique (MCPA), 2,4 dichlorophénoxyacétique (2,4 D) utilisés comme herbicides à effet hormonal.

2. *Les usages actuels des régulateurs de croissance*

Ces molécules sont appliquées selon différents modes, sur tout ou partie de la plante à certains moments de son développement, en grandes cultures et en cultures légumières, arboriculture, viticulture, cultures ornementales et forestières, mais aussi dans les espaces enherbés cultivés ou non. Leur application a plusieurs objectifs :

– favoriser ou inhiber la germination, le bourgeonnement ou les repousses ;
– faciliter la multiplication végétative, le bouturage et la transplantation ;
– modifier le développement du système aérien, en hauteur, force et ramification, jusqu'à la défoliation ;
– maîtriser la reproduction des plantes pour améliorer la qualité et/ou la quantité des produits, depuis l'induction florale jusqu'au stockage des organes récoltés.

Les molécules contenues dans les spécialités homologuées en France et utilisées en agriculture comme régulateurs se répartissent en 3 groupes principaux :

– les molécules à activité biologique naturelle, mais issus de synthèse chimique : acide indolacétique, acide indolbutyrique (AIB), les acides gibbérelliques (GA_3, GA_4, GA_7), et la zéatine. Elles sont utilisées comme hormones végétales ;
– les molécules à propriétés auxiniques perturbantes comme l'ANA, le 2,4-D, le MCPA, l'acide 2,4,5-trichlorophénoxy-acétique (2,4,5-T) et l'acide méthylchlorophénoxypropionique (MCPP), employées à faible concentration et utilisées à l'origine comme herbicides ;
– les herbicides, fongicides ou insecticides, à effet inhibiteur du métabolisme hormonal des plantes (dérivés carbamates, triazoles, quinone, toluidine) employés à des doses plus importantes, donc plus polluantes.

Les usages des régulateurs de croissance autorisés en agriculture sont présentés dans le tableau 1.

L'usage et l'effet des molécules contenues dans les spécialités homologuées sont dépendants de leur mode d'action qui modifie le métabolisme hormonal endogène. La modification du métabolisme hormonal de la plante peut aussi entraîner un changement de comportement des végétaux vis-à-vis de leur environnement biotique ou abiotique. Par exemple, les réducteurs de paille utilisés pour lutter contre la verse, ont un effet favorable sur la résistance au déficit hydrique, grâce à un meilleur enracinement.

3. *Effets physiologiques des principales substances de croissance végétale*

La régulation physiologique des plantes est contrôlée par les phytohormones et d'autres molécules endogènes comme les polyamines. Ces molécules sont sous la dépendance d'événements génétiques et environnementaux qui influencent l'équilibre de ces métabolites.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau I ■ Nomenclature des usages en agriculture, et de la spécificité culturale des molécules ayant un effet régulateur de croissance.

Usage agronomique	molécule	Spécificité d'application
Stimulation de la rhizogenèse (plantes racinées ou non).	Acide α-indole butyrique (AIB). Acide 2-méthyl-1-naphtylacétique. Acide α-naphtylacétique (ANA). α-naphtylacétamide (NAA). Acide α-naphtalène acétique. Triclopyr.	Arbres et arbustes d'ornement, culture florale (rosier, chrysanthème, hortensia, œillet, pélargonium), vigne. Culture florale (rosier, pélargonium), artichaut, vigne, pêcher, pommier, prunier. Arbres et arbustes d'ornement ; culture florale (rosier, pélargonium, chrysanthème, hortensia, œillet), vigne, pêcher, pommier, prunier. Cultures florales (rosier, pélargonium), pommier.
Stimulation de la croissance des organes aériens.	GA_3 (gibbérelline).	Pois, vigne.
Action sur le processus de ramification.	6-benzyladénine (cytokinine). Paclobutrazole (triazole, fongicide). Dikégulac-sodium (propylidène). Flurpirimidol (pyrimidine).	Pommier. Cultures florales (pelargonium, chrysanthème).
Limitation de la croissance des organes aériens.	Chlorméquat chlorure (ammonium quaternaire, anti-gibbérelline). Mépiquat chlorure (pipéridine, anti-gibbérelline). Méfluidide (sulfoanilide, herbicide). Acide 2-méthyl-1-naphtylacétique ; acide β-indole butyrique ; α-naphtylacétamide. Paclobutrazole (triazole, fongicide). Tébuconazole (triazole, fongicide). Prohexadione-calcium (pipéridine, anti-gibbérelline).	Blé tendre et dur d'hiver et printemps, crucifères oléagineuses, lin, orges d'hiver et de printemps, avoine et seigle d'hiver, triticale. Blé tendre et dur d'hiver, lin, orges d'hiver et printemps, tournesol, triticale. Gazons de graminées. Hortensia. Crucifères oléagineuses, cultures florales (pélargonium, chrysanthème), lin, pêcher. Crucifères oléagineuses. Orges d'hiver et printemps, blé tendre d'hiver, poirier, pommier.

	Sulfosate (herbicide). Trinexapac-éthyl (cyclohexane). Dikégulac-sodium (furanoside). Éthéphon (éthylène).	Jachère semée (fétuque rouge, moutarde blanche, phacélie, ray-grass anglais et italien, trèfles « blanc, incarnat, violet », vesce commune. Orges d'hiver et printemps, blé tendre d'hiver, gazons de graminées. Arbres et arbustes d'ornement. Orges d'hiver et de printemps, blé tendre et dur d'hiver, seigle, lin, tournesol, maïs, triticale.
Action sur les processus de floraison.	GA_3 (gibbérelline). Éthéphon (éthylène).	Agrumes, artichaut, poirier. Ananas.
Modification du niveau de nouaison.	Acide α-naphtylacétique (ANA) (auxine). Acide chloro-4-phénoxyacétique (auxine). α-naphtylacétamide (auxine). GA_3 (gibbérelline).	Pêcher, pommier, prunier, courgette, tomate. Aubergine, tomate. Pêcher, pommier, prunier, courgette, tomate. Pêcher.
Action sur le processus de chute des fruits.	Acide α-naphtylacétique (ANA). α-naphtylacétamide (auxine).	Pommier. Pommier.
Régulation de la maturation des fruits.	Acide α-naphtylacétique (ANA) (auxine). GA_3 (gibbérelline). Naphtoxy-Z acétamide (auxine). Éthéphon (éthylène).	Tomate. Poirier, clémentinier. Tomate. Tomate, pommier, pêcher, clémentinier, hortensia, poinsettia, broméliacées ornementales, vigne (éclaircissage).
Amélioration de la qualité des fruits.	GA_3 (gibbérelline). 6-benzyladénine (cytokinine). Polymère d'amines grasses. Carbaryl (carbamates). Diclorprop (2,4 DP).	Vigne, agrumes. Pommier (prolongement de maturation). Pêcher. Pommier (éclaircissage). Clémentinier, pommier (maintien des fruits).

Tableau I (suite) ■ Nomenclature des usages en agriculture, et de la spécificité culturale des molécules ayant un effet régulateur de croissance.

Usage agronomique	molécule	Spécificité d'application
Action sur les processus de tubérisation.	GA_3 (gibbérelline).	Pomme de terre.
Action anti-rugosité.	6-benzyladénine (cytokinine). $GA_3 + GA_7$ (gibbérelline).	Pommier.
Action anti-germes.	Hydrazide maléique (pyridazine). Chlorprophame, prophame (carbamate). Butraline (toluidine, herbicide). Alcools gras.	Pomme de terre, ail, oignon, échalote. Pomme de terre. Tabac (ébourgeonnage). Pomme de terre, tabac (ébourgeonnage).
Action d'agent chimique d'hybridation.	Cintofen (amine). Clofencet (pyridazine). Aryl-alkyl polyether alcool. Karetazan potassium (pyridine).	Blé tendre et dur d'hiver (semences hybrides). Blé (semences hybrides). Blé (semences hybrides). Maïs (semences hybrides).
Conservation des fleurs coupées.	Acide salicylique. Thiosulfate de sodium ou d'argent. Sulfate-8-hydroxyquinoléine (quinone).	Pas de restriction. Pas de restriction. Pas de restriction.

3.1. Les propriétés auxiniques

L'élongation cellulaire est l'effet majeur des auxines. Les récepteurs de l'auxine libre localisés sur la face externe du plasmalemme, participent à la régulation de l'efflux de protons (activité H^+-ATPases), par une chaîne de transduction du signal non encore clairement élucidée (Santoni *et al.*, 1991). L'efflux de protons, en acidifiant le pH de 6,5 à 4,5 au voisinage de la paroi, favorise son relâchement. Les conséquences physiologiques lors de l'usage agronomique sont les suivantes :

– stimulation de la rhizogenèse qui constitue la principale application des auxines destinées à favoriser le bouturage. Toutefois, l'application trop prolongée à la base de la bouture inhibe la croissance racinaire ;

– action sur la dominance apicale car l'auxine endogène issue du bourgeon terminal, ou son apport exogène, réprime le développement des bourgeons latéraux (ramification) ;

– effet sur le développement des fruits puisque l'auxine participe au développement du péricarpe des fruits charnus. L'ovaire sécrète de l'auxine en grande quantité après la pollinisation et induit la prolifération des tissus du péricarpe. Dans certains cas, l'apport d'auxine peut remplacer la pollinisation et permet d'obtenir des fruits parthénocarpiques (sans fécondation donc sans graine).

Plusieurs herbicides à propriété auxinique sont utilisés pour favoriser le bouturage, le pincement chimique, la ramification, le retard à la maturation, ou encore la multiplication végétative et la culture *in vitro*. Leur utilisation est cruciale en pépinière et en horticulture.

Les anti-auxiniques : l'acide 1-naphthylphtalamique (NPA), l'acide clofibric (chlorophénoxyméthylpropionique) et l'acide 2,3,5-triiodobenzoïque (TIBA) agissent directement sur le transport polaire des auxines. D'autres molécules dites « inhibitrices de croissance » agissent en modifiant le rapport auxinique, comme par exemple la glyphosine ; N,N-bis(phosphomonométhyl)glycine. C'est aussi le cas des inhibiteurs de germination et de certaines spécialités permettant la ramification des tiges et l'éclaircissage des fruits (tableau 1), sans oublier les acides abscissique et jasmonique qui n'ont pas d'application agronomique.

3.2. Effets des cytokinines

En 1963, la zéatine, première cytokinine naturelle, est isolée à partir de semences de *Zea mays* ; depuis cette date, plus de 30 cytokinines ont été identifiées et isolées. Ces substances, combinées à l'auxine, stimulent la division cellulaire végétale et orientent la différenciation cellulaire. Dans les plantes, les cytokinines sont libres ou associées à du ribose, ou liées à l'extrémité 3' de l'anti-codon des acides ribonucléiques de transfert (ARN_t). La benzylaminopurine très active ne se lie pas ou peu aux ARN_t. Les cytokinines sont impliquées dans la synthèse des protéines en activant l'ARN polymérase. Les régions de l'apex racinaire sont les sites essentiels de synthèse des cytokinines entraînées dans la plante par la sève brute (Howell *et al.*,

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un delit

2003). Cependant, on trouve des cytokinines dans des jeunes tissus aériens, où elles sont synthétisées.

Les cytokinines sont complémentaires de l'auxine pour la croissance, mais antagonistes de l'auxine pour la différenciation des bourgeons et des racines. L'équilibre entre ces hormones contrôle la division cellulaire, la différenciation des plastes, l'inhibition de la sénescence des feuilles, et favorise le remplissage des grains de maïs. La dégradation par l'activité cytokinine oxydase (CKO) est importante dans la régulation de leurs teneurs chez les plantes.

La benzyladénine favorise la formation de bourgeons latéraux sur certains conifères, les rosiers et les jeunes pommiers en formation. En effet, sur les rameaux où les bourgeons sont déjà formés, les cytokinines sont capables de lever la dominance apicale sur les bourgeons axillaires, due ou non, à l'inhibition causée par l'auxine issue du bourgeon terminal. Leur utilisation en agriculture est réduite à la ramification et au retard de la sénescence (amélioration de la qualité des fruits).

3.3. Actions des gibbérellines

En 1926, Eiichi Kurosawa, montre que le gigantisme du riz peut être induit par un extrait aqueux du champignon *Gibberella fujikuroï,* à partir duquel Yabuta et Sumiki (en 1935), isolent un mélange de substances cristallisées dénommé gibbérellines (Hardtke, 2003). Actuellement, 89 structures différentes ont été identifiées chez les végétaux, mais seulement 4 sont actives et appliquées en agriculture (figure 1). Leur nomenclature va de GA1 à GA89, et leur biosynthèse a lieu dans les tissus en division comme les apex de jeunes pousses et de racines, les jeunes feuilles et l'embryon. Les gibbérellines peuvent migrer par le phloème et le xylème, et leur transport n'est pas polarisé. Elles peuvent être mises en réserve de façon temporaire sous forme de glycosides.

Les principaux effets exploités en agriculture sont :

– l'allongement des entre-nœuds en stimulant à la fois la division et l'élongation cellulaire. Cet effet s'exerce aussi sur les tissus corticaux et épidermiques, insensibles à l'auxine. L'application de gibbérellines sur la canne à sucre induit une augmentation de rendement en sucre de l'ordre de 1 T. ha^{-1} ;

– la levée de la dormance des semences avec induction de la synthèse d'amylase dans les graines, et des bourgeons chez le pêcher ou le groseillier ;

– l'entrée en dormance des bourgeons à l'automne par interactions avec l'acide abscissique ;

– l'augmentation de la taille des fruits, sur les variétés de raisin apyrène car les variétés avec pépins sont insensibles. Un apport de gibbérellines avant la nouaison, augmente la taille des fruits, et les pulvérisations au stade préfloral ou floral favorisent l'élongation des pédoncules, réduisent le nombre de baies et augmentent la taille des fruits restants ;

– la stimulation de la croissance des feuilles et de la formation des fruits (pommes, poires, agrumes) par l'application de GA_3 utilisée seule ou en association

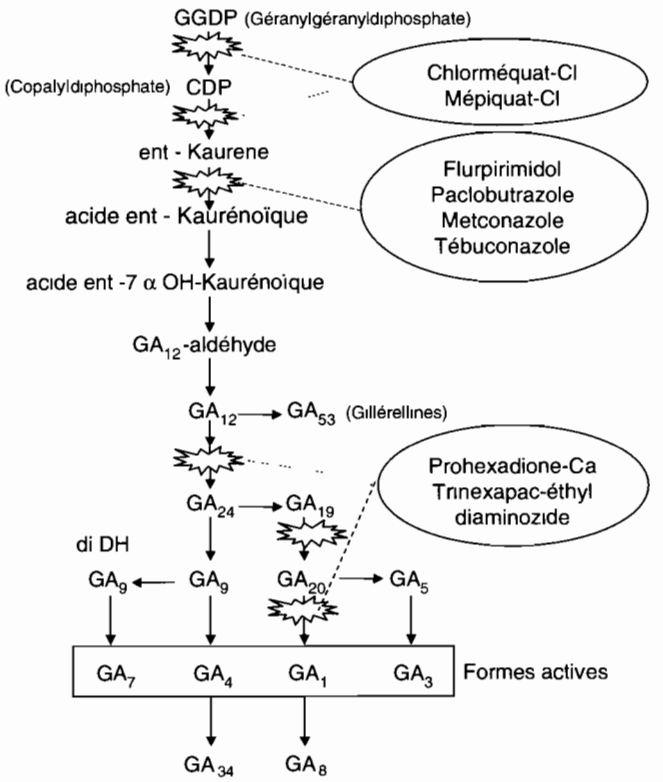


Figure 1 ■ Sites d'inhibition métabolique.

avec l'auxine. Si le climat est défavorable aux pollinisateurs, le traitement des arbres fruitiers en floraison conduit aussi à la production de fruits parthénocarpiques ;

– l'amélioration de la conservation des citrons avec une application hivernale, de façon à retarder la récolte.

L'association GA_4 + GA_7, est utilisée sur pommier Golden en floraison pour réduire la rugosité des fruits due à des conditions de stress au moment de l'anthèse (froid, dessèchement). Enfin, signalons que les anti-gibbérellines sont largement utilisées comme limiteurs de croissance des céréales, du colza et du lin à graines pour l'évitement de la verse ; ces molécules et leurs sites d'actions sont représentés dans la figure 1.

3.4. Effets anti-métaboliques de l'acide abscissique (ABA)

Cet inhibiteur de croissance identifié en 1965 est synthétisé dans les racines de plantes soumises à un stress environnemental ou physiologique (manque d'eau, excès de chaleur, blessure mécanique ou par piqûres d'insectes, sénescence). L'effet le plus direct est la fermeture des stomates afin de réduire la perte d'eau, puis la diminution de l'activité métabolique qui conduit à la maturation et la dormance

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

des graines. En conditions de déficit hydrique, la plante augmente l'exportation de l'ABA des racines vers les parties aériennes et les stomates, où l'ABA participe à l'activation des récepteurs situés sur la face externe du plasmalemme des cellules de garde. Au niveau des stomates, son action est conjointe à la perméabilité cellulaire et au potassium (Schroeder *et al.*, 2001). Sa synthèse, favorisée en période de nuits longues, l'associe à la chute des fruits et des feuilles.

L'ABA, qui est photolabile, n'a actuellement pas d'application agronomique, mais il est évident que les régulateurs agissant sur l'éclaircissage chimique des fruits influencent le métabolisme de l'ABA. Les régulateurs intervenant dans le prolongement de la maturation des fruits sont antagonistes du rôle de l'ABA et de l'éthylène.

3.5. Importance des effets de l'éthylène

Ce gaz naturel émis par les fruits est aussi produit dans toutes les parties de la plante. La voie de biosynthèse de l'éthylène est à présent bien connue, ainsi que l'effet d'inhibiteurs spécifiques des deux enzymes impliquées dans les dernières étapes de la production d'éthylène : l'acide 1-aminocyclopropane carboxylate (ACC) synthase et l'ACC oxydase. Des analogues de l'hydroxylamine sont inhibiteurs de l'ACC synthase, alors que l'ACC oxydase est inhibée par :

– les ions cobalt, nickel, argent ;

– les capteurs de radicaux libres (l'acide acétylsalicylique, le n-propyl gallate, le benzoate de sodium) qui interfèrent avec le fer, cofacteur de l'ACC oxydase ;

– la rhizobitoxine, l'aminoéthoxyvinylglycine (AVG) et le 1-méthylcyclopropène (1-MCP).

L'éthylène, dont la synthèse est stimulée par les auxines, intervient dans les phases du développement des végétaux comme la germination, la croissance (racines, tiges et feuilles), l'abscission, la sénescence des feuilles, la maturation des fruits et l'embryogenèse. La production de cette hormone est activée lors d'agressions physiques, chimiques, environnementales ou parasitaires. L'application agronomique d'éthylène, qui est un gaz, s'effectue sous la forme d'une solution d'éthéphon (acide chloroéthylphosphonique) qui libère l'éthylène après la pulvérisation. Les molécules anti-éthyléniques (diphénylamine, 1-MCP, sels d'argent, et le gaz carbonique) servent à prolonger la conservation des fruits et des fleurs coupées.

3.6. Particularité des polyamines

Ces molécules ont des interactions métaboliques étroites avec la synthèse de l'éthylène, l'AIA et le GA_3, qui interviennent comme régulateurs de la biosynthèse des polyamines.

Elles sont accumulées lors d'événements physiologiques chez les végétaux (reproduction, défense). Les monoamines (éthyl, méthyl, propyl amines) et les polyamines (agmatine, putrescine, tryptamine, phénéthylamine, spermine, spermidine) sont issues de la décarboxylation d'acides aminés précurseurs, et les amines libres peuvent se conjuguer à d'autres métabolites en particulier aux acides phénoliques.

3.6.1. Témoins et régulateurs d'événements physiologiques

L'élévation de la teneur en polyamines est observée chez les plantes au cours de la division cellulaire, de la croissance, du développement, de la reproduction et lors d'agressions pathogènes (virus, bactéries) ou environnementales (sécheresse, ozone, UV). Les polyamines forment des complexes protecteurs avec l'ADN et améliorent le contrôle de la réplication et de la traduction. L'apport de spermine et de spermidine augmente l'activité mitotique des protoplastes d'avoine et active la synthèse de protéines sur des explants racinaires de topinambour. Une augmentation des teneurs en polyamines (putrescine, spermine et spermidine) est signalée dans l'ovaire du tabac après fécondation, et lors des premières heures de la germination chez diverses plantes (riz, blé, maïs, pois, pommes de terre). Ces variations sont accompagnées d'une élévation d'ARN et de protéines.

3.6.2. Interconnexions métaboliques avec les phytohormones

L'application d'éthylène inhibe l'activité arginine décarboxylase, dont le produit formé est la putrescine, et stoppe la division cellulaire. À l'inverse, l'apport d'amines sur des tissus en cours de sénescence bloque la synthèse d'éthylène en empêchant la conversion de la S-adénosylméthionine (S-AM) en acide 1-aminocyclopropane carboxylique et inhibe la synthèse de protéases. La fonction polycationique des amines bloquerait les sites actifs lors de la conversion ACC-éthylène (figure 2).

L'emploi de GA_3 stimule la synthèse de l'arginine précurseur de polyamines au détriment de la synthèse d'éthylène. La synthèse de la spermine et de la spermidine est, comme celle de l'éthylène, dépendante de la S-AM qui peut être le donneur d'aminopropyl pour la synthèse des polyamines ou précurseur de l'ACC. L'application d'inhibiteurs d'éthylène comme l'amino-oxyacétique, ou l'aminoéthoxyvinylglycine entraîne une augmentation de teneur en polyamines, contrairement à l'application d'éthéphon. L'équilibre des régulateurs de croissance semble conditionner le métabolisme des polyamines au cours du développement et de la fructification de la christophine (Vansuyt, 1986).

3.6.3. Effecteurs biologiques

Les phénolamides (polyamines conjuguées aux acides phénols) ont été mis en évidence lors de la floraison du tabac, de la tubérisation de la pomme de terre, de la dormance des graines, et associés au niveau de fertilité chez le maïs. Ce sont aussi de puissants inhibiteurs d'infection virale, et de la germination de spores de champignon. L'hordatine (dimère de p-coumaroylagmatine) est un puissant antifongique. L'inhibition de la synthèse de la putrescine, par un traitement à l'acide gibbérellique, entraîne une perte de mycorhization, et un apport exogène de putrescine inverse ce phénomène.

En réalité, les polyamines conjuguées ou non sont impliquées dans diverses fonctions physiologiques au cours du développement des bactéries, des animaux

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

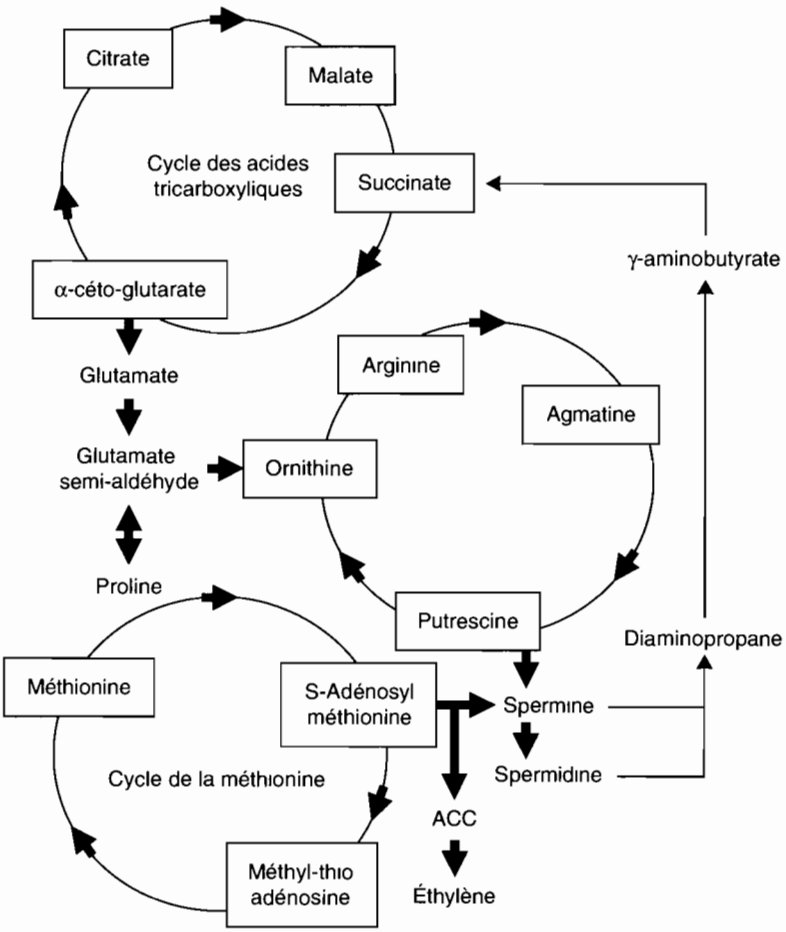


Figure 2 ■ Relations métaboliques entre l'éthylène et les polyamines.

et des plantes. L'apport d'auxine inhibe l'expression d'une polyamine oxydase, alors que les anti-auxines la stimulent (Kakkar et Sawhney, 2002). L'interférence avec les régulateurs de croissance peut s'exercer au niveau de la division et de la différenciation cellulaire, que ce soit au moment de la germination ou de l'anthèse, en synergie avec les gibbérellines, et en antagonisme avec l'éthylène. Il est possible d'influencer l'effet des phytohormones par l'apport de polyamines, et inversement. Récemment, il a été mis en évidence qu'une souche rhizosphérique de *Streptomyces griseoluteus* ayant un métabolisme actif des polyamines, a un effet promoteur sur la croissance du haricot (Nassar *et al.*, 2003).

L'usage agronomique des amines est actuellement restreint à la castration chimique du blé pour la création d'hybrides sous la forme de di-iso-propanolamine. Cette amine provoque la stérilité mâle en agissant sur la structure des filets de l'anthère, entraînant la déshydratation des étamines et du pollen. Des essais d'application de polyamines sont actuellement réalisés sur la vigne à raisin de table dans

l'objectif de réduire l'effet de coulure. L'interaction entre plante et micro-organismes est une voie prometteuse d'étude du rôle des amines et des substances de croissance chez les végétaux.

3.7. Les brassinostéroïdes, nouvelles substances régulatrices

Les brassinostéroïdes, découverts récemment, n'ont pas encore d'application agronomique. Ces molécules constituent une catégorie de plusieurs dizaines de composés isolés en premier lieu du pollen de *Brassica napus*. Ces composés ont un rôle bien connu sur la croissance et le développement des végétaux à de très faibles concentrations, et permettent d'accroître la résistance à différents pathogènes (Nakashita *et al.*, 2003). Ces composés font actuellement l'objet d'essais en plein champ au Japon. Des résultats préliminaires indiquent que l'application de brassinostéroïdes réduit l'absorption de métaux lourds chez *Brassica campestris*. Un des gènes codant la nicotianamine synthase (la nicotianamine est un chélateur de métaux dans les plantes), est induit chez *Arabidopsis thaliana* lors d'un traitement par les brassinostéroïdes. Ces molécules découvertes récemment semblent avoir des propriétés élicitrices et intervenir dans les homéostasies métalliques.

Après ce rappel des conséquences physiologiques liées à l'activité des substances ayant un effet sur la croissance végétale, nous allons aborder dans les deux paragraphes suivants, l'évolution des connaissances sur les systèmes de régulations de ces substances de croissance, et les effets nouveaux d'interactions hormonales qui ouvrent des voies de recherches émergentes très proches de la lutte biologique.

4. Régulations et interactions hormonales

Les cascades d'événements engendrées par les signaux hormonaux restent encore peu connues, plus d'un siècle après que Darwin ait démontré l'existence de substances promotrices de la croissance. Les gradients et les équilibres hormonaux dans la plante sont la conséquence de la perception d'événements internes ou externes.

4.1. Les recherches émergeantes

La génomique fonctionnelle permet d'avoir de nouveaux outils pour intégrer les différents mécanismes moléculaires des chaînes de réaction, et identifier la fonction des gènes impliqués. Les derniers travaux publiés sont prometteurs pour aborder ces événements métaboliques en cascade. Ainsi, des variations de distribution d'auxine dans la plante, qui déterminent une spécificité de réponse, influencent deux familles de protéines intervenant dans la modulation de l'expression génétique (Vogler et Kuhlemeier, 2003). Cette démarche démontre bien l'ampleur de la tâche qu'il reste à accomplir pour décrypter les cascades de réactions déclenchées par les hormones, et envisager d'intervenir de façon plus ciblée sur l'équilibre de ces hormones et la physiologie des plantes.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

L'ABA induit l'expression d'un gène codant pour une cytokinine oxydase (Ckx1). Cette cytokinine oxydase semble contrôler le niveau de cytokinine dans les tissus de maïs (Brugiére *et al.*, 2003) car les fortes teneurs en cytokinines provoquent une augmentation de la production d'éthylène, et induit l'apoptose cellulaire (Carimi *et al.*, 2003). Les gibbérellines interviennent aussi sur la régulation des facteurs de transcription impliqués dans la stimulation de la croissance par l'auxine (Hardtke, 2003). Ces constatations indiquent que les phases essentielles de régulation des phytohormones sont d'une extrême complexité.

L'environnement tellurique de la plante, par le contenu métallique des sols et la microflore rhizosphérique peut influencer le métabolisme ainsi que l'équilibre hormonal des plantes cultivées, et agir sur l'efficacité des régulateurs utilisés. Les approches scientifiques actuelles de génomique dans le domaine de la régulation hormonale des plantes, ainsi que l'étude des interactions entre les plantes et les éléments chimiques et biologiques du sol, ouvrent de nouvelles perspectives de contrôle de la croissance chez les végétaux.

4.2. Effets liés aux interactions biotiques et abiotiques

La racine est le support de l'interaction entre la plante, les bactéries et les minéraux du sol. Les micro-organismes saprophytes ou pathogènes du sol puisent leur source carbonée dans la rhizodéposition de la plante et entrent en compétition avec celles-ci pour les prélèvements minéraux. Certaines bactéries nommées PGPR (*plant growth-promoting rhizobacteria*), peuvent pénétrer dans les racines, coloniser le système racinaire et modifier le métabolisme du végétal pour exercer un effet favorable à la croissance et au développement des plantes par des échanges métaboliques profitables pour les partenaires.

4.2.1. Effets associés à l'interaction plantes-micro-organismes

Les études actuelles dans ce domaine montrent des effets multiples sur la croissance et la santé des plantes. L'effet stimulateur de certaines bactéries peut s'opérer dès la germination des graines en activant la division cellulaire (Levanony et Bashan, 1989), la croissance du système racinaire, et/ou de la densité des racines latérales (Larcher *et al.*, 2003). L'effet des PGPR sur l'appareil aérien se traduit par l'augmentation de la surface foliaire, de la biomasse des parties aériennes ou par l'émergence précoce des pointes foliaires (Hadas et Okon, 1987 ; Mehnaz *et al.*, 2001). L'inoculation de la bactérie *Azospirillum brasilense* au champ s'est traduite par :

– un avancement de l'épiaison et de la floraison chez le blé (Kapulnik *et al.*, 1985) ;

– une augmentation du poids sec, des panicules chez le millet et des épis et des graines chez le maïs (Fallik et Okon, 1996) ;

– l'augmentation du rendement chez le soja (Sarig *et al.*, 1988) ;

– l'élévation du contenu en azote des grains chez le maïs (Purcino *et al.*, 1996).

Les principales fonctions bactériennes impliquées dans ces effets promoteurs sont la fixation libre d'azote atmosphérique, la production de sidérophores, la solubilisation du phosphate, la synthèse de phytohormones (AIA, gibbérellines et cytokinines) et de l'enzyme acide 1-aminocyclopropane-1carboxylate désaminase (l'ACC étant le précurseur de la synthèse de l'éthylène).

Certaines bactéries ont la capacité de produire des hormones végétales (cytokinines, gibbérellines, AIA) à des doses physiologiques. Ces hormones produites à proximité, voire dans le système racinaire, stimuleraient de manière spécifique le développement du partenaire végétal. Dans le cas du modèle *Azospirillum* la faible quantité d'AIA exsudée par la plante dans la rhizosphère provoque l'expression d'un gène bactérien codant pour l'indole-3-pyruvate décarboxylase (Lambrecht *et al.*, 2000). L'activation de cette enzyme de la biosynthèse de l'AIA a pour conséquence une prolifération des racines latérales.

Depuis peu, il a été montré que l'expression de l'activité enzymatique ACC désaminase (hydrolyse de l'ACC en ammonium et α céto-butyrate), chez certaines bactéries, serait à l'origine de leur activité PGPR (Hall *et al.*, 1996).

La baisse de la quantité d'ACC dans la plante entraîne une diminution du niveau d'éthylène et une diminution de l'inhibition de l'élongation racinaire. Les réponses aux régulateurs de croissance, recherchées au niveau agronomique, sont influencées par de nombreux facteurs environnementaux, et l'intérêt des bactéries du sol pour augmenter le rendement au champ, optimiser et limiter l'utilisation des intrants est à présent reconnu et ouvre un champ expérimental nouveau et particulièrement intéressant.

4.2.2. Effets de l'interaction entre les phytohormones et les métaux

L'équilibre hormonal est le résultat de la régulation de la biosynthèse de certaines hormones qui nécessite la présence de métaux comme cofacteur enzymatique, notamment au niveau des réactions de transfert d'électrons.

4.2.2.1. Implication des métaux dans les voies de signalisation hormonales

Les interconnexions entre les métaux et l'éthylène, que ce soit au niveau de sa biosynthèse ou de sa voie de signalisation, ont été démontrées par l'équipe de J.-C. Pech (École nationale supérieure d'agronomie de Toulouse) qui a mis en évidence une intervention du fer dans certaines étapes de la biosynthèse de l'éthylène. Des études biochimiques indiquent que l'enzyme ACC oxydase requiert la présence de fer comme cofacteur enzymatique de la synthèse d'éthylène (Bouzayen *et al.*, 1991), et la perception de l'éthylène par la plante est dépendante des métaux de transition comme le cuivre (Hirayama et Alonso, 2000). Enfin, une protéine (EIN2), impliquée dans la voie de signalisation de l'éthylène, montre des similarités avec les transporteurs de métaux de la famille NRAMP (*natural resistance-associated macrophage*) (Alonso *et al.*, 1999).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Comme pour l'éthylène, une étape de la voie de biosynthèse de l'acide abcissique (ABA), catalysée par la 9-cis-époxycaroténoïde dioxygénase, nécessite la présence de fer (Schwartz *et al.*, 1997), et la synthèse d'ABA est réduite lors d'une carence en fer. Par contre, au niveau des auxines, nous avons peu de données sur l'implication des métaux dans la signalisation. Toutefois, l'induction de la synthèse d'auxine a été montrée en réponse à une carence en fer. L'identification récente d'une protéine (IAR1) responsable de l'efflux de métaux constitue le premier maillon du lien entre les métaux et les auxines. Cette protéine présente aussi des similarités avec des transporteurs de fer et de zinc de la famille ZIP (*zinc related transporter – iron regulated transporter 1 related protein*), et serait indirectement impliquée dans la libération d'auxine libre dans les cellules végétales (Laswell *et al.*, 2000).

Il existe des données très limitées concernant les relations entre les gibbérellines ou les cytokinines et les métaux. Une étude ancienne indique que le magnésium (cofacteur de l'activité H^+-ATPase) aurait un effet positif sur la synthèse des gibbérellines et des cytokinines. Par ailleurs, la cytokinine oxydase catalysant la dégradation de l'isopenténylad énine et de la zéatine, a besoin de cuivre pour son activité biochimique.

Diverses études plaident pour une implication des hormones dans la mise en place des réponses physiologiques à la carence en fer, et par conséquent, dans le transport et l'accumulation du fer et de divers autres métaux chez les végétaux. Ainsi, des travaux montrent que l'utilisation d'inhibiteurs de l'éthylène (aminoéthoxyvinylglycine, acide aminooxyacétique, cobalt, argent) provoque une diminution de l'activité réductase ferrique racinaire lors d'une carence en fer (Romera et Alcantara, 1994). À l'inverse, un traitement par l'ACC, précurseur direct de l'éthylène, entraîne une augmentation de ce type de réponse physiologique dans les conditions de suffisance en fer. Une étude réalisée sur de l'orge souligne également l'implication de l'éthylène dans l'absorption des phytosidérophores et d'autres travaux précisent le rôle de l'auxine dans les réponses à la carence en fer. Un traitement par l'acide 2,3,5-triiodobenzoïque (TIBA), inhibiteur du transport polaire de l'auxine depuis les parties aériennes jusqu'aux racines, inhibe l'acidification de la rhizosphère. Toutefois, l'application de l'acide 2,4-dichlorophénoxy-acétique (2,4-D), analogue de l'auxine qui augmente l'acidification racinaire, ne provoque qu'une augmentation très modérée de l'activité de réduction des ions ferriques.

D'autres études ont permis d'impliquer les hormones dans les modifications morphologiques consécutives à une carence en fer. Ainsi, l'application d'auxine, d'éthylène ou d'ABA mime l'action d'une carence en provoquant l'apparition de poils absorbants et, excepté pour l'ABA, de cellules de transfert. Une étude fine concernant l'apparition des poils absorbants chez différents mutants de voies hormonales, lors de carence en fer, a permis d'établir une voie de transduction précise dépendante de l'éthylène (Schmidt *et al.*, 2000). Enfin, les métaux jouent aussi un rôle dans les différentes voies de signalisation hormonale par l'intermédiaire de diverses métalloprotéines et de facteurs de transcription à doigt de zinc nécessaires à l'expression de certains gènes.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

4.2.2.2. Effets agronomiques non intentionnels possibles

Nous avons vu les interdépendances qui existent entre les hormones végétales et la nutrition métallique de la plante et plusieurs points importants méritent maintenant d'être soulevés :

– l'existence de connexions entre les différentes voies de signalisation hormonales chez les végétaux permet de comprendre pourquoi l'application d'un régulateur de croissance peut aboutir à des conséquences non désirées. Ce champ thématique fait actuellement l'objet de nombreuses études qui révèlent chaque jour un peu plus la complexité des signalisations hormonales (Gazzarini et McCourt, 2003) ;

– la nutrition en micro-éléments apparaît comme un facteur à ne pas négliger pour assurer une efficacité maximale des traitements par les régulateurs de croissance. Il est toutefois inconcevable à l'heure actuelle de penser modifier la production globale d'une hormone endogène, comme l'éthylène par exemple, au niveau de la plante entière à des fins technologiques en soumettant les végétaux à une carence en fer. Les conséquences sur le développement des végétaux et leur métabolisme seraient plus préjudiciables que l'effet attendu des régulateurs de croissance. La carence en fer altère directement l'activité photosynthétique, induit l'accumulation de sucres et peut aboutir à une inhibition de la croissance. Des approches plus ciblées faisant recours aux biotechnologies apparaissent plus appropriées ;

– les plantes carencées en fer accumulent dans leur tissus différents métaux lourds tels que le zinc, le manganèse, le cadmium, le plomb, etc. (Welch *et al.*, 1993, Vert *et al.*, 2002). Or, les végétaux, en tant que producteurs primaires, sont le point d'entrée de ces polluants dans la chaîne alimentaire, et ils constituent ainsi un réel problème de santé publique. Cette accumulation de métaux lourds chez les végétaux carencés en fer s'explique par l'absence de spécificité des transporteurs de fer responsables de l'absorption depuis la solution du sol. Des apports hormonaux (éthylène et auxines) vont, en stimulant les réponses à la carence en fer, accroître les capacités de prélèvement en métaux de la plante. Il faut donc considérer sérieusement ce point lorsque l'on se trouve en présence d'un sol possédant une biodisponibilité importante de ces éléments (sols acides) ou des concentrations métalliques naturellement ou artificiellement élevées. Par exemple, l'utilisation d'éthylène en culture tropicale sur sols ferralitiques acides peut engendrer une accumulation trop importante de métaux non désirés dans les tissus de la plante. Cet aspect est d'autant plus important que le traitement intervient tôt avant la récolte (induction florale de l'ananas) car il induit une augmentation de l'accumulation des métaux lourds issus d'amendement de boues urbaines, dans les produits végétaux. Ainsi, l'application d'éthéphon avant la période de floraison pour retarder la floraison des arbres fruitiers n'aura pas la même incidence sur l'accumulation de métaux nocifs pour la santé humaine qu'un traitement effectué 15 jours avant la récolte présumée, afin de stimuler l'abscission des fruits et faciliter de ce fait leur récolte. Jusqu'à présent, peu d'importance a été accordée aux interactions métaux-hormones, mais de nombreux scientifiques pensent aujourd'hui que l'effet des hormones sur l'homéostasie des métaux doit être une priorité des recherches futures (Cervantes, 2002).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

5. *Évolution des applications des régulateurs de croissance en agriculture*

5.1. Les nouvelles tendances

La révision européenne des molécules phytopharmaceutiques aura peu d'impact sur la disponibilité commerciale des régulateurs de croissance. Actuellement, seules deux auxines utilisées pour le bouturage, l'acide 2-méthyl-1-naphtylacétique et le 2-méthyl-1-naphtylacétamide, et le thiosulfate de sodium et d'argent utilisé pour la conservation des fleurs, font l'objet d'une interdiction d'emploi.

5.1.1. Grandes cultures

En grandes cultures, les usages les plus importants semblent couverts. Il demeure cependant des problèmes physiologiques mal contrôlés comme la brunissure du grain de blé dur de printemps qui mériterait qu'une attention particulière lui soit accordée. En effet, ce phénomène qui altère la qualité des pâtes alimentaires, présente des similitudes avec le développement de la rugosité des pommes Golden dans des conditions de stress printanier (thermique et hydrique). Pour la rugosité de la pomme, le phénomène est fortement atténué par l'application de gibbérellines à la floraison, et pour le blé dur, la brunissure est fortement augmentée lors d'application d'anti-gibbérellique à la montaison. Mais aucune expérimentation agronomique n'est actuellement réalisée pour tenter de résoudre cette question avec des régulateurs de croissance.

Les expérimentations en cours concernent des utilisations restreintes comme :

– l'amélioration de la quantité de pollen et sa germination, pour la production de maïs semence ;
– la résistance à la verse chez le lin ;
– les dessiccateurs, défoliants et anti-germes chez la pomme de terre ;
– la maîtrise de la pousse de plantes de jachère et de gazon.

5.1.2. Arboriculture

En arboriculture, les besoins professionnels sont liés à la réduction du coût de main-d'œuvre (compétitivité), et à la qualité du produit mis sur le marché. Concernant la production, les demandes sont associées à la conduite culturale :

– lutte contre les drageons ;
– limitation de vigueur pour diminuer le temps de taille ;
– éclaircissage chimique à la floraison ou après l'anthèse, ce qui améliore le calibre et la qualité du fruit ;
– maturation homogène pour une récolte synchronisée (passage unique), soit avancée (précocité sur le marché) ou retardée (rétention pour l'amélioration de qualité de maturité et étalement de la période de cueillette).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Concernant la commercialisation des fruits, les études sont axées sur l'amélioration du stockage et le maintien de la qualité gustative. Des substances émergentes, intervenant de façon plus spécifique sur le métabolisme de l'éthylène et le maintien des structures cellulaires sont testées comme le 1-MCP et la lyso-phosphatidyl-éthanolamine (LPA). Ces molécules ont l'avantage de limiter la modification du métabolisme des molécules organoleptiques, et de mieux protéger les produits stockés contre les maladies physiologiques.

5.1.3. Viticulture

En viticulture, les besoins actuels portent sur :

– le contrôle de la levée de dormance, en retardant le débourrement en cas d'hiver trop doux afin d'éviter le risque de gel, ou au contraire en l'avançant, ce qui permet un gain de précocité pour les raisins de table ;

– l'éclaircissage chimique à l'aide de traitement à l'éthéphon, pour réduire le nombre de baies par grappe, donc améliorer la grosseur des baies restantes pour le raisin de table ;

– le développement du péricarpe des baies des raisins apyrènes par des essais utilisant les gibbérellines ;

– l'évitement de la coulure par l'utilisation de certaines polyamines.

5.2. Les nouveaux besoins

Le développement des espaces verts et des jardineries, lié à la politique de l'environnement, et à l'augmentation du temps de loisir, modifie les tendances de l'emploi des régulateurs.

Les contraintes associées à la tonte des surfaces engazonnées (agglomérations, terrains de sports d'équipe et de golf, bords et aires d'autoroutes) pourraient être diminuées par la limitation de la croissance des graminées. Quelques rares produits sont disponibles pour cette utilisation, et d'autres molécules de type auxinique et anti-auxinique sont en cours d'essais. Cet usage non agricole des régulateurs de croissance pour les surfaces à vocation sportive ou environnementale permet de réduire les coûts d'entretien et d'améliorer la rusticité végétale.

L'augmentation de la demande en fourniture de plants d'ornement (cultures florales arbustives ou herbacées) pour les grandes villes, ou par les particuliers, se répercute sur les besoins en régulateurs de croissance intervenant sur le bouturage, l'enracinement ou la ramification. La conduite culturale en pépinière est soumise à des contraintes de marché saisonnier, et selon les circonstances, l'usage de substances de croissance est requis pour la défoliation ou la levée de dormance des ligneux.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

6. *Perspectives d'utilisation des régulateurs de croissance*

L'emploi des régulateurs de croissance permet de maintenir l'intégrité biologique du végétal ou sa réparation, de retarder sa dégradation, de favoriser l'adaptation à de nouvelles conditions, d'anticiper des perturbations pour favoriser la production ou de faciliter la conduite culturale. Toutefois, les systèmes biologiques sont extrêmement complexes. Pour contrôler la maturité des fruits, on peut, selon les cas, appliquer une gibbérelline, l'éthylène ou une auxine. Les études indiquent que l'existence d'interconnexions entre les différentes voies de signalisations hormonales aboutit à la synergie, ou au contraire, à l'antagonisme entre ces molécules. Ainsi, l'apport d'un régulateur de croissance aura non seulement des conséquences sur la balance hormonale de la plante, mais également sur l'assimilation des nutriments et sur la microflore rhizosphérique bénéfique ou pathogène pour la plante.

Améliorer la capacité d'absorption des solutés grâce à un meilleur enracinement des plantes par l'application de régulateurs de croissance ou d'inoculum de bactéries du sol bénéfiques, pourra constituer une solution pour lutter contre la sécheresse, conséquence attendue du changement climatique. Accélérer le développement des jeunes plantes peut aussi permettre au végétal d'éviter les stress hydriques, mais aucune étude n'est réalisée sur ce point.

La transgénèse pourrait offrir des solutions alternatives. Il est concevable de contrôler finement l'expression d'un gène, ou d'un transgène, grâce à l'utilisation de promoteurs spécifiques. Par exemple, il est actuellement envisageable de modifier la synthèse d'éthylène spécifiquement au niveau de la zone d'abscission du pédoncule du fruit. Une sous-production d'éthylène permettrait un meilleur maintien du fruit sur pied, favorisant l'accumulation de sucres et facilitant le choix de la date de récolte. À l'inverse, une surproduction localisée d'éthylène réduirait l'accroche du fruit sur l'arbre, faciliterait la mécanisation des récoltes, et empêcherait les blessures excessives aux arbres.

Les déchets ménagers et industriels et l'agriculture intensive, participent à la pollution des sols, des eaux *in fine* des produits alimentaires. Pour en limiter les conséquences, les approches de transgénèse, applicables à toutes les substances de croissance, pourraient limiter les traitements et les effets secondaires (par exemple le cas de l'éthylène pour une suraccumulation non souhaitée de métaux lourds) et diminuer le stress occasionné aux végétaux.

Au niveau de la microflore rhizosphérique il est tout à fait probable que l'on puisse bientôt obtenir de nouvelles molécules ou des inoculums modulant la croissance des végétaux.

Conclusion

Au cours de ce chapitre, nous avons vu les interconnexions entre les substances de croissance et le développement des végétaux mais aussi des relations de défense passive entre certaines substances et les plantes. Citons en particulier le cas des polyamines et des brassinostéroïdes, mais aussi celui des micro-organismes bénéfiques à la croissance et la santé des plantes. Ces interactions chimiques et/ou biologiques modifieront probablement certaines pratiques agricoles au niveau de la maîtrise de la croissance et du développement des plantes.

Références bibliographiques

Alonso J.M., Hirayama T., Roman G., Nourizadeh S., Ecker J.R. (1999). EIN2, a bifunctional transducer of ethylene and stress responses in Arabidopsis. *Science*, **284** : 2148-2152.

Audus, L.J., *Herbicides*. Academic Press, 1976. (2nd édition), New-York.

Bouzayen M., Felix G., Latché A., Pech J.C., Boller T. (1991). Iron: an essential cofactor for the conversion of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid to ethylene. *Planta*, **184** : 244-247.

Brugiére N., Hantke S., Zinselmeier C., Roessler J.A., Niu X., Jones R.J., Habben J.E. (2003). Cytokinin oxidase gene expression in maize is localized to the vasculature and is induced by cytokinins, abscissic acid, and abiotic stress. *Plant Physiol*, **132** : 1228-40.

Carimi F., Zottini M., Formentin E., Terzi M., Lo Schiavo F. (2003). Cytokinins: new apoptotic inducers in plants. *Planta*, **216** : 413-21.

Cervantes E. (2002). Ethylene: new interactions, still ripening. *Trends Plant Sci*, **7** : 334-335.

Doré C. (1989). Cinquantenaire de la culture *in vitro* chez les végétaux. Éditions INRA, Paris.

Fallik E., Okon Y. (1996). Inoculants of *Azospirillum brasilense:* biomass production, survival and growth promotion of *Setaria italica* and *Zea mays*. *Soil Biol Biochem*, **28** : 123-126.

Gazzarrini S., McCourt P. (2003). Cross-talk in plant hormone signalling: what Arabidopsis mutants are telling us. *Ann Bot*, **91** : 605-12.

Hadas R., Okon Y. (1987). Effect of *Azospirillum brasilense* inoculation on root morphology and respiration in tomato seedlings. *Biol Fertil Soils*, **5** : 241-247.

Hall J., Peirson D., Ghosh S., Glick B. (1996). Root elongation in various agronomic crops by the plant growth promoting rhizobacterium Pseudomonas putida GR12-2. *Isr J Plant Sci*, **44** : 37-42.

Hardtke C.S. (2003). Gibberellin signalling: GRAS growing dispatch roots. *Current Biology* **13** : 366-367.

Hirayama T., Alonso J.M. (2000). Ethylene captures a metal! Metal ions are involved in ethylene perception and signal transduction. *Plant Cell Physiol* **5** : 548-555.

Howell S.H., Lall S., Che P. (2003). Cytokinins and shoot development. *Trends Plant Sci*, **9** : 453-459.

Kakkar R.K., Sawhney V.K. (2002). Polyamine research in plant: a changing perspective. *Physiol Plant*, **116** : 281-292.

Kapulnik Y., Okon Y., Henis Y. (1985). Changes in root morphology of wheat caused by *Azospirillum* inoculation. *Can J Microbiol*, **31** : 881-887.

Lambrecht M., Okon Y., Van de Broek A., Vanderleyden J. (2000). Indole-3acetic acid: a reciprocal signalling molecule in bacteria-plant interactions. *Trends Microbiol*, **8** : 298-300.

Larcher M., Muller B., Mantelin S., Rapior S., Cleyet-Marel J.C. (2003). Early modifications of *Brassica napus* root system architecture induced by a plant growth-promoting *Phyllobacterium* strain. *New Phytol*, **160** : 119-125.

Lasswell J., Rogg L.E., Nelson D.C., Rongey C., Bartel B. (2000). Cloning and characterization of *IAR1*, a gene required for auxin conjugate sensitivity in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, **12** : 2395-2408.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Levanony H., Bashan Y. (1989). Enhancement of cell division in wheat root tips and growth of root elongation zone induced by *Azospirillum brasilense* Cd. *Can J Bot*, **67** : 2213-2216.

Margara J. (1984). *Bases de la multiplication végétative : les méristèmes et l'organogenèse.* Éditions INRA, Paris.

Mehnaz S., Mirza M., Haurat J., Bally R., Normand P., Bano A., Malik K. (2001). Isolation and 16S rRNA sequence analysis of the beneficial bacteria from the rhizosphere of rice. *Can J Microbiol*, **47** : 110-17.

Nakashita H., Yasuda M., Nitta T., Asami T., Fujioka S., Arai Y., Sekimata K., Takatsuto S., Yamaguchi I., Yoshida S. (2003). Brassinosteroid functions in a broad range of disease resistance in tobacco and rice. *Plant J*, **33** : 887-898.

Nassar A.H., El-Tarabily A.K., Sivasithamparam K. (2003). Growth promotion of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by a polyamine-producing isolate of *Streptomyces griseoluteus*. *Plant Growth Regul*, **40** : 97-106.

Purcino A., Paiva E., E Silva M., De Andrade S. (1996). Influence of *Azospirillum* inoculation and nitrogen supply on grain yield, and carbon- and nitrogen-assimilating enzymes in maize. *J Plant Nutrition*, **19** : 1045-1060.

Romera F.J., Alcantara E. (1994). Iron-deficiency stress responses in cucumber (*Cucumis sativus* L.) roots: a possible role for ethylene? *Plant Physiol*, **105** : 1133-1138.

Santoni V., Vansuyt G., Rossignol M. (1991). The changing sensitivity to auxin of the plasma-membrane H^+-ATPase : Relationship between plant development and ATPase content of membranes. *Planta*, **185** : 227-232.

Schmidt W., Tittel J., Schikora A. (2000). Role of hormones in the induction of iron deficiency responses in *Arabidopsis* roots. *Plant Physiol*, **122** : 1109-1118.

Schroeder J.I., Gerthyn J.A., Hergouvieux V., Kwak J.M., Waner D. (2001). Guard cell signal transduction. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, **52** : 627-658.

Schwartz S.H., Tan B.C., Gage D.A., Zeevaart J.A., McCarty D.R. (1997). Specific oxidative cleavage of carotenoids by VP14 of maize. *Science*, **276** : 1872-1874.

Vansuyt G. (1986). *Contribution à l'étude du métabolisme des amines associé au développement chez la christophine* (Sechium edule). Mémoire ingénieur DPE, option Agriculture, ENSAM.

Vert G., Grotz N., Dedaldechamp F., Gaymard F., Guerinot M.L., Briat J.-F., Curie C. (2002). IRT1, an Arabidopsis Transporter Essential for Iron Uptake from the Soil and for Plant Growth. *Plant Cell*, **14** : 1223-1233.

Vogler H., Kulhlemeier C. (2003). Simple hormones but complex signalling. *Current Opinion*, **6** : 1-6.

Welch R.M., Norvell W.A., Schaefer S.C., Shaff J.E., Kochian L.V. (1993). Induction of iron (III) and copper (II) reduction in pea (*Pisum sativum* L.) roots by Fe and Cu status: does the root-cell plasmalemma Fe (III)-chelate reductase perform a general role in regulating cation uptake. *Planta*, **190** : 555-561.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

5

Les nématicides et la lutte chimique contre les nématodes

Didier Mugniéry

L'objectif de l'usage des nématicides est bien évidemment la lutte contre les nématodes phytoparasites et donc la protection des plantes qu'ils attaquent. Mais les propriétés de phytostimulation de certaines matières actives sont telles qu'elles sont utilisées dans certains cas en l'absence de nématodes dangereux. Comme ces mêmes matières actives ont des spectres d'activité dépassant largement le domaine des nématodes, il leur arrive d'être utilisées comme désinfectants totaux des sols (champignons et bactéries telluriques), voire comme herbicides.

Pour tuer les nématodes, il est nécessaire d'utiliser des doses fortes de nématicides. De plus, dans la majorité des cas, les nématodes à détruire se trouvent dans le sol et les nématicides doivent pouvoir les atteindre. Ces caractéristiques font que l'utilisation des nématicides est délicate et requiert l'usage de techniques d'applications et d'outils particuliers. Efficaces, les nématicides homologués le sont. Nous envisagerons la question de savoir s'ils le sont suffisamment ou s'il est nécessaire de les accompagner d'autres mesures de lutte pour optimiser leur efficacité. Cette question est d'autant plus importante à examiner que les législations européennes dans un premier temps, mondiales dans un deuxième, tendent à limiter leurs usages et à réduire drastiquement le nombre de matières actives autorisées. Ces différents points seront abordés successivement.

1. Difficultés de la lutte chimique

La lutte chimique n'est pas simple car les nématodes phytoparasites à juguler se présentent à l'applicateur sous des formes multiples. L'exemple du nématode des tiges et bulbes, *Ditylenchus dipsaci* illustre la complexité du problème. Ce néma-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

tode persiste dans le sol en l'absence de plantes-hôtes. Quand celles-ci sont en croissance, il pénètre dans les tiges et les feuilles et s'y multiplie. Il est susceptible de terminer sa migration dans ou autour des fruits où il subsiste en anhydrobiose, ou même dans les bulbes. Cet exemple montre que divers procédés chimiques, utilisant des matières actives et des procédés de traitements différents, peuvent être employés. Il s'agira dans un premier temps de traitements du sol, destinés à détruire le nématode avant pénétration dans les plantes. Il pourra s'agir de traitements foliaires destinés à le détruire, *in situ*, dans les tissus activement colonisés. Il pourra enfin être question d'assainir les parties du végétal, graines, boutures, bulbes, pour qu'elles ne soient pas source de contamination. Les traitements peuvent être administrés sur des nématodes actifs ou présents sous des formes de résistance : les « kystes », qui enferment des stades infestants en état de diapause ou les « formes résistantes », la plupart du temps, en anhydrobiose. Dans les deux cas, ces formes présentent une moins grande sensibilité aux matières actives : la concentration en bromure de méthyle doit être multipliée par au moins cinq pour détruire les stades anhydrobiotiques d'*Aphelenchus avenae* par rapport aux stades libres (Freckman *et al.*, 1980). Mais à l'inverse, certaines espèces telles *Scutellonema cavanessi* sont beaucoup plus sensibles aux nématicides quand elles sont en période de réviviscence que lorsque cette période est terminée (Germani et Reversat, 1983). Ces quelques exemples montrent la diversité extrême des modalités d'intervention en fonction de l'état physiologique du nématode et/ou du lieu où il se trouve.

2. *Produits nématicides : familles et conditions d'utilisation*

Les produits nématicides utilisés appartiennent à quatre grandes familles chimiques :

– la plus ancienne est représentée par des produits organo-halogénés à base de brome ou de chlore. Leur utilisation dès la fin de la Seconde Guerre mondiale est à la base du développement de la nématologie : les gains de rendements enregistrés après traitement de sols démontraient la nocivité des nématodes sur les cultures, bien que l'effet phytostimulant des fumigants ait alors été largement ignoré. Ces produits sont essentiellement utilisés en traitement de sol comme fumigants mais le bromure de méthyle est également utilisé pour la désinfection des graines ;

– la deuxième famille correspond à celle des thiocyanates et dérivés soufrés. Répartis dans ou sur le sol, ils (ou leurs produits de dégradations) diffusent dans le sol sous forme vapeur. Ils sont classiquement désignés comme fumigants ou précurseurs de fumigants ;

– la troisième famille, plus récente, est celle des organophosphorés connus pour leur activité sur les insectes. Ils s'avèrent, pour certains, efficaces contre les nématodes par augmentation des doses ;

– la plus récente correspond à la famille des carbamates avec les mêmes indications de cibles et de doses que pour les organophosphorés ;

– enfin, reste ancestral de certaines matières actives inclassables, on trouve le sulfure de carbone, actuellement présent sous forme de tétrathiocarbonate de sodium qui agit comme fumigant dans le sol par dégagement de ce composé.

D'autres familles comme celles des avermectines existent mais leur utilisation reste confidentielle et, pour diverses raisons, ne sont pas utilisées dans la pratique. Beaucoup plus récemment, diverses matières actives ont été trouvées comme très efficaces : des toxines et exsudats de plantes et de champignons. Là encore, seuls quelques résultats d'essais ont été publiés et l'utilisation de tels produits reste encore du domaine expérimental.

L'examen des tableaux 1 et 2 montre que l'utilisation des nématicides se caractérise par l'application de très fortes quantités de matière active à l'hectare, situation encore plus manifeste pour les fumigants et précurseurs de fumigants. Nous présentons ci-après les principales caractéristiques de ces nématicides.

2.1. Organo-halogénés (les fumigants)

Ce sont les plus anciens produits chimiques utilisés comme nématicides en désinfection des sols. Ils appartiennent à la famille des hydrocarbones halogénés, l'halogène étant le chlore ou le brome. Vendus sous des noms divers selon les pays, ils correspondent aux matières actives suivantes : dichloropropane-dichloropropène (1 : 1) ou DD, 1,3 dichloropropène, dibromure d'éthylène (EDB), bromure de méthyle, chlorobromopropène, dibromochloropropane (DBCP), chloropicrine.

Actuellement, seuls le 1,3 dichloropropène et le bromure de méthyle sont autorisés en France, mais certains autres sont encore utilisés dans d'autres pays et en particulier en zone tropicale.

Tous ces produits se caractérisent par une très forte solubilité dans l'eau, et par des valeurs de pressions de vapeur de notables à très fortes (tableau 1). Ils sont tous utilisés en traitement de sol où ils se solubilisent et passent dans la phase liquide du sol. Selon leur pression de vapeur, ils repassent successivement en phase vapeur et en phase liquide. Ils peuvent facilement atteindre les nématodes là où ils se trouvent, c'est-à-dire dans les méats du sol. De manière assez paradoxale, on connaît assez mal leur mode d'action. De façon générale, ils sont multi-sites. Un nématode placé dans un fumigant en phase aqueuse meurt très rapidement.

L'application de ces produits dans le sol nécessite un matériel particulier. Les produits sont injectés dans le sol. Compte tenu de la localisation des nématodes, il est nécessaire d'opérer une injection sur la hauteur de la terre arable, soit en moyenne 30 cm. Du fait de la répartition horizontale des nématodes, l'injection peut être discontinue, soit tous les 30 cm dans le cas de pals injecteurs, soit continue par l'intermédiaire de coutres. Si les pals font partie d'une panoplie obsolète, réservée aux parties de serres difficiles à atteindre, les appareils modernes, montés sur tracteurs, nécessitent une force de traction conséquente. Comme ces produits

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau I ■ Caractéristiques générales des fumigants et précurseurs de fumigants.

	Matière active	Quelques noms commerciaux	Solubilité dans l'eau	Pression de vapeur et point d'ébullition	Dose ma $kg.ha^{-1}$
Fumigant	Dichloropropane Dichloropropène Sigle : DD	Némafène Nématox Vidden D	2 750 $mg.L^{-1}$	35 mm 50-115 °C	NON AUTORISÉ Anciennement, toute culture 400 $L.ha^{-1}$ de produit commercial
	1,3 dichloropropène Sigle : DCP	Télone 2000 Télone II DD92 Dorlone 2000	1 000 $mg.L^{-1}$	38 mm 104 °C	Cultures légumières : 165-190 Ananas, bananier, canne à sucre, rosier, œillet : 560-590
	Dibromure d'éthylène Sigle : EDB, DB	Agrifume Bromofume Dow-fume Liro Soilfume	3 370 $mg.L^{-1}$	7,7 mm 131 °C	NON AUTORISÉ (interdit en Europe depuis 1984)
	Bromure de méthyle Sigle : BM ou MB	BM2C BM3A Mebron 98 Mebron 3A Sobrom 98	16 000 $mg.L^{-1}$	1 380 mm 3,6 °C	400 (Réglementé)
	Dibromochloropropane Sigle : DBCP	Nemagon Fumazone Nemabrom	1 230 $mg.L^{-1}$	0,58 mm 199 °C	NON AUTORISÉ 60-80
	Chloropicrine		1 950 $mg.L^{-1}$	20 mm 112 °C	AUTORISÉ avec bromure de méthyle

Précurseurs de fumigants	Métam-sodium	Fumigam Fumical Esaco Trimaton extra Monam Némasol	722 $g.L^{-1}$		570-765
	Dazomet	Dazocure Basamid	3,6 $g.L^{-1}$		Cultures légumières : 665

Tableau 2 ■ Caractéristiques générales des organo-phosphorés et des carbamates.

	Matière Active	Nom commercial	Utilisable en France	Dose recommandée en ma/ha
Organophosphorés	Cadusaphos	Rugby®	Bananier	3 g pied
	Phénamiphos	Nemacur®	Bananier	2 g pied
	Ethoprophos	Mocap®	Pomme de terre Bananier Ananas	10 kg 4,5 g pied 20 kg
	Fosthiazate	Némathorin®	Pomme de terre Bananier	3 kg 2 g pied
	Terbufos	Counter®	Non	
	Isazophos	Miral®	Bananier	3 g pied
Carbamates	Aldicarbe	Temik®, Cardinal®	Oui (réglementé) Céréales, fleurs, pois, betterave	4 kg (bananier) 1 kg (betterave, céréales, pois) 10 kg (œillet, rosier, vigne)
	Carbofuran	Furadan®, Curaterr®, Brifur®	Betterave	0,6 kg (betterave)
	Oxamyl	Vydate®	Œillet, rosier Bananier	10 kg 1,8 g pied

sont appelés à se diffuser dans le sol, leur efficacité est maximale en sol léger et sableux. Il est donc indispensable que le sol ait été travaillé finement avant traitement (*cf.* encadré « Comment rendre efficace une fumigation du sol »). De plus, en fonction de la pression de vapeur de ces produits, la température du sol est un facteur très important à prendre en considération. À température basse, le produit diffuse mal. À température trop élevée, le produit a une forte tendance à remonter et à se perdre. Dans ces conditions, les interventions se font lorsque la température du sol est de l'ordre de 15 °C à 10 cm de profondeur. En cas de température plus élevée, et dans le cas de produits à forte tension de vapeur, on préconise, au moins un tassement du sol à l'aide de rouleau, après traitement, ou même un bâchage du sol par des revêtements plastiques. À l'exception notable du dibromochloropropane, actuellement interdit pour ses effets non intentionnels sur l'homme, tous ces produits sont fortement phytotoxiques. Ils ne sont donc utilisables que sur des sols nus, longtemps avant les semis ou les plantations de printemps. En zones tempérées, les traitements sont réalisés au plus tard à l'automne. Les traitements réalisés au printemps exigent un délai d'au moins trois semaines. Il faut cependant noter que les traitements de sol réalisés avant certaines cultures à germination et à croissance lentes sont parfois réalisés juste avant les semis. C'est le cas des cultures de carottes semées en mai dans la Manche. On s'assure de la non-phytotoxicité par un labour du sol, libérant le produit et, le cas échéant par un test « cresson ». Ce test consiste à prélever du sol, à le déposer dans un récipient et à coincer sous le couvercle un coton humide sur lequel des graines de cresson auront été posées. Le cresson est très sensible au fumigant. La fin de phytotoxicité se vérifie par l'observation de la germination normale et rapide des graines de cresson.

Comment rendre efficace une fumigation de sol

- Élimination des débris de culture.
- Très bonne préparation du sol, comme pour un semis.
- Température du sol de l'ordre de 10-15 °C selon les produits.
- Traitement en plein par des coutres séparés de 30-40 cm.
- Profondeur de traitement : la hauteur de la couche arable.
- Traitement en profondeur contre les vecteurs de virus.
- Roulage ou bâchage du sol selon les produits.
- Respect du délai de phytotoxicité et vérification éventuelle par le test « cresson ».
- Labour pour aérer le sol et éliminer les résidus phytotoxiques.

Le bromure de méthyle présente un cas particulier. Applicable en France seulement par des entreprises agréées, il se caractérise par une densité trois fois plus élevée que celle de l'air et par un point d'ébullition très bas. Le traitement en plein air nécessite la pose préalable de bâches plastiques sous lesquelles le produit est

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

déposé à la surface du sol dans des récipients où il se vaporise et pénètre ensuite dans le sol par simple gravité. Sous serre, après réchauffage, le gaz est pulsé dans des gaines perforées recouvertes de bâches plastiques. Il s'échappe par les trous des gaines et pénètre dans le sol directement.

L'adsorption de ces produits par la matière organique du sol est importante. La diminution d'efficacité est en relation directe avec le taux de matière organique. Les débris des cultures précédentes doivent donc être éliminés ou au mieux finement détruits. Passé le délai de phytotoxicité, ces produits s'avèrent fortement phytostimulants. Cette phytostimulation s'explique, mais en partie seulement, par un dégagement d'azote et par un effet de mortalité sur la biomasse du sol, insectes, vers de terre, etc. Cet effet est d'autant plus notable que le sol traité est pauvre en éléments nutritifs. Ainsi, les fumigants sont parfois utilisés en l'absence totale de nématodes phytoparasites, uniquement pour ces propriétés phytostimulantes. L'auteur de ces lignes a vu des fumigants vendus, non pas comme nématicides mais comme « rénovants » des sols !

Enfin, la gamme d'activité de ces produits est très large. Leur phytotoxicité correspond à une forte activité herbicide ou tout au moins herbistatique. Ils sont actifs également sur les insectes du sol. Le bromure de méthyle est également actif sur nombre de champignons pathogènes telluriques. Seul le dibromochloropropane ne présente pas de phytotoxicité. Pour cette raison, ce fut pendant longtemps le seul nématicide utilisable sur les cultures en place, telles que les arbres fruitiers, les bananiers, etc.

Bien utilisés, c'est-à-dire en respectant les impératifs d'utilisation ci-dessous, les fumigants entraînent une mortalité moyenne des nématodes de l'ordre de 80 %, plus encore avec le bromure de méthyle qui provoque une mortalité pouvant dépasser 95 % :

- une bonne préparation du sol conduisant à une couche arable fine ;
- une faible teneur en matière organique ;
- une élimination des débris de culture ; une température au moins égale à 15 °C à 10 cm de profondeur ;
- un respect des délais de phytotoxicité.

2.2. Thiocyanates et dérivés soufrés

Cette famille, également très ancienne, est essentiellement représentée par deux produits importants, le métam-sodium et le dazomet. Le premier est un dithiocarbamate qui se décompose dans le sol sous forme d'isothiocyanate. Le second appartient à la famille des thiadiazines et il se décompose dans le sol sous forme de thiocyanate. Ce sont ces molécules qui agissent directement par contact avec les nématodes.

Le métam-sodium doit être appliqué sur le sol avec une grande quantité d'eau, véhicule indispensable à sa répartition en profondeur. Il peut être également enfoui immédiatement au rotavateur. Le dazomet est conditionné sous forme granulée et enfoui dans le sol après épandage. Par hydrolyse dans la phase aqueuse du sol, il

se décompose pour donner naissance à des composés gazeux actifs. Il agit donc comme un fumigant.

Comme les organo-halogénés, ces produits sont extrêmement phytotoxiques. Ils ne peuvent en aucun cas être utilisés avant les semis de la plante à protéger. Cette phytotoxicité est utilisée en pratique pour ses qualités herbicides. Le métam-sodium inhibe durablement la germination des graines et le dazomet détruit les graines en germination. Vers blancs, taupins, noctuelles sont tués dans le sol par le dazomet. Ce dernier produit possède une gamme assez large d'activité contre les champignons du sol, *Pythium*, *Fusarium* en général (mais pas toutes les souches) (Lancaster et Robinson, 1997), ainsi que contre les bactéries.

2.3. Organophosphorés

Les nématodes sont pourvus d'organes sensoriels pairs situés sur la tête, qui leur permettent de se repérer dans le sol et de détecter leurs plantes-hôtes. Ces récepteurs, appelés amphides, sont riches en acétylcholinestérase. Facilement accessibles, ils sont inhibés par l'action des organophosphorés (tableau 2). Ceci est la première observation. Mais d'autres cibles peuvent être également touchées. L'activité estérasique, détectable dans les amphides, l'anneau nerveux et la base des spicules des mâles, est inactivée après traitement des nématodes au phénamiphos (Marwah et Khera, 1987). Ces activités multiples entraînent des effets profonds chez les nématodes (Cavelier, 1987), dont, essentiellement, une paralysie souvent irréversible (Nieto *et al.*, 1998). L'éclosion des juvéniles des nématodes à kyste est temporairement inhibée, d'où un retard dans leur pénétration dans les racines (Woods *et al.*, 1999). Un traitement à l'éthoprophos entraîne deux conséquences. On constate d'abord la présence de nématodes morts ou tout au moins paralysés dans le sol aussi bien que dans les kystes. Plus tard, au niveau de la rhizosphère, on observe une forte concentration de nématodes viables, mais qui n'ont pas pénétré dans les racines. Il y a donc un double effet : effet direct immédiat par paralysie puis mort ; effet indirect par impossibilité, pour les nématodes touchés, de repérer les plantes-hôtes et d'y pénétrer. De plus, un certain nombre d'organophosphorés peuvent être absorbés, au moins en partie, par le système radiculaire. À côté de l'activité directe par contact, qui entraîne l'inactivité ou la mort des nématodes, l'action systémique réduit la pénétration des nématodes survivants (Mateille et Netscher, 1985 ; Bunt, 1979).

Tous ces effets sont susceptibles de varier en fonction d'un certain nombre de facteurs : le même produit est plus ou moins efficace sur différentes espèces de nématodes appartenant au même genre ; cette efficacité peut aussi varier en fonction de la température. On observe ainsi parallèlement une interaction croisée nématode-température (Kimpinski et El Eraki, 1983).

Les organophosphorés sont d'une grande facilité d'emploi. Non phytotoxiques, ils pourraient être appliqués n'importe quand. Compte tenu de l'effet de dispersion mentionné ci-dessus, ils doivent être appliqués juste avant le semis ou la plantation. Systémiques en partie, leur utilisation en cours de culture peut être intéressante

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

dans la mesure où les plantes traitées ne permettent pas, ou au moins réduisent, la pénétration des nématodes du sol. Disponibles sous forme liquide ou granulée, leur utilisation est simple. Enfin, et surtout sous cette dernière forme, ils peuvent être répartis, non pas « en plain » comme pour les fumigants, mais « en localisation » dans la ligne de semis. Sur bananier, on peut pratiquer le pralinage des souches, qui permet la protection de la plante pendant trois à quatre mois (Mateille *et al.*, 1988) : le pralinage des souches consiste à enrober le bulbe du bananier avant plantation par une boue riche en terreau et en sable, additionnée d'un organo-phosphoré ou d'un carbamate. À l'inverse des fumigants, ils ne sont pas ou peu phytostimulants. Cette dernière caractéristique est troublante pour l'utilisateur non averti, qui constate et mesure un rendement plutôt qu'une mortalité. En général, et même avec une efficacité nématicide inférieure, les traitements réalisés à l'aide d'un fumigant conduisent à des augmentations de rendements qui peuvent être spectaculaires, comparées à celles consécutives à un organophosphoré.

2.4. Carbamates

Les carbamates sont des pesticides systémiques à large spectre d'action. Ils sont représentés par trois matières actives majeures, l'aldicarbe, l'oxamyl et le carbofuran, dont seule la première est autorisée en France (tableau 2). Épandus dans le sol ou au pied des plantes, ces produits s'hydrolysent dans le sol. Leurs produits de dégradation, qui sont absorbés par les racines, sont actifs contre les insectes présents sur les parties aériennes mais, aux doses admissibles, les nématodes à galle et à kyste, une fois installés dans les racines, échappent aux carbamates (Wright et Rowland, 1982). Ces produits de dégradation atteignent directement les nématodes de la rhizosphère. Le mode d'action est assez proche de celui des organophosphorés. Il y a inhibition des acétylcholinestérases, présents dans les amphides des nématodes. L'éclosion est diminuée ou supprimée selon les doses de matière active (Mateille *et al.*, 1988). Les nématodes éclos se caractérisent par une mobilité réduite (Hartwig et Sikora, 1991). À cela s'ajoute une désorientation des nématodes (Brown et Nordmeyer, 1985). Il s'en suit une pénétration très réduite des nématodes et, pour ceux qui ont pénétré, un retard dans le développement (Sivakumar *et al.*, 1976).

Non phytotoxiques, les carbamates sont, comme les organophosphorés, d'une grande facilité d'utilisation. Présentés sous forme granulée ou liquide, ils doivent être appliqués dès germination des plantes, pour limiter au maximum la pénétration des nématodes dans les racines. Comme ce sont les produits d'hydrolyse qui sont efficaces, il convient absolument que le sol soit légèrement humide lors de l'application. Un arrosage est indispensable sur les plantes en place, pour amener le produit au contact des racines. Cette application d'eau est primordiale pour une bonne efficacité. Les carbamates peuvent être appliqués localement, dans la raie de semis.

Organophosphorés et carbamates sont avant tout des insecticides. À dose insecticide, ces produits, surtout les organophosphorés, ne sont pas efficaces contre les nématodes. Pour ce faire, il faut fortement augmenter les doses.

3. *Action des nématicides sur les organismes*

3.1. Efficacité des nématicides

On peut mesurer l'efficacité des nématicides de trois manières.

La première est d'évaluer la mortalité des nématodes engendrée par les applications. L'efficacité des diverses matières actives est variable, compte tenu des problèmes liés à l'application des différents types de produits nématicides. Dans les conditions idéales, on peut considérer que la mortalité induite par les nématicides, directe par les fumigants, directe et indirecte avec les organo-phosphorés et carbamates, est de l'ordre de 80 %. Elle semble être toujours supérieure avec les non-fumigants. Elle peut être considérablement diminuée, dès lors que les conditions d'application et de nature des sols ne sont pas optimales. Pour les fumigants, le type de sol est primordial puisque l'efficacité des produits est liée à la diffusion de la matière active. À dose équivalente, un fumigant sera plus efficace en sol sableux plutôt qu'en sol argileux. Pour des raisons liées à l'adsorption, on utilisera plutôt les fumigants dans des sols pauvres en matière organique, et les organophosphorés et carbamates sur des sols riches en matière organique.

On peut mesure l'efficacité des nématicides par le gain en rendement des cultures, lequel n'est pas nécessairement corrélé à la mortalité induite par la matière active. Toute application bien faite de nématicide contre une ou plusieurs espèces nuisibles conduit *ipso facto* à une réduction des dégâts. À cela s'ajoute le phénomène de phytostimulation des fumigants. Cette phytostimulation est d'autant plus forte que les traitements sont réalisés sur des sols pauvres et carencés (Bossis et Mugniéry, 1989). Les différences mesurées de matière sèche, de taille, de rendement brut ou commercial, entre les plantes traitées et non traitées, sont pratiquement toujours, à infestation initiale égale, en faveur des fumigants (Bossis *et al.*, 1989). Cette phytostimulation, notable sur beaucoup de plantes annuelles, l'est aussi sur les plantes pérennes. Les pêchers plantés sur des sols traités avec un mélange de dichloropropane-dichloropropène et de méthyl-isothiocyanate, résistent bien mieux aux températures froides de l'hiver (Hull *et al.*, 1975). Il est régulièrement observé que seuls les bananiers plantés sur des sols ainsi désinfectés résistent aux tornades tropicales, aussi bien aux Caraïbes qu'en Afrique.

Enfin, on peut mesurer l'efficacité de ces composés en terme de dynamique des populations. En effet, il faut se poser les questions suivantes : la mortalité engendrée par le traitement est-elle contrebalancée par la multiplication des nématodes survivants sur la plante protégée ? L'expérience montre que, à part le bromure de méthyle, ce n'est pratiquement jamais le cas. La reconstitution des populations phytoparasites s'effectue très rapidement, au cours d'une année sur une plante annuelle, sur la durée de culture d'une plante pérenne. Pour une culture annuelle, cela signifie que si le végétal a bien été protégé en terme de rendement, il laissera après récolte un terrain plus contaminé qu'avant la culture, et même plus contaminé que si aucun traitement nématicide n'avait été effectué. Il y a donc absolue

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

nécessité à intégrer la protection chimique avec d'autres méthodes de lutte : méthodes culturales (rotations, décalage de semis, récoltes hâtives de pommes de terre en cas d'infestation par les nématodes à kyste), méthodes génétiques par utilisation de cultivars résistants.

Il faut remarquer que cette efficacité des nématicides s'exerce également sur les nématodes libres du sol aussi bien que sur les espèces non-cibles. Les nématodes libres du sol sont fortement touchés par les nématicides. Mais, d'une part, leurs taux de multiplication sont très élevés et leur cycle biologique est très court. D'autre part, ils présentent des capacités très fortes de détoxication des carbamates (Below *et al.*, 1987). Ces deux facteurs leur permettent de recoloniser rapidement les sols traités.

On connaît assez mal l'activité des nématicides sur d'autres cibles telluriques. Certaines espèces de vers de terre sont très sensibles et parmi les non fumigants, l'aldicarbe semble particulièrement nocif. Il entraîne des déshydratations sévères conduisant à la mort des vers, même à doses faibles (Stenersen, 1979 ; Choo et Baker, 1988).

Les fumigants et précurseurs de fumigants ont des cibles multiples. Ont été cités les plantes supérieures (phytotoxicité et propriétés herbicides), les champignons, les bactéries, les insectes. Les organophosphorés et les carbamates ajoutent à leurs qualités nématicides des effets insecticides, que ce soit contre des insectes du sol (action directe) ou aériens (action systémique).

3.2. Influence des phénomènes de dégradation et de résistance sur l'efficacité des nématicides

Compte tenu du mode d'action des organo-halogénés, aucune indication n'a pu être fournie quant à une quelconque résistance des nématodes à l'application répétée de ces produits. Il n'en demeure pas moins que, pour certains sols régulièrement traités, l'efficacité du nématicide peut diminuer. Cette diminution d'efficacité serait due à la sélection de certaines bactéries pour leur capacité à dégrader le dichloropropène, grâce à une enzyme, la haloalkane déhalogénase (Verhagen *et al.*, 1995).

Il en va de même avec le dazomet dont l'activité peut diminuer en cas d'applications répétées, par sélection probable de bactéries du sol capables de dégrader le méthyl-isothiocyanate (Di Primo *et al.*, 2003).

Des pertes d'efficacité des organophosphorés et des carbamates ont été également constatées. Dues en général à une métabolisation de la matière active par une flore microbienne adaptée, elles peuvent également être consécutives à une sélection de nématodes résistants. Bien que marginal (Van Gundy et McKenry, 1977), ce phénomène s'observe chez les nématodes soumis à des applications sub-létales. Mais les résultats publiés montrent l'existence de résistances croisées aléatoires. Soumis à de faibles doses répétées d'oxamyl et de phénominos, *Xiphinema index* voit sa résistance au carbofuran augmentée, alors que soumise à de faibles doses répétées de carbofuran et d'oxamyl, cette même espèce voit sa sensibilité au phéna-

miphos augmentée (Yamashita et Viglierchio, 1986). Des résultats inverses sont observés avec *Heterodera schachtii*. La capacité reproductive de ce nématode est augmentée sous l'influence répétée de faibles doses d'aldicarbe et de phénamiphos, mais pas de carbofuran et d'oxamyl (Viglierchio *et al.*, 1989). On retiendra de ces observations que des sensibilités et des résistances croisées existent, et que leur importance et leur sens varient selon les nématicides employés et les espèces étudiées. Mais on retiendra surtout que l'ampleur des résistances aux nématicides est très faible, considérée en elle-même ou comparée aux résistances chez les insectes et chez les champignons. Ce phénomène demeure donc très marginal. L'explication tient essentiellement au fait que la dispersion active des nématodes phytoparasites est très faible et que, comparés à de nombreux autres organismes, leurs taux de multiplication sont réduits. Ces deux facteurs additionnés ont comme résultante que, même si une population devenait résistante aux nématicides, cette résistance resterait longtemps limitée à la parcelle d'origine.

4. *Analyse bibliographique pour situer l'importance des nématicides*

Il est extrêmement difficile de connaître les surfaces traitées et les quantités de nématicides utilisées. Dès lors qu'il s'agit d'organophosphorés ou de carbamates, les données des distributeurs ne sont pas utilisables car il n'est pas possible de savoir si ces matières actives sont utilisées contre les nématodes ou contre les insectes. Les données sur les fumigants sont plus fiables dans la mesure où l'on peut supposer que les nématodes sont bien les cibles visées. Les données fournies par l'Union des industries de la protection des plantes (UIPP) (tableau 3), soulignent que les quantités de fumigants utilisées sont relativement faibles sur le territoire français, et qu'elles sont en diminution (dans ces données, ne sont pas inclus les tonnages de bromure de méthyle, en général réservé aux serres). Des conclusions semblables sont observées dans d'autres pays européens, Pays-Bas et Grande-Bretagne.

Tableau 3 ■ Quantité de nématicides utilisés en France et évolution des tonnages.

Tonnages de substances actives phytosanitaires entrant dans la composition des spécialités commercialisées par les adhérents de l'UIPP				
	1999	**2000**	**2001**	**2002**
Dichloropropène, métam-sodium, fosthiazate	3 100	979	2 875	1 318
Total France	120 500	94 690	99 600	82 500

Source : UIPP 2003

Pour faire un bilan, la première question est donc de déterminer quelles plantes font plus particulièrement l'objet de protection nématicide. Aucune donnée, tant

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

française que mondiale, n'est actuellement disponible. Une approche, nécessairement biaisée, mais qui est la seule possible, correspond à opérer statistiquement sur les publications scientifiques internationales. Cette analyse, conduite sur les vingt dernières années, montre une part prépondérante des cultures industrielles, puis maraîchères comme particulièrement protégées par des nématicides (tableau 4).

Tableau 4 ■ Importance relative des types de cultures protégées par des nématicides.

Cultures industrielles	53 %
Cultures maraîchères	16 %
Cultures fruitières – dont cultures tropicales – dont cultures tempérées	15 % 11 % 4 %
Légumineuses	4 %
Fleurs	3 %
Petits fruits	2 %
Pâturages	2 %
Autres (vigne, okra, caféier)	5 %

Parmi les plantes industrielles, ce sont essentiellement la pomme de terre, le coton, la betterave et le tabac, qui sont l'objet de protection chimique contre les nématodes. Pour les plantes maraîchères, la part prédominante revient à la tomate de plain champ et surtout tomate de serre. Pour les cultures fruitières, ce sont surtout les plantes tropicales qui sont l'objet de traitements nématicides : la protection du bananier représente plus de la moitié des publications, suivie de loin par les agrumes puis l'ananas. Les autres spéculations, légumineuses, fleurs, petits fruits, pâturages sont négligeables.

La seconde question est de savoir contre quels nématodes les traitements nématicides sont dirigés. Utilisant les mêmes sources, il apparaît clairement que les nématodes contre lesquels la majorité des nématicides est employée appartiennent au groupe des nématodes sédentaires et, en particulier, des nématodes à galles (figure 1). Compte tenu de la biologie de ces nématodes, ceci indique que ce sont les serres en zones tempérées et les sols tropicaux qui font le plus l'objet de traitements de sols. Parmi les endoparasites migrateurs, le nématode le plus couramment combattu est *Radopholus similis*, particulièrement néfaste sur les agrumes et surtout sur les bananiers. Cette observation corrobore les résultats présentés dans le tableau 4.

À partir de ces données, une analyse plus fine peut être faite au niveau des espèces. Dans le groupe des nématodes à galles (figure 2A), les nématodes visés se trouvent essentiellement : d'une part sous serre en zone tempérée (et les plantes

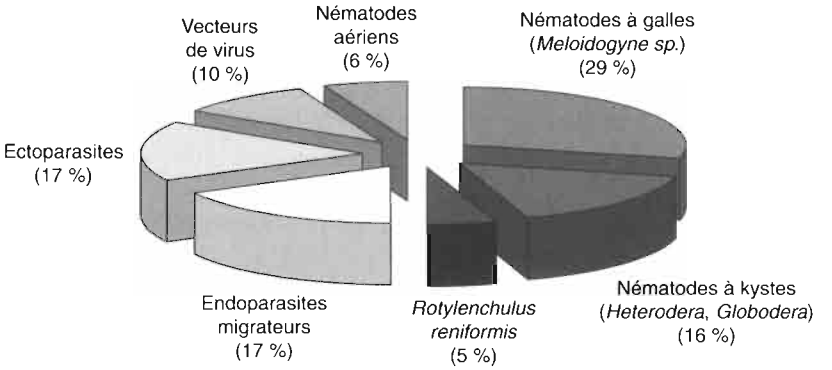


Figure 1 ■ Répartition des types de nématodes qui sont l'objet de traitements nématicides dans le monde.

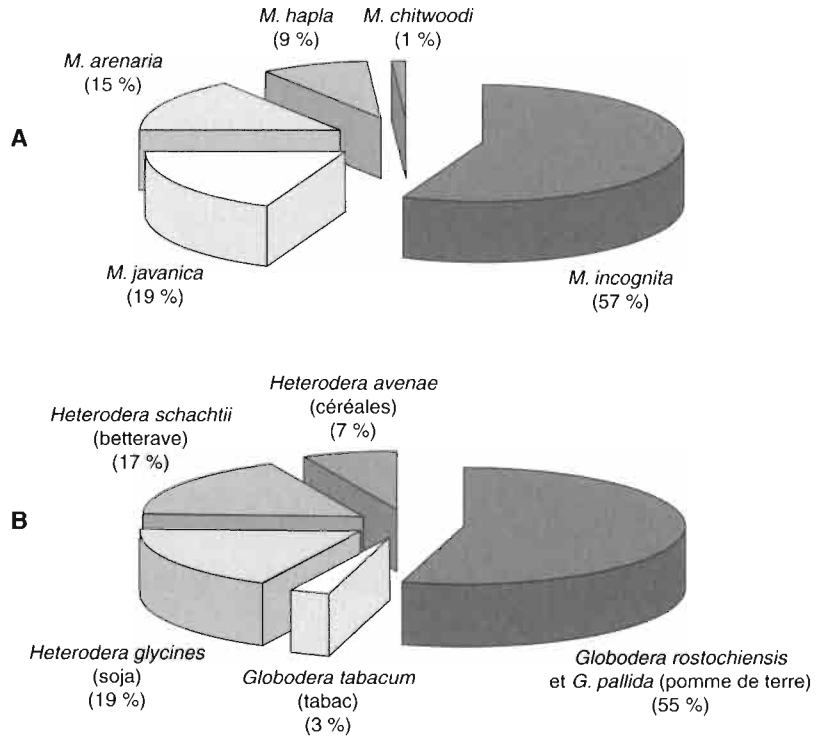


Figure 2 ■ Répartition des espèces de nématodes à galle (A) et à kyste (B) qui sont l'objet de traitements nématicides dans le monde.

protégées sont aussi bien des cultures florales que des plantes maraîchères, tomate particulièrement), d'autre part en zone tropicale sur toutes les cultures où prolifèrent les nématodes polyphages, ce qui rend peu aisée l'identification de la plante protégée.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

La même analyse, réalisée avec les nématodes à kyste (figure 2B), nématodes caractérisés par une forte spécialisation d'hôte, montre que trois types de plantes se distinguent immédiatement : la pomme de terre, suivie de la betterave, essentiellement en zone tempérée, et le soja en zone climatique plus chaude. Les céréales sont peu traitées, non pas parce que les dégâts sont plus faibles, mais parce que le prix d'un traitement de sol est trop élevé.

Au terme de cette analyse bibliographique, la question subsidiaire est la suivante : à quelle famille chimique appartiennent les matières actives utilisées contre les nématodes ?

En utilisant le même jeu de données, on parvient au résultat suivant (figure 3) : les fumigants et les précurseurs de fumigants, seuls maîtres du marché pendant longtemps, ont vu leur part se réduire. Cette réduction s'est faite au bénéfice des organophosphorés et surtout des carbamates. Cette évolution n'est pas sans risque majeur. Si l'on admet classiquement que les effets sur l'environnement sont faibles après fumigation, le devenir des résidus dans les produits végétaux n'est pas sans poser problème, et ce point est majeur avec les carbamates.

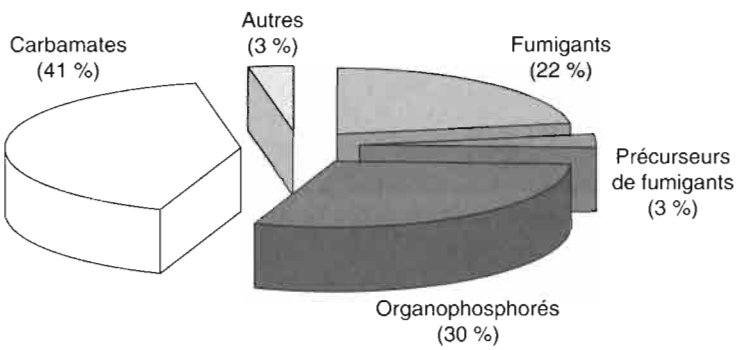


Figure 3 ■ Répartition par famille des nématicides utilisés dans le monde.

5. *Perspectives pour l'utilisation des nématicides*

5.1. Toxicité et processus de l'homologation européenne

L'interdiction des organochlorés n'a pas affecté l'usage et l'utilisation de certains fumigants tels le 1-3 dichloropropène. Mais l'avenir des fumigants en tant que tel est posé depuis plus de dix ans ; le bromure de méthyle est le premier visé. Les organophosphorés sont aussi visés par les directives européennes mais l'éthoprophos ne semble pas menacé. Les restrictions d'usage sur l'aldicarbe sont devenues extrêmement fortes. En zone d'agriculture tempérée, il convient d'envisager à très court terme l'impossibilité légale de désinfecter un sol de ses nématodes avec d'autres matières actives que celles que l'on trouve encore pour un temps parmi les fumigants et leurs précurseurs. Pour comprendre la raison de ces évolutions, il suffit

de considérer le tableau 5 indiquant les DL_{50} des divers nématicides. Les fumigants semblent peu toxiques, hormis le bromure de méthyle, dont la dangerosité immédiate sur l'utilisateur est très importante : à 1 000 ppm dans l'air, il est mortel en 30 minutes. Inodore, il est toujours conditionné avec 2 % de chloropicrine. Cependant, d'autres effets à long terme ont été notés, particulièrement avec le dibromure d'éthylène, dont l'effet est prouvé sur la spermatogenèse (Courtens *et al.*, 1980), ce qui a entraîné son interdiction en 2003 par la FAO (*Food and Agriculture Organization*). Les DL_{50} des organophosphorés sont assez faibles mais la persistance dans le sol de la matière active peut être longue. Aussi des effets à long terme ont-ils été soulignés sur la santé humaine, essentiellement un effet mutagène (Sierra-Torres *et al.*, 1998). Les carbamates, l'aldicarbe particulièrement, sont extrêmement toxiques et leur DL_{50} est très basse. Tous ces faits, conjugués à la tendance de ces molécules à migrer et à s'accumuler dans les parties apicales et en croissance des végétaux, dans les fruits et les tubercules (d'où des problèmes latents des résidus), expliquent les limitations actuelles en France et en Europe.

Tableau 5 ■ Toxicité et utilisation légale des nématicides.

	Toxicité		**Utilisation**
	DL_{50} mg/kg	**DJA mg/kg/j**	
1,3 dichloropropène	150	–	oui
Bromure de méthyle		1	oui (réglementation en France)
Dibromure d'éthylène	146	–	interdit partout
Métam-sodium	820		oui
Dazomet	640		oui
Phénamiphos	15,3	0,0008	Interdiction en 2004 en France
Fosthiazate	57-73	0,004	oui
Ethoprophos	62	0,0003	oui
Cadusaphos	37	0,0003	Interdiction en 2004 en France
Terbufos	4,5-9	0,0002	Interdiction en France
Isazophos	60	0,01	Interdiction en France
Aldicarbe	1	0,001	oui (restriction en France)
Carbofuran	8-14	0,002	Interdiction en France
Oxamyl	5,4	–	Interdiction en France

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

5.2. Un obstacle économique

Une désinfection de sol correspond à une opération financière lourde. Il est quasiment impossible d'indiquer un coût donné sur le territoire métropolitain, tant celui-ci peut varier d'une région à une autre. Au niveau européen, il n'y a pas d'harmonisation des prix et selon le pays où l'on se trouve, une matière active coûtera plus ou moins cher. Des estimations sont cependant possibles. Le traitement le plus onéreux est indiscutablement celui résultant du bromure de méthyle. Selon les doses, les fourchettes admises pour le coût d'un traitement se situent entre 4 500 et 7 600 € par hectare. Une désinfection réalisée avec d'autres fumigants, des précurseurs de fumigant, des organophosphorés ou des carbamates voit son coût varier de 450 à 1 500 € par hectare. Dans ces conditions, le lecteur ne s'étonnera pas qu'une sélection ait été opérée dans les plantes protégées contre les nématodes. Pour les cultures florales, rosiers, chrysanthèmes, le coût de la désinfection n'est pas prohibitif. Certaines cultures maraîchères sous serre, telles la tomate, supportent également le coût d'une désinfection, même au bromure de méthyle. Pour les grandes cultures, le problème est plus complexe. La désinfection contre les nématodes vecteurs de virus est une pratique normale en situation de replantation de la vigne. Cette pratique est d'autant plus facilement admise que le végétal replanté reste sur la parcelle pendant de nombreuses années et que la valeur du produit brut à l'hectare est élevée. De même, les cultures de carottes supportent aisément le coût d'une désinfection du sol à l'aide d'un fumigant. En revanche, la culture de la pomme de terre, compte tenu de la variabilité des prix de vente sur le marché et du gain espéré (variable en terme de rendement) rend en France l'opération aléatoire. Dans ces conditions, on comprend pourquoi les céréales ne sont pas traitées : le coût de l'opération est totalement prohibitif, comparé au gain économique attendu.

À cela s'ajoutent des restrictions d'utilisation. En France, certaines applications chimiques ne peuvent pas être effectuées par l'exploitant. Un traitement au bromure de méthyle passe obligatoirement par l'intermédiaire d'une entreprise agréée par le service de la Protection des végétaux, tandis que l'utilisation de l'aldicarbe est liée à la reconnaissance écrite par l'utilisateur des contraintes liées à cette matière active.

À ce tableau en demi-teintes, s'ajoutent les constatations suivantes : ce sont indiscutablement les nématodes que l'on trouve en zone tropicale qui, compte tenu de leur biologie, sont les plus dangereux. Ils sont en général extrêmement polyphages, et les méthodes classiques de rotation des cultures sont peu adaptées pour les combattre, ce qui implique *a priori* un recours logique aux traitements des sols. Or, le coût de cette protection est très élevé et implique des matières actives dangereuses pour l'environnement et la santé humaine. À l'inverse, hormis le cas des serres et des nématodes vecteurs de virus, les problèmes nématologiques en zones méditerranéenne et tempérée sont davantage dus à des nématodes monophages ou oligophages vis-à-vis desquels les rotations sont efficaces. Mais pour beaucoup de spéculations, l'utilisation de nématicides n'est pas d'un coût prohibitif. La conclusion que l'on peut tirer est qu'en général en zone tropicale, la protection chimique pourrait passer pour obligatoire et nécessaire, et en zone tempérée, pour superflue.

5.3. Nématicides et méthodes alternatives : quel avenir ?

Compte tenu de l'évolution des législations nationales et internationales, l'avenir des nématicides apparaît particulièrement compromis. Dans la liste des fumigants, seuls subsistent en France le 1-3 dichloropropène et le bromure de méthyle. Les précurseurs de fumigants ne semblent pas non plus menacés. Mais de nombreuses matières actives ont disparu. Le dibromure d'éthylène, extrêmement utilisé en zone tropicale et surtout en protection des bananiers, a d'abord été interdit de fabrication aux États-Unis. Les dommages constatés sur les utilisateurs d'Amérique centrale ont conduit à son interdiction définitive. Un nombre impressionnant d'organophosphorés vient d'être retiré du marché français et européen en début 2004. L'éthoprophos a échappé à cette mesure de retrait mais nul ne sait pour combien de temps. L'aldicarbe n'est plus utilisable que sur les betteraves, maïs et vigne. Le choix des utilisateurs potentiels devient très limité.

Aussi faut-il se poser la question de la gestion d'une telle situation.

En zone tempérée, les limitations vont conduire, sur les grandes cultures et les cultures maraîchères, à des révisions et des changements déchirants. L'obligation de restaurer les rotations, seul système biologique pertinent, s'impose, mais les rotations à pratiquer sont souvent trop longues pour être acceptées (*cf.* chapitre 18). La présence de nématodes à kyste n'est grave que lorsque les rotations sont courtes ou inexistantes. En effet, certaines régions pratiquent des monocultures de pomme de terre, de betterave, de soja, depuis plus de cinquante ans. Dans de telles conditions, le recours permanent à la désinfection s'impose, comme conséquence absurde d'un système agricole trop simplifié. Des déplacements de culture seront inévitables. Ainsi, sur sols sableux pauvres et contaminés par *Heterodera carotae,* la carotte exige un traitement de sol systématique. En l'absence de traitement, le rendement commercial peut être égal strictement à zéro. Si les fumigants sont interdits, la seule solution sera de rechercher des sols non contaminés, peut-être d'abandonner cette culture sur de tels sols, et surtout de rechercher des cultivars résistants. En serre, la présence de nématodes nuisibles, voire de quarantaine, a entraîné des changements considérables, dont le moindre n'est pas la mise en place de culture hors-sol.

D'autres méthodologies existent, qu'il convient d'expérimenter : culture de plantes nématicides (*Tagetes*, *Crotalaria*, etc.), utilisation de tourteaux à propriété nématicide (neem, ricin), utilisation directe ou méthodes culturales promouvant les antagonismes naturels (champignons et bactéries parasites et/ou prédateurs de nématodes). Dans les cas où les fumigations de sols sont réalisées essentiellement pour l'aspect de phytostimulation, certains procédés biologiques comme l'utilisation de bactéries stimulant la mycorhization d'espèces arborées remplacent avantageusement l'usage des fumigants (Duponnois *et al.*, 1993).

De plus en plus de cultivars résistants aux nématodes existent et sont disponibles sur le marché : betterave, tomate, pomme de terre, tabac, coton, etc. D'autres sont en cours de sélection : céréales, carotte, piment. Un changement de mentalité devient nécessaire, tant chez les agriculteurs que chez les sélectionneurs pour faire admettre des variétés résistantes même si leur potentiel de production est

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

plus faible que celui des cultivars non résistants. Dans certains cribles officiels d'acceptation de nouvelles variétés, certaines sont refusées car leur potentiel de rendement est inférieur de 10 % aux variétés témoins, sans considérer que sur terres contaminées, elles sont susceptibles sans traitements de sol de « sur-performer » ces mêmes témoins.

En zone tropicale, le problème est beaucoup plus ardu. Les considérations de dangerosité des matières actives ne sont pas au même niveau. Néanmoins, des procédés alternatifs sont mis au point pour pallier l'absence de nématicides. Contre les nématodes à galle, il existe des cultivars résistants. Des variétés résistantes de diverses plantes cultivées : riz, patate douce, etc. ont été sélectionnées. Aussi, il existe de bons espoirs de sélection de génotypes résistants, ou au moins tolérants, vis-à-vis de *Radopholus similis*, parasite redoutable du bananier, parasite contre lequel les produits chimiques les plus divers et les plus dangereux pour l'environnement et pour l'homme ont été et sont encore utilisés.

Conclusion

Même si la situation n'est pas ponctuellement toujours facile, il ne faut pas en considérer que le côté négatif. La limitation, voire l'interdiction des traitements nématicides, qu'elles soient décidées par arrêtés ou plus simplement par les exigences des centrales d'achat doivent être positivées. Cette limitation ne peut qu'entraîner une remise en question des systèmes actuellement « hyper-simplifiés » de production en remettant en valeur les notions de rotations, de choix de variétés, de méthodes culturales de lutte. Dans de telles conditions, l'utilisation de nématicides, évidemment indispensable, devrait être considérée comme un remède en cas d'accident et non pas comme un dopage permanent.

Références bibliographiques

Below S., Kampfe L., Mueller A. (1987). Reaction of *Rhabditis oxycerca* after long-term exposure to aldicarb and oxamyl. II: enzyme changes in nematicide resistance, *Nematologica*, **33** : 298-309.

Bossis M., Cavelier A., Mugniéry D. (1989). *Heterodera carotae* Jones, 1950. 4. Intérêts et limites de la lutte chimique. *Revue Nématol*, **12** : 343-350.

Bossis M., Mugniéry D. (1989). *Heterodera carotae* Jones, 1950. 5. Effet du phytostimulant DD, *Revue Nématol*, **12** : 432-434.

Brown S., Nordmeyer D. (1985). Synergistic reduction in root galling by *Meloidogyne javanica* with *Pasteuria penetrans* and nematicides. *Revue Nématol*, **8** : 285-286.

Bunt J. (1979). Effect and mode of action of the nematicide ethoprophos. Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent, **44** : 357-366.

Cavelier A. (1987). Le mode d'action des nématicides non fumigants. *Agronomie*, **7** : 747-762.

Choo L.P.D., Baker G.H (1988). Influence of four commonly used pesticides on the survival, growth, and reproduction of the earthworm *Aporrectodea trapezoides (Lumbricidae)*. *Aust J Agr Res*, **49** : 1297-1303.

Courtens J.L., Amir D., Durand J. (1980). Abnormal spermiogenesis in bulls treated with ethylene dibromide: an ultrastructural and cytochemical study. *J Ultrastruct Res*, **71** : 103-115.

Di Primo P., Gamliel A., Austerweil M., Steiner B., Beniches M., Peretz-Alon I., Katan J. (2003). Accelerated degradation of dazomet and metam sodium in soil: characterization and consequences for pathogen control. *Crop Prot*, **22** : 635-646.

Duponnois R., Garbaye J., Bouchard D., Churin J.L. (1993). The fungus specificity of mycorrhization helper bacteria (MHBs) used as alternative to soil fumigation for ectomychorrhizal inoculation of bare-root Douglas-fir planting stocks with *Laccaria laccata*. *Plant Soil*, **157** : 257-262.

Freckman D., Demeure Y., Munnecke D., Van Gundy S. (1980). Resistance of anhydrobiotic *Aphelenchus avenae* to methyl bromide fumigation. *J Nematol*, **12** : 19-22.

Germani G., Reversat G. (1983). Effet du Dibromochloropropane sur quelques espèces de nématodes reviviscents, parasites de l'arachide au Sénégal. *Revue Nématol*, **6** : 73-78.

Hartwig J., Sikora R. (1991). Mode-of-action of the carbamate nematicides cloethocarb, aldicarb and carbofuran on *Heterodera schachtii*. 1. Contact activity. *Revue Nématol*, **14** : 525-530.

Hull J., Andersen R., Carlson R. (1975). Effects of rootstock, fumigation and training on growth of young peach trees. *Compact Fruit Tree*, **8** : 58-61.

Kimpinski J., El Eraki S. (1983). Influence of aldicarbe, carbofuran, propoxur and phenamiphos on activity of *Pratylenchus penetrans* (Cobb) and *P. crenatus* (Loof). *Revue Nématol*, **6** : 10-110.

Lancaster M.E., Robinson D.K. (1997). *Dazomet Activity Towards Southern Bacteria Wilt and Non-Activity Towards Fusarium in Plasticulture Tomato Production.* Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions. November, 1997, San Diego, Californie, 20-1 : 20-2.

Marwah R., Khera S. (1987). Effect of Nemacur, an organophosphate nematicide, on *Meloidogyne incognita* and its possible mode of action. *Indian J Exp Biol*, **25** : 265-269.

Mateille T., Netscher C. (1985). Temporary protection of egg-plant from *Meloidogyne incognita* by minute quantities of isazophos and aldicarbe applied at seedling stage. *Revue Nématol*, **8** : 41-44.

Mateille T., Quenhervé P., Topart P. (1988). Nematicidal treatment of banana AAA cv. Poyo planting material by corm coating. *Revue Nématol*, **11** : 89-92.

Nieto J., Guida G., Corbellini G. (1998). Fosthiazate (Nemathorin 10 G) new granular nematicide for horticultural crops and tobacco. *Atti, Giornate fitopatologiche*, Scicli e Ragusa, 3-7 maggio, 1998.

Sivakumar C.V., Balasubramanian M., Palanisamy S. (1976). Effect of oxamyl on hatching and larval development of *Rotylenchulus reniformis*. *Nematropica*, **6** : 85-87.

Sierra-Torres C.H., Cajas-Salazar N., Hoyos L.S., Zuleta M., Whorton E.B., Au W.W. (1998). In vitro and in vivo genotoxic activity of miral, an organophosphorus insecticide used in Colombia. *Mutat Res*, **415** : 59-67.

Stenersen J. (1979). Action of pesticides on earthworms. Part I: the toxicity of cholinesterase-inhibiting insecticides to earthworms as evaluated by laboratory tests. *Pestic Sci*, **10** : 66-74.

Van Gundy S., McKenry M.V. (1977). Action of nematicides. *In* Horsfall JG, Cowling EG. *Plant disease: an advanced treatise, Vol I. How disease is managed. Academic Press Inc. New York & London.* 263-283.

Verhagen C., Smit E., Janssen D., Elsas J. (1995). Bacterial dichloropropene degradation in soil; screening of soils and involvement of plasmids carrying the dhlA gene. *Soil Biol Biochem*, **12** : 1547-1557.

Viglierchio D., Brown S., Kuo F. (1989). Adaptive responses of *Heterodera schachtii* populations to nematicidal applications of nonfumigant nematicides after stressing with sublethal doses. *Revue Nématol*, **12** : 133-138.

Woods S., Haydock P., Edmunds C. (1999). Mode of action of fosthiazate used for the control of the potato cyst nematode *Globodera pallida*. *Ann Appl Biol*, **135** : 409-415.

Wright D., Rowland A. (1982). Susceptibility of different developmental stages of the root- knot nematode, *Meloidogyne incognita*, to the nematicide oxamyl. *Ann Appl Biol*, **100** : 521-525.

Yamashita T., Viglierchio D. (1986). Variations in the stability of behavioral changes in nonfumigant nematicide-stressed populations of *Xiphinema index* following release from subnematicidal stress. *Revue Nématol*, **9** : 377-383.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Section 2

Impacts environnementaux et effets non intentionnels

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

6

Le devenir des produits phytosanitaires dans le sol et l'environnement : rétention, dégradation et dissipation

Michel Schiavon, Enrique Barriuso

En agriculture, les produits phytosanitaires, communément appelés : pesticides, sont utilisés intentionnellement et ont pour vocation de protéger les plantes cultivées contre les ravageurs, les maladies et les adventices. Suivant leur mode d'action et leur sélectivité, ils sont appliqués, soit sur le sol avant ou après l'implantation de la culture, soit sur les cultures elles-mêmes à des stades végétatifs variables. Dans ce cas, seulement une partie du produit parvient directement au sol ; la quantité dépend de la densité de la végétation, de son port et du type de pulvérisation. L'arrivée au sol de la partie non absorbée ayant atteint les plantes se fera à la faveur des précipitations (pluvio-lessivats) et/ou lors de l'enfouissement des parties aériennes traitées. Ainsi, le sol joue un rôle majeur dans le devenir des produits phytosanitaires. En effet, par ses propriétés physicochimiques, il va intervenir sur la rétention des produits, tandis que ce processus sera contrarié par ses propriétés biologiques et hydrodynamiques. Les micro-organismes du sol interviendront sur la dégradation et l'élimination du produit (minéralisation), alors que la circulation de l'eau libre du sol contribuera à sa dissipation par son entraînement vers des compartiments non-cibles. Il en résulte que pour préjuger du devenir d'un pesticide, trois processus fondamentaux interdépendants doivent être connus et évalués : la rétention, la dégradation et la dissipation qui englobe les possibilités de dispersion et de stabilisation dans le sol, processus que nous présenterons dans ce chapitre (*cf.* encadré « Définitions »).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Définitions

- L'**adsorption** correspond à l'accumulation d'un soluté au niveau de l'interface sol-eau, ou sol-air, impliquant l'attraction d'un produit chimique (adsorbat) sur une surface solide (adsorbant).
- La **sorption** correspond à l'adsorption consécutive à la diffusion moléculaire du produit à l'intérieur de la phase solide vers des espaces peu accessibles (espaces interfoliaires des argiles, microporosité des agrégats).
- La **désorption** est définie comme étant le phénomène inverse de l'adsorption et correspond à la libération de molécules, préalablement adsorbées, dans la phase liquide ou gazeuse du sol.
- La **rétention** fait référence à l'ensemble des phénomènes qui font passer les molécules dans la phase solide d'un sol. Ainsi, la rétention renvoie prioritairement au processus d'adsorption, mais prend en compte également le processus de diffusion du produit à l'intérieur d'espaces occupés par de l'eau immobile au niveau des agrégats du sol ainsi que la biosorption par les organismes tel que les plantes et les micro-organismes. On utilise donc ce terme lorsque l'origine de l'immobilisation des molécules n'est pas identifiée ; ce qui est toujours le cas pour un système complexe comme le sol.

1. La rétention

Parmi les processus qui influent sur le devenir d'un produit phytosanitaire dans le sol, la rétention joue un rôle prépondérant. D'un point de vue agronomique, le contrôle de certaines espèces végétales par exemple, a souvent été mis en relation avec la capacité d'un sol à adsorber l'herbicide, car c'est la concentration en matière active de la solution du sol qui conditionne son activité biocide. Une rétention trop intense entraîne une diminution de l'efficacité du traitement envers les organismes cibles et le seul remède possible est une augmentation des doses appliquées. Un autre désavantage est le risque de reliquats trop importants en fin de cycle végétatif de la culture traitée et donc de phytotoxicité pour la culture suivante éventuellement sensible. Par contre, les quantités du pesticide retenu présentent l'avantage, par désorption progressive, de prolonger l'activité biocide et le contrôle de la cible.

D'un point de vue environnemental, la rétention peut être considérée comme globalement avantageuse. En réduisant la concentration du pesticide dans la solution du sol, elle limite le potentiel de mobilité de la matière active vers l'atmosphère, les eaux de surface (ruissellement) et les eaux profondes (lessivage) (Hasset et Banwart, 1989 ; *cf.* chapitre 7). D'autre part, elle peut favoriser la dégradation abiotique par l'intervention de certains sites d'adsorption catalytiques. Mais une rétention trop forte freine la dégradation biologique car elle diminue la disponibilité des résidus pour les micro-organismes.

Quoi qu'il en soit, suite à la rétention, la phase solide du sol constitue un réservoir de résidus qui seront progressivement libérés dans la solution du sol. Ainsi, les conséquences de la désorption sur le milieu naturel sont contraires à celles résultant de la rétention, avec éventuellement pour résultat possible un effet sur les organismes non-cibles.

1.1. Techniques d'études

L'intensité et la nature de la rétention des produits phytosanitaires se déterminent de manière générale au laboratoire. Différentes techniques ont été proposées pour son étude. La plus utilisée et normalisée (OCDE *test guidelines* 106), est la « *batch equilibration* ». Elle assure par agitation un mélange intime entre l'échantillon de terre et la solution contenant le pesticide. Après une durée d'agitation déterminée, les deux phases liquide et solide sont séparées par centrifugation pour permettre la mesure de la quantité de pesticide qui reste en solution. La quantité adsorbée est déduite par différence entre la concentration initiale et celle mesurée (Calvet, 1989).

L'étude de la rétention comporte deux étapes. La première consiste à établir une cinétique d'adsorption, c'est-à-dire à déterminer le temps au terme duquel on parvient à un équilibre entre la quantité de pesticide en solution et celle adsorbée à la surface du sol. La seconde étape comporte la réalisation d'isothermes d'adsorption. Celles-ci sont obtenues en faisant varier la concentration en pesticide de la solution mise en contact avec la terre pendant une durée égale au temps d'équilibre précédemment déterminé. La précision des résultats est fonction de l'appréciation du temps nécessaire pour parvenir à l'équilibre, de la qualité de la séparation des phases liquide et solide et enfin, du dosage du produit restant en solution (Jamet, 1979).

L'interprétation correcte du processus d'adsorption suppose qu'il est seul à l'origine de la diminution de la concentration du soluté dans la phase liquide. Cependant, d'autres phénomènes peuvent se produire de manière simultanée et constituer une source d'erreur. Parmi eux figurent la dégradation d'origine chimique ou biologique et des phénomènes de diffusion, de volatilisation et de précipitation du pesticide. Enfin, les résultats obtenus sont également dépendants du conditionnement granulométrique de l'échantillon de terre et du rapport sol-solution (Graham-Bryce, 1981).

1.2. Description des phénomènes

1.2.1. Cinétiques d'adsorption

La cinétique d'adsorption comporte le plus souvent deux phases. La première, généralement rapide, correspond à l'adsorption de 30 à 70 % du produit initialement présent en solution sur les surfaces immédiatement accessibles, tandis que la seconde est bien plus lente (quelques heures, voire quelques jours) car elle est supposée impliquer une diffusion du composé vers des sites réactifs peu accessibles à l'intérieur des matrices organiques et minérales. Ainsi, dans le sol, du fait de

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

son organisation structurale hétérogène et de l'abondance de la microporosité, à l'adsorption se superpose la sorption. Ces cinétiques d'adsorption sont très variables et dépendent du système sol-pesticide (Gao *et al.*, 1998).

Différents modèles sont proposés pour décrire la cinétique d'adsorption d'un pesticide (Jamet *et al.*, 1984). Parmi ceux-ci, le modèle hyperbolique est le plus utilisé. Il est simple, mais purement descriptif. Il est déduit de l'allure des courbes de cinétique d'adsorption. Dans les modèles à compartiments, le sol est assimilé à un système fermé à 2 ou 3 compartiments. Dans le système le plus complexe, le sol est supposé comporter une phase liquide et deux compartiments, l'un à cinétique d'adsorption « rapide » et l'autre à adsorption « lente », sans échanges entre eux.

1.2.2. Isothermes d'adsorption

Elles informent sur la quantité de produit adsorbé au sol en fonction de la concentration à l'équilibre. À faible concentration, l'adsorption de la plupart des produits organiques non polaires sur le sol ou les sédiments peut être décrite par des isothermes linéaires (Gawlik *et al.*, 2003). Cependant, au-delà d'une certaine concentration, des isothermes non linéaires sont généralement observées, en particulier pour des pesticides peu solubles dans l'eau (Gao *et al.*, 1998 ; Hui Chen *et al.*, 2004).

Plusieurs explications sont proposées pour justifier cette non-linéarité (Sonon et Schwab, 1995). La première serait une diminution des sites disponibles lorsque l'adsorption augmente ; c'est le cas des sols faiblement pourvus en surface d'adsorption effective. La seconde fait référence au type de sites d'adsorption. Les molécules organiques auraient tendance à s'adsorber en premier lieu sur des sites accessibles à forte énergie, puis progressivement sur des sites de plus faible énergie et/ou moins accessibles.

L'allure générale des isothermes d'adsorption est une caractéristique importante car elle donne une information sur les mécanismes de rétention. Une classification a été proposée par Giles *et al.* (1960). Toutefois, une interprétation rigoureuse du processus d'adsorption doit prendre en compte les propriétés moléculaires des adsorbats et des adsorbants ainsi que des données concernant les mécanismes moléculaires, la thermodynamique et la cinétique de l'adsorption (Calvet, 1989).

Une manière simple d'exprimer l'affinité d'un pesticide pour un sol est de calculer à l'équilibre le coefficient de distribution K_d ($L.kg^{-1}$) qui correspond au rapport :

$$K_d\ (L.kg^{-1}) = \frac{\text{concentration du pesticide en solution } (mg.L^{-1})}{\text{concentration du pesticide absorbé } (mg.kg^{-1})}$$

Ce rapport suppose des isothermes d'adsorption linéaires ; la quantité de produit adsorbé étant linéairement proportionnelle à la quantité de produit en solution. Mais comme la plupart du temps l'adsorption n'est pas linéaire, on préfère exprimer le coefficient de distribution sous la forme d'une constante déterminée à l'aide d'un modèle mathématique.

Différentes relations mathématiques permettent une description des isothermes d'adsorption (Bailey et White, 1970). Cependant, le modèle de Freundlich est le plus utilisé (*cf.* 1.2.3.). Il décrit le plus souvent de manière satisfaisante l'adsorption des pesticides par le sol et le pouvoir adsorbant est exprimé par la constante K_f et sa variation par la constante nf :

$$Q_{ads} = K_f.Ce^{nf}$$

où : Q_{ads} = quantité de produit adsorbé

nf = constante traduisant la variation de l'intensité de l'adsorption

Ce = concentration à l'équilibre

K_f = constante traduisant le pouvoir adsorbant du sol.

Plus la valeur de K_f est élevée et plus l'adsorption est importante. K_f est égal à K_d si nf est égal à 1, ce qui est très souvent le cas pour de faibles concentrations. Dans la comparaison de l'adsorption ou pour préjuger de la mobilité de différents pesticides dans un sol, on exprime souvent cette valeur sous forme de K_{oc} en procédant à une normalisation du K_d par rapport au carbone organique du sol :

$$K_{oc} = (K_d \times 100)/\% \text{ carbone organique du sol}$$

Mais ce concept suppose que la capacité d'adsorption du sol est uniquement contrôlée par la teneur en matière organique indépendamment de sa nature. Or, la nature de la matière organique et ses capacités d'adsorption peuvent varier largement d'un type de sol à un autre, induisant une variation des mécanismes d'adsorption (Patakioutas et Albanis, 2002). De plus, K_{oc} devient un paramètre de prédiction sans intérêt si l'adsorption implique une forte participation des argiles ou si le ratio argiles sur carbone organique est supérieur à 30-40 (Hasset et Banwart, 1989).

1.2.3. Isothermes de désorption

Après adsorption, le sol se comporte comme un réservoir qui va délivrer le produit adsorbé dans la solution du sol lorsque sa concentration dans celle-ci diminue par prélèvements, dégradation ou transfert (Ding *et al.*, 2002).

La désorption est un processus beaucoup plus lent que l'adsorption (Xue et Selim, 1995) en raison des interactions sol-pesticide qui freinent la libération du produit (énergie de liaison, diffusion) et conduisent à une dissymétrie par rapport aux isothermes d'adsorption. Ce phénomène est appelé : hystérésis (Carrizosa *et al.*, 2001). D'une manière générale, ce phénomène est plus prononcé dans les sols à forte teneur en matière organique (Singh *et al.*, 1989) et la quantité de produit désorbée est rarement totale (Jamet, 1986). Les quantités de pesticide qui restent adsorbées après chaque dilution, sont de plus en plus fortement liées au sol et l'hystérésis est beaucoup plus importante pour les dernières étapes de la désorption (Locke, 1992). La désorption peut être également limitée par la non-accessibilité du solvant aux sites d'adsorption du pesticide et freinée par le processus de diffusion du pesticide présent dans la microporosité du sol vers le solvant de la macroporosité.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Les isothermes de désorption peuvent être décrites à l'aide du modèle de Freundlich qui peut être modifié (Barriuso *et al.*, 1992) pour tenir compte des quantités de pesticide préalablement adsorbées avant que ne débute la désorption. Dans ces conditions l'équation de Freundlich devient :

$$(Q_{ads}0 - Q_{ads}) = Kfd.(Ce0 - Ce)^{nfd}$$

où : Q_{ads} = quantité de produit adsorbé à l'instant t
$Q_{ads}0$ = quantité de produit initialement adsorbée
Kfd = constante qui traduit la capacité de désorption du pesticide
nfd = intensité de la désorption
Ce0 = concentration à l'équilibre avant que ne débute la désorption.

À partir des paramètres précédemment calculés, certains auteurs ont établi un coefficient d'hystérésis H qui qualifie la réversibilité de la rétention : H = nf/nfd (Calvet, 1989) ou H = [(1/nf)/(1/nfd) – 1].100 (Gao et *al.*, 1998). Ce type de coefficient est cependant très peu utilisé.

Tout comme pour l'adsorption, la signification des constantes de désorption doit être considérée avec discernement. Par exemple, le pesticide présent dans le sol sous conditions naturelles est sujet à des cycles d'humidité et de sécheresse qui le rendent difficilement désorbable, tandis que les paramètres de caractérisation sont obtenus sur des suspensions de sol constamment saturées en eau. Aussi, les constantes qui caractérisent le système pesticide-sol en conditions naturelles évoluent avec le temps et sont très différentes de celles obtenues en laboratoire (Graham-Bryce, 1981).

1.3. Les facteurs intervenant dans l'adsorption

1.3.1. Les adsorbants minéraux

Du point de vue pondéral, les argiles constituent les adsorbants minéraux les plus importants. Elles se caractérisent par l'importance de leur surface réactionnelle due à leur structure en feuillets et leurs propriétés d'échange ionique (Fusi, 1991). Elles jouent un rôle certain dans l'adsorption, en particulier pour les composés polaires et/ou si la teneur en matière organique du sol est faible (Hermosin *et al.*, 2000 ; Roy et Krapac, 1994). Le processus d'adsorption diffère selon le type de structure argileuse qui définit leur capacité à se dilater et leur surface réactive (White, 1976). Cependant, la nature des cations compensateurs présents à la surface des argiles peut intervenir, soit en compétition avec les molécules organiques pour les sites d'adsorption, soit en étant eux-mêmes des sites d'adsorption pour les molécules du pesticide (Calvet, 1989).

Les oxydes et les hydroxydes de fer et d'aluminium cristallisés, porteurs de charges positives, peuvent également jouer un rôle important dans l'adsorption, en particulier pour les pesticides de type « acides faibles » (de Amarante *et al.*, 2003).

1.3.2. Les adsorbants organiques

La matière organique contenue dans les sols est considérée comme le principal adsorbant (Pignatello, 1998 ; Gawlik *et al.*, 2003) et une corrélation positive existe le plus souvent entre l'adsorption et la teneur en matière organique des sols, du moins pour les molécules neutres (Patakioutas et Albanis, 2002). Cette corrélation justifie la normalisation des coefficients d'adsorption en fonction de la teneur en carbone organique (Koc). La matière organique des sols est formée par une large variété de composés, habituellement classés en deux catégories : les substances non humiques et les substances humiques.

Les substances non humiques comprennent des composés en cours de transformation (humification), d'origine végétale et animale. La plupart de ces composés ont un temps de résidence relativement court dans le sol dans la mesure où ils peuvent être facilement dégradés par les micro-organismes (Stevenson, 1972). La participation de ces substances à la rétention des pesticides est variable et non négligeable, en particulier pour un produit comme la lignine (Benoit, 1994).

À l'opposé, les substances humiques sont des macromolécules de haut poids moléculaire, dont une partie est formée par polymérisation de substances monomériques issues des végétaux transformés dans le sol (phénols, quinones). La structure et les propriétés des composés humiques sont mal connues (Koskinen et Harper, 1990). Une molécule d'acide humique peut cependant être considérée comme une entité chimique complexe, comportant des parties aromatiques et d'autres aliphatiques. Les chaînes aliphatiques sont porteuses de nombreux groupements fonctionnels réactifs C=O, NH_2, COOH et OH (Stevenson, 1972). Bien que la structure des acides humiques dans un sol donné varie largement, la plupart de ces molécules sont susceptibles de contenir les mêmes unités de base et les mêmes types de groupements réactifs. Les particularités communes à l'ensemble des substances humiques sont leur résistance à la dégradation microbienne, leur capacité à former des complexes solubles ou insolubles dans l'eau, leur aptitude à réagir avec des minéraux et des composés organiques hydrophobes. En relation avec les groupements fonctionnels et les sites apolaires dont elles sont pourvues, les substances humiques jouent un rôle majeur dans l'adsorption des produits phytosanitaires (Piccolo *et al.*, 1996).

Étant donné la diversité des matières organiques, les résidus pesticides peuvent être liés à des substances humiques insolubles de poids moléculaire élevé mais également à des substances humiques solubles dans l'eau et de faible poids moléculaire. Cette adsorption aura des conséquences sur la mobilité des pesticides, en particulier pour ceux qui sont peu solubles dans l'eau (Scheunert *et al.*, 1991).

1.3.3. Les complexes organo-minéraux

Les constituants organiques et minéraux dans le sol sont intimement associés et forment des complexes organo-minéraux. Leur association modifie leur configuration tridimensionnelle respective et influe sur leurs propriétés d'adsorption.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Les capacités d'adsorption du complexe argilo-humique diffèrent de celles de ses constituants et sont considérablement plus faibles (Celis *et al.*, 1999). Dans la formation du complexe, il n'y a pas additivité des propriétés des deux constituants (Piccolo *et al.*, 1996) mais blocage de certains sites d'adsorption (Fernandez *et al.*, 2002).

1.3.4. Les propriétés physicochimiques du pesticide

Les pesticides regroupent une grande diversité de structures chimiques et chaque molécule constitue une entité qui se caractérise par un ensemble de propriétés bien spécifiques (taille moléculaire, encombrement stérique, basicité ou acidité, constante de dissociation, coefficient de partage octanol-eau, solubilité dans l'eau, tension de vapeur) qui vont conditionner sa réactivité à l'égard des constituants du sol (Koskinen et Harper, 1990). Aussi, l'adsorption d'un pesticide dans un sol constitue toujours une situation particulière, déterminée par les propriétés spécifiques des deux composantes : le pesticide et le sol. Il en résulte une difficulté à préjuger de la rétention d'une molécule par un sol, même à l'intérieur d'une famille chimique donnée.

Pour les composés de type acide ou base faible, le pK (ou constante de dissociation) est la principale caractéristique à considérer dans un processus de rétention. En milieu acide, les bases faibles prédominent sous la forme protonée, tandis que les acides faibles sont sous forme non dissociée. Cependant, dans la zone de pH fréquemment rencontrée dans les sols agricoles (5 à 8), les molécules pesticides à caractère acide faible sont sous la forme anionique et les molécules à caractère base faible ne sont que très partiellement protonées (Calvet, 1989).

Du fait de leur diversité chimique, la solubilité des pesticides dans l'eau est très variable. Elle va de la quasi-insolubilité (trifluraline : 0,22 $mg.L^{-1}$) à une grande solubilité (glyphosate : 11 600 $mg.L^{-1}$). Même si les données de la littérature concernant l'influence de la solubilité dans l'eau des pesticides sur leur adsorption sont contradictoires, il semble qu'une relation puisse être établie au sein d'une même famille chimique de composés (Bailey et White, 1970). Le caractère hydrophobe d'un pesticide augmente lorsque sa solubilité dans l'eau diminue et il en résulte une rétention plus intense par la matière organique du sol.

La polarité dépend de la répartition des électrons au sein de la structure moléculaire. Le moment dipolaire et la constante diélectrique qui la caractérisent donnent une mesure de l'influence de la polarité sur l'adsorption. En effet, la force d'attraction entre la molécule adsorbée et une surface argileuse est directement proportionnelle à son moment dipolaire et inversement proportionnelle à sa constante diélectrique. La polarité influence également le degré de solvatation de la molécule en solution et donc l'énergie totale impliquée dans son adsorption.

La facilité avec laquelle le nuage électronique d'une molécule se déforme dans un champ électrique définit sa capacité à se polariser (Calvet, 1989). Cette capacité dépend de la mobilité des électrons de valence et du pouvoir de polarisabilité

des cations échangeables du sol. Plus un cation a un pouvoir de polarisabilité élevé et plus l'adsorption sera importante (Bailey et White, 1970).

Enfin, la taille de la molécule va avoir un effet sur l'adsorption par le volume et la surface moléculaire qui lui sont associés. Le volume aura une influence en particulier sur la capacité des produits organiques à être adsorbés sur les surfaces internes des minéraux.

Lorsqu'on examine l'adsorption d'un composé, les caractéristiques de la molécule pesticide ne doivent pas être considérées de manière individuelle, car elles interagissent simultanément. Ainsi, la nature des atomes constitutifs et les groupements fonctionnels déterminent la structure électronique, la polarité mais également la valeur de la constante d'ionisation, la capacité d'une molécule à former des liaisons inter et intramoléculaires et sa solubilité.

1.4. Influence des facteurs du milieu sur l'adsorption

Comme tout processus, l'adsorption est influencée par différents facteurs du milieu. Parmi ceux-ci, le pH joue un rôle prédominant. Un changement du pH peut modifier la charge nette de pesticides anioniques et/ou des constituants du sol et modifier les interactions à l'origine de l'adsorption (de Jonge et de Jonge, 1999) tant pour les composés ioniques que neutres. Son influence dépend donc des propriétés physicochimiques des molécules et des constituants du sol. Toutefois, Calvet (1989) propose de généraliser l'effet du pH sur le phénomène d'adsorption suivant la représentation donnée par la figure 1.

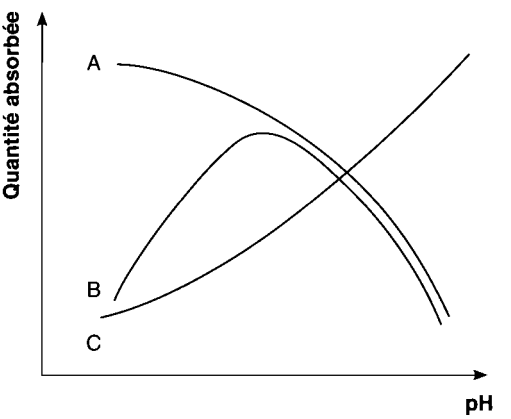


Figure 1 ■ Variations possibles des quantités de pesticide adsorbées en fonction du pH (d'après Calvet, 1989).

L'effet sur l'adsorption représenté par la courbe de type A peut être rencontré dans trois cas :

– adsorption de bases faibles (s-triazines) sur des adsorbants chargés négativement (montmorillonites). Une diminution du pH provoque une augmentation de

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

la proportion de molécules protonées favorisant ainsi une adsorption par échange cationique ;

– adsorption d'acides faibles (acides phénoxyacétiques) en tant que molécules neutres sur des adsorbants chargés négativement. Dans ce cas, la quantité de molécules neutres augmente lorsque le pH décroît. Il en résulte une augmentation de l'adsorption ;

– adsorption de molécules neutres sur des adsorbants dont les propriétés de surface sont modifiées par le milieu acide.

L'effet sur l'adsorption représenté par la courbe de type B est généralement observé pour des bases faibles. Le pH correspondant au maximum d'adsorption est parfois pratiquement égal au pKa de la molécule. L'auteur attribue ce comportement à une compétition pour les sites d'adsorption entre les molécules protonées et les ions H^+ et/ou Al^{3+} ou encore à la répulsion des molécules protonées.

L'effet sur l'adsorption représenté par la courbe de type C correspond à une augmentation de l'adsorption avec une augmentation du pH. Elle est observée pour des bases faibles qui sont essentiellement adsorbées en tant que molécules neutres.

La teneur en eau du sol et les solutés présents jouent également un rôle important dans la rétention des pesticides. L'eau peut se comporter comme un solvant pour le pesticide mais également constituer un soluté pour certains sites d'adsorption (Calvet, 1989). De plus, les nombreux composés dissous qu'elle contient peuvent affecter le processus d'adsorption en entrant en compétition avec les molécules pesticides pour les sites d'adsorption. Par ailleurs, les cations prédominants dans la solution du sol peuvent être impliqués dans des mécanismes d'adsorption, notamment par formation de ponts cationiques.

D'une manière générale, les composés organiques hydrophobes et les ions peu hydratés ont tendance à avoir une plus grande affinité pour l'adsorbant que pour la solution du sol.

La rétention d'un pesticide peut également être fonction de sa concentration dans la solution du sol. C'est par exemple le cas d'un grand nombre de molécules neutres ou de bases faibles comme les s-triazines dont la quantité adsorbée diminue lorsque la concentration à l'équilibre augmente.

Enfin, l'adsorption d'un composé peut être influencée par la température dont l'effet diffère suivant les liaisons mises en jeu. Les quantités adsorbées diminuent quand la température augmente si les forces impliquées sont de nature physique et inversement si elles sont de nature chimique (Calvet *et al.*, 1980). Cependant, l'adsorption de composés neutres semble indépendante de la température.

1.5. Les types d'interactions

La nature des interactions pesticides-sol est presque toujours décrite en terme d'hypothèses car les adsorbants mis en jeu sont complexes et les résultats obtenus par les méthodes classiques d'étude ne sont pas aisément interprétables. Du fait de la diversité des caractéristiques physicochimiques des pesticides et des constituants

du sol, les interactions responsables de l'adsorption à la surface du complexe argilo-humique peuvent être de nature très différente et l'importance relative de chacune d'elles est le plus souvent impossible à déterminer. Néanmoins, selon Calvet *et al.* (1980) il est possible d'établir deux catégories d'interactions : celles de forte énergie (supérieur à 20 kcal.mol^{-1}) comportant les liaisons de coordination, par échange de ligands et ioniques et celles de faible énergie (inférieur à 20 kcal.mol^{-1}) comportant les interactions par transfert de charge, hydrogène, London-van der Waals, hydrophobes, dipôle-dipôle.

2. *La dégradation*

La dissipation des produits phytosanitaires apportés lors d'un traitement peut avoir plusieurs origines : absorption par les plantes, volatilisation, ruissellement, lessivage, stabilisation (formation de résidus non extractibles). Toutefois, seule la dégradation constitue le processus qui conduit à la disparition réelle de la matière active, soit par transformation partielle, soit par transformation totale de la molécule d'origine en composés minéraux tels que CO_2, H_2O, NO_3^- (Yaduraju, 1994).

Indépendamment du type de mécanisme mis en jeu, l'intensité de ce phénomène présente un intérêt à la fois agronomique et environnemental. En agronomie, la dégradation constitue un processus qui définit pour partie la persistance du produit et donc sa durée d'action biocide ou de contrôle des cibles visées. Du point de vue environnemental, la dégradation doit être considérée en prenant en compte les voies métaboliques. Lorsqu'elle est rapide et totale (minéralisation), elle contribue à la réduction du risque de dispersion de la matière active ou de ses métabolites. Lorsqu'elle est partielle et/ou lente, on peut aboutir à une diversification des produits de transformation et de la pollution du milieu (Schiavon, 1998).

Il est extrêmement difficile d'établir la vitesse de dégradation d'une matière active en conditions naturelles, car dès qu'elle atteint le sol, elle est également soumise à des processus de transfert et de stabilisation. Par ailleurs, l'intensité des transformations est très dépendante des caractéristiques biologiques et physico-chimiques du milieu et des conditions climatiques ambiantes. (Houot *et al.*, 2000 ; Yaduraju, 1994). Enfin, il est tout aussi difficile de cerner la part qui revient aux transformations abiotiques et à la dégradation biologique, étant donné que les deux processus peuvent intervenir simultanément (Barriuso *et al.*, 2000a).

2.1. La dégradation abiotique

Ce type de dégradation, d'origine chimique et/ou photochimique est le plus souvent considéré comme mineur. Cependant, nombreux sont les travaux soulignant l'importance de ces voies de dégradation (Ristori et Fusi, 1995).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

2.1.1. La dégradation chimique

La dégradation chimique peut intervenir dans la solution du sol où l'hydrolyse, acide ou basique, est la réaction la plus fréquente. Elle conduit le plus souvent à des produits intermédiaires polaires et donc plus hydrosolubles que le composé parent. Mais il est démontré que les processus réactionnels sont généralement catalysés au niveau des surfaces des constituants du sol : argiles, matières organiques et oxydes métalliques (Senesi, 1993). Au-delà du processus d'hydrolyse, d'autres réactions peuvent intervenir telles que l'oxydation par l'intermédiaire de radicaux libres des constituants du sol, la déhalogénation initiée par de nombreux nucléophiles, et les réarrangements qui concernent certains composés comme le parathion. Les processus réactionnels dépendent de la nature de la matière active considérée, de son état d'ionisation, de la nature de l'interface et des conditions de milieu.

Le rôle des acides humiques dans la transformation abiotique des pesticides est moins étudié que celui des argiles. Toutefois, concernant l'atrazine par exemple, il a été démontré que l'hydrolyse augmente avec la teneur en acides humiques ou fulviques présents dans le milieu (Armstrong, 1968) alors que pour d'autres produits, ceux-ci pourraient jouer un rôle protecteur (Mietinnen *et al.*, 1993).

Pour les argiles, leur intervention ou non dans la catalyse de la dégradation d'une molécule dépend de leur nature minéralogique, tandis que la nature des produits formés peut varier, pour une argile donnée, en fonction du cation ou du métal de transition impliqué dans l'adsorption (Fusi, 1991 ; Fusi *et al.*, 1993).

L'impact des facteurs relatifs au milieu sur la dégradation chimique est considérable. Les paramètres généralement considérés dans la littérature sont le pH, l'humidité et dans une moindre mesure la température.

Hormis son influence sur l'état d'ionisation de la matière active, le pH agit sur les processus de dégradation et notamment l'hydrolyse, dont le mécanisme peut être différent selon que le milieu est acide ou basique (Hequet *et al.*, 1995).

Le contenu en eau du sol est également une caractéristique importante qui intervient de manière parfois contradictoire. En effet, dans certains cas les molécules d'eau se comportent en catalyseur de l'hydrolyse abiotique, notamment lorsqu'elles sont sous forme hautement polarisée à la surface d'un oxyde. Dans d'autres cas, elles sont en compétition pour les sites d'adsorption avec les matières actives ou servent en même temps de site d'adsorption par l'intermédiaire d'un pont eau (Wolfe, 1990).

Enfin, la température semble également avoir un impact sur le processus d'hydrolyse qui est favorisé lorsque cette dernière augmente (Taylor *et al.*, 1995).

De l'examen des nombreux travaux réalisés, on ne peut pas dégager de règle générale, ni pour ce qui concerne le comportement d'une famille de produits donnés à l'égard des argiles ou des matières organiques, ni pour ce qui concerne les interactions de ces constituants à l'égard d'un produit d'une famille chimique donnée. Au-delà de cette observation, on remarquera que la mise en évidence de la dégradation abiotique fait appel à des modèles expérimentaux simples et à des conditions

de milieu particulières. Dans ce contexte, il faut s'interroger sur la signification de ces réactions dans le sol en conditions naturelles.

2.1.2. La photodégradation

Certains auteurs ont montré que les radiations solaires sont directement responsables de la dégradation photolytique et thermique des pesticides, car la lumière et la chaleur agissent de manière concomitante (Somasundaram et Coats, 1990). La photodégradation peut être extrêmement significative à la surface des plantes, des débris végétaux, dans l'eau, dans l'atmosphère et même à la surface du sol (Chesters *et al.*, 1989). Les réactions mises en jeu dans la photodégradation conduisent aux mêmes produits que la dégradation chimique. Elles peuvent être consécutives à l'absorption directe de la lumière par la matière active ou impliquer, dans l'absorption de l'énergie lumineuse, des substances qui agissent comme des photo-sensibilisateurs (Cui *et al.*, 2002). Ainsi, les acides humiques peuvent absorber fortement la lumière et réagir soit en accélérant, soit même en induisant la dégradation de molécules photo-chimiquement stables. Mais ils peuvent également par un effet d'extinction inhiber les réactions (Senesi, 1993).

Même si de nombreux auteurs estiment que la dégradation par voie abiotique ne contribue pas de manière significative à la dissipation des pesticides appliqués au sol (Parochetti, 1978), elle interfère sur l'activité des micro-organismes qui peuvent se trouver confrontés à la dégradation de nouvelles molécules, parfois plus stables que la molécule mère.

En définitive, si le relais par la biodégradation n'est pas assuré, la dégradation abiotique ne contribue le plus souvent qu'à la perte du pouvoir biocide spécifique de la matière active et à l'introduction dans le milieu de nouvelles structures chimiques.

2.2. La dégradation biologique

L'activité microbienne des sols ne semble pas être affectée de manière drastique par les apports de pesticides aux doses préconisées. Cependant, des interactions entre ces produits chimiques et les micro-organismes sont susceptibles, soit de diminuer, soit d'augmenter leurs capacités dégradantes. Malgré ces perturbations possibles, pour la plupart des auteurs, la dégradation des pesticides dans les sols est réalisée essentiellement par des processus impliquant les micro-organismes ; ce qui confère au sol un pouvoir de détoxication particulièrement élevé (Pons et Barriuso, 1998).

2.2.1. Importance et diversité des micro-organismes

La dégradation des pesticides présents dans le sol est le fait de micro-organismes de toutes sortes (actinomycètes, bactéries, champignons). La plupart du temps elle n'est possible que grâce à la complémentarité enzymatique de plusieurs souches microbiennes qui individuellement sont incapables d'utiliser le produit comme

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

source nutritive. Aussi, du fait de leur diversité et de leur complémentarité, les espèces dégradantes ont un rôle fonctionnel important, permettant d'assurer une certaine permanence de la dégradation biologique des pesticides quelles que soient les structures chimiques et les conditions de milieu. Cependant, l'efficacité de la dégradation varie avec les espèces microbiennes dans des proportions très importantes (Soulas, 1991). Même si les champignons ou les actinomycètes peuvent être très efficaces dans la dégradation de certaines structures chimiques, on peut considérer que les bactéries ont une plus grande faculté d'adaptation dans le catabolisme des pesticides malgré des disparités entre les espèces (Soulas, 1993). De plus, la possibilité d'un échange de matériel génétique entre souches appartenant à des genres différents impliquées dans le processus de dégradation, conduit à l'émergence de nouvelles souches dégradantes (Rousseaux, 2001).

2.2.2. Les principaux types de dégradation biologique

Une dégradation naturelle et spontanée des produits phytosanitaires est extrêmement rare, car ces produits représentent des structures moléculaires inconnues pour les micro-organismes. Aussi, la cinétique de disparition par voie biologique d'un pesticide dans le sol débute presque toujours par une période de latence, plus ou moins longue, au cours de laquelle la dégradation est pratiquement nulle. Elle correspond, soit à une adaptation des micro-organismes au nouveau substrat (induction enzymatique), soit à une multiplication de populations capables de le dégrader. À cette première étape fait suite la dégradation proprement dite, au cours de laquelle les micro-organismes peuvent mobiliser un ensemble d'enzymes leur permettant de transformer le pesticide jusqu'à sa minéralisation et de l'utiliser comme source nutritive : on dit alors que la dégradation se fait par métabolisme. Mais les micro-organismes peuvent également établir un processus de type coopératif, découplé du phénomène de croissance. La matière active ne constitue plus une source d'énergie et/ou de carbone. Ces besoins seront assurés par des composés organiques du sol appelés co-substrat. On parle de dégradation par co-métabolisme. Dans ce cas, la souche microbienne, considérée individuellement, ne contribue que partiellement à la dégradation du produit en mettant en œuvre des enzymes à faible spécificité (métabolisme « gratuit » ou « fortuit »). Les micro-organismes qui procèdent par co-métabolisme convertissent les pesticides en divers composés organiques qui s'accumulent plus ou moins dans le sol ; notamment lorsqu'il manque une souche intermédiaire dans la chaîne des transformations.

Ces deux voies de dégradation peuvent coexister. Elles sont catalysées par des enzymes microbiennes constitutives ou adaptatives dont la production est induite par la présence du pesticide. La dégradation biologique d'un pesticide n'est pas nécessairement endocellulaire ; elle peut être assurée par des enzymes excrétées dans le sol dont l'activité persiste longtemps après la mort des cellules. Ceci donne au sol une capacité catalytique biochimique variée et considérable.

La dégradation par métabolisme est connue depuis très longtemps pour les herbicides à activité hormonale (Audus, 1949). Elle est rapide et complète mais ne

concerne qu'un nombre limité de pesticides. Elle est assurée par des souches microbiennes qui disposent d'une diversité d'enzymes suffisante pour dégrader la molécule, qui s'adaptent rapidement et dont la taille de leur population augmente dans le milieu. Une accélération progressive de la dégradation du pesticide peut survenir à la suite de son application répétée. Ce phénomène est couramment désigné par l'expression « biodégradation accélérée » (Yassir *et al.*, 1999). Une fois que la flore est adaptée à une forme de dégradation, elle conserve cette adaptation pour des mois, voire des années. Cette capacité est maintenue en raison de la présence dans le sol de composés organiques qui sont les substrats usuels du système enzymatique et ce dernier reconnaît le pesticide comme substrat de substitution (Soulas, 1999).

La dégradation par co-métabolisme concerne la majorité des produits. Le maintien de cette activité, ainsi que le maintien d'une certaine croissance, suppose que les espèces dégradantes trouvent dans le milieu un substrat nutritif appelé co-substrat. Sa nature chimique peut être extrêmement variée. Il s'agit généralement de composés organiques ou minéraux simples tels que les hydrates de carbone pourvus par la matière organique des sols ou d'analogues structuraux du pesticide. Des amendements organiques à base de résidus de culture, de fumier ou de boues peuvent participer à la fourniture de co-substrat (Deuet *et al.*, 1995) et ainsi accélérer la dégradation (Soulas, 1999). De même, le micro-habitat situé autour des racines ou rhizosphère est propice au développement bactérien par la production d'exsudats racinaires. Ces sols rhizosphériques ont montré une grande capacité à dégrader les pesticides (Anderson, 1994).

2.2.3. Les facteurs intervenant sur la biodégradation

Tout facteur favorable au développement des micro-organismes contribuera à une dégradation plus rapide des pesticides. Dans ce contexte, les variables qui déterminent la vitesse et les voies de dégradation d'un pesticide dans le sol sont multiples.

La structure chimique du pesticide et, par voie de conséquence, ses propriétés physicochimiques, sont largement responsables de son devenir après application. Elles déterminent en particulier sa toxicité intrinsèque (activité d'un pesticide contre les cellules ou les enzymes capables de le dégrader), sa valeur nutritive pour les micro-organismes, l'énergie nécessaire pour rompre les liaisons et donc sa biodégradabilité (Anderson, 1994).

Les relations structure-biodégradabilité sont d'une manière générale mal connues, excepté pour certaines catégories de pesticides comme par exemple les acides phénoxyacétiques (Anderson, 1994). En effet, très souvent, à l'intérieur d'une même famille chimique les pesticides ne sont pas dégradés avec la même intensité. De petites modifications au niveau structural peuvent provoquer des changements significatifs ou même drastiques dans les taux de biodégradation. Mais, bien que certains pesticides puissent persister jusqu'à plusieurs années dans le milieu, aucun n'est absolument stable (Henriet, 1979).

Toutefois, pour être dégradé, un pesticide doit être biodisponible. En effet, lorsqu'un pesticide est adsorbé, il est indisponible pour la biodégradation (Yaduraju,

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1994). Cependant, dans ce cas, la dégradation chimique peut se substituer à la dégradation biologique. Selon Anderson (1994), le taux de biodégradation d'un pesticide est influencé par la mobilité de la matière active et la quantité d'eau disponible dans le sol, car tous deux ont pour conséquence d'augmenter la probabilité de contact entre le produit chimique et les enzymes ou les micro-organismes capables de le dégrader

La concentration en pesticide dans le milieu n'est pas sans influence. Un produit peut être métabolisé à une concentration et co-métabolisé à une autre (Novick et Alexander, 1985). Mais la concentration peut également influer sur la cinétique de dégradation. Elle peut être directement proportionnelle à la concentration jusqu'à une certaine valeur et indépendante au-delà. Enfin, lorsque les teneurs en pesticides dans la solution du sol sont trop élevées, il arrive que la matière active ne soit pas dégradée, notamment dans le cas de molécules intrinsèquement toxiques qui dénaturent les enzymes ou les micro-organismes dégradants. Dans ce cas, la dégradation ne reprendra que lorsque les concentrations auront atteint un niveau tolérable, suite à une dilution, à une diffusion en dehors de la cellule microbienne ou par inactivation par l'intermédiaire du phénomène d'adsorption (Anderson, 1994).

En raison de l'interaction de multiples paramètres, la mise en évidence de l'effet du type de sol sur la biodégradation d'un pesticide n'est pas aisée (Yaron, 1989). D'une manière générale, le processus de biodégradation est plus intense dans un sol lourd (riche en argiles) que dans un sol léger, ce dernier étant généralement doté d'un pH acide et d'une activité microbienne plus faible. Certaines études ont montré qu'une augmentation du taux d'argiles et/ou de matières organiques, par son action sur la structure, la porosité, l'aération, la rétention de l'eau et l'accessibilité du produit, pouvait accroître les phénomènes de dégradation et même en déterminer le mécanisme impliqué (Yaduraju, 1994). Mais d'autres auteurs insistent sur le rôle contradictoire joué par le taux d'argiles et/ou de matières organiques. Aussi, il est admis que les pesticides sont plus persistants lorsque le contenu en argile et en matière organique augmente, en raison d'une plus forte adsorption qui ralentit la biodégradation. En fait, la biodégradation dépend de l'équilibre entre l'effet du pH qui influe sur la taille et la diversité des populations microbiennes et celui des teneurs en argile et matière organique dont dépendent pour partie la rétention et la biodisponibilité.

D'une manière générale, un pH proche de la neutralité est favorable à la dégradation microbienne des molécules neutres (Pieuchot *et al.*, 1996) ; cependant, son effet est complexe. Selon la matière active, le pH peut augmenter ou diminuer le taux de dégradation par voie abiotique. Il a été montré que des herbicides comme la simazine ou l'atrazine sont dégradés plus rapidement dans un sol à pH acide alors que pour d'autres, telle que la métribuzine, on observe une diminution de la dégradation, voire une stabilisation pour un produit comme la napropamide (Walker et Allen, 1984). Somasundaram et Coats (1990), notent qu'une faible variation d'acidité à partir de la neutralité peut entraîner une décomposition rapide des composés sensibles au pH.

Outre les différents facteurs examinés, les deux variables environnementales que sont la température et l'humidité affectent également, à la fois l'activité microbienne des sols et la dégradation abiotique. Pour certains auteurs, la température et l'humidité n'agissent pas de façon indépendante. Ils soulignent qu'une augmentation de la température s'accompagne généralement d'une diminution de la teneur en eau (Walker, 1987). La limitation d'un des deux facteurs entraîne une diminution de la dégradation.

La teneur en eau du sol est un paramètre essentiel au maintien de l'activité dégradante microbienne. Elle agit comme un solvant des pesticides et un transporteur des éléments nutritifs à l'intérieur des cellules (Soulas, 1999). Une augmentation du contenu en eau d'un sol traité entraîne le plus souvent une augmentation de la dégradation du pesticide. Ainsi, la demi-vie dans un sol à 6 % d'humidité est deux à quatre fois plus longue qu'à 15 % d'humidité. Toutefois, ce phénomène n'intervient que jusqu'à un certain niveau au-dessus duquel le contenu en eau du sol ralentit, voire inhibe totalement, la dégradation de la matière active. En occupant l'espace poral, l'eau peut restreindre le renouvellement de l'oxygène de l'atmosphère du sol, créant ainsi des conditions de milieu anaérobie défavorables à la dégradation d'un grand nombre de pesticides.

Mis à part quelques exceptions, la température a plus de conséquences sur le phénomène de dégradation que l'humidité. Une augmentation de la température de 10 °C réduit couramment la demi-vie d'une matière active de 50 %. Cependant, au-delà d'une certaine température, le processus favorisant la dégradation laisse place à une activité de dénaturation enzymatique inhibant l'élimination du pesticide. Pons et Barriuso (1998) indiquent que, dans le cas des sulfonylurées, les processus de dégradation biotiques semblent plus fortement affectés par une diminution de la température que les processus abiotiques. Ceci peut expliquer l'existence de dégradations abiotiques lentes intervenant en conditions froides et sèches (Vouzounis et Americanos, 1992).

Cependant, on notera que, lorsque la température augmente, l'élimination des pesticides par dégradation chimique et volatilisation est accélérée. Dans ce cas, le pesticide est soustrait au phénomène de biodégradation.

3. *La dissipation*

La dissipation des produits phytosanitaires débute, *a priori*, dès leur application au sol. Deux processus fondamentaux, la dégradation et la dispersion, vont contribuer à la disparition du pesticide et définir sa persistance au point d'application.

La dégradation assure, comme nous l'avons vu, la transformation de la molécule initiale d'une manière plus ou moins prononcée, tandis que la dispersion va entraîner le produit et éventuellement ses dérivés hors du point d'application ou du volume de sol dans lequel il est recherché.

Toutefois, la dynamique de dissipation d'un produit en un point donné est généralement évaluée de manière indirecte, par le dosage des résidus extraits du

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

sol au cours du temps qui suit l'application. Ainsi apparaît un autre processus susceptible d'affecter la notion de dissipation : la formation de résidus non extractibles, qui diminue la disponibilité à l'extraction.

L'appréciation de la dissipation par la mesure de la persistance ou de la demi-vie de dissipation, revêt le plus grand intérêt tant du point de vue agronomique qu'environnemental (durée de l'activité biocide, quantité de produit disponible à la dispersion). Elle ne constitue cependant qu'une valeur très approximative et surtout variable en fonction de la méthodologie analytique mise en œuvre et des conditions de milieu rencontrées. De plus, la mesure de la persistance ne renseigne en rien sur la dynamique et l'intensité de chacun des processus ayant contribué à la dissipation du produit.

Pour préciser l'importance relative de chacun des processus qui affecte la dissipation d'une molécule appliquée au sol, il faut opérer un changement d'échelle et passer de la parcelle, système ouvert où seule la persistance est mesurable, au modèle expérimental, souvent de laboratoire, plus ou moins complexe. Dans ce cas, l'utilisation de molécules marquées au ^{14}C et une expérimentation menée en conditions contrôlées permettent, non seulement de préciser la notion de persistance, mais également d'évaluer le rôle de l'un ou de chacun des processus mis en jeux. Mais la question se pose alors de l'extrapolation de ces valeurs aux conditions naturelles à l'échelle de la parcelle.

3.1. Dissipation par dispersion

Lors du traitement, le produit qui parvient au contact du sol est susceptible d'être soumis à des mouvements dont la mise en œuvre et l'ampleur vont dépendre de l'état du produit (adsorbé, libre, microcristallisé), de ses propriétés physiques (tension de vapeur, constante de Henry, solubilité dans l'eau, coefficient de partage octanol/eau) et des conditions climatiques (température, humidité du sol, mouvements de l'air, pluviosité). Ainsi, le produit peut migrer dans la solution du sol par diffusion, passer dans la phase gazeuse du sol ou dans l'air, être entraîné verticalement et/ou latéralement sous l'action des excédents d'eau. Tandis que le mouvement par diffusion contribue à « distribuer » le produit dans l'espace proche du point traité, la volatilisation et le transfert par convection ont une action le plus souvent néfaste : perte de produit hors de l'espace traité, contamination de l'air, de l'eau, de la profondeur du sol et de surfaces non soumises au traitement. La connaissance des mécanismes et de l'action des facteurs qui affectent ces deux voies de transfert est donc d'une importance capitale afin de préserver l'efficacité du traitement en même temps que la qualité de l'environnement dans son ensemble.

3.1.1. La volatilisation

La volatilisation des pesticides, définie comme un départ de produit à partir de la surface du sol en phase vapeur est un processus dont on a, depuis longtemps, tenté d'évaluer l'importance (Foy, 1964). Toutefois, peut-être en raison de la faible tension de vapeur de la majorité des produits, des méthodologies très critiquables

employées et des résultats contradictoires obtenus, cette voie de dispersion n'a pas retenu une particulière attention, même si dès 1965, Abbot *et al.* faisaient état d'une contamination des eaux de pluie par le lindane, la dieldrine et le DDT. C'est vraisemblablement la confirmation de ces résultats par des suivis ultérieurs, dont Bidleman (1999) donne un bref aperçu, qui a conduit au développement récent des recherches sur ce thème. Trois domaines de recherche ont simultanément progressé : la méthodologie d'étude, l'évaluation du phénomène y compris sous conditions « naturelles » et la connaissance des mécanismes élémentaires et des facteurs mis en jeu (Bedos *et al.*, 2002).

L'évaluation du phénomène de volatilisation était le plus souvent réalisée de manière indirecte par dosage des résidus après dépôt du produit sur un support de nature variée (métal, verre, sol) (Foy, 1964 ; Burt, 1974). L'évolution de la recherche a conduit à des modèles expérimentaux permettant l'étude du rôle des phénomènes élémentaires qui interviennent (adsorption/désorption, fugacité, partage sol-eau-air, diffusion moléculaire, convection) et des facteurs qui les affectent (tension de vapeur, constante de Henry, propriétés adsorbantes du sol, état d'humidité, température, circulation de l'air) (Jaunky, 2000), ainsi qu'à des mesures de la volatilisation dans des conditions « naturelles » qui intègrent l'action de l'ensemble de ces paramètres (Cliath *et al.*, 1980 ; Glotfelty *et al.*, 1984 ; Cooper *et al.*, 1990).

Les travaux menés montrent que pour certains produits, la volatilisation peut constituer une voie importante de dissipation (tableau 1), en particulier à partir de sols humides, sous l'influence de l'évaporation de l'eau. Cependant, l'essentiel des travaux porte sur des produits à forte tension de vapeur (même si cette caractéristique n'est pas le facteur nécessairement dominant dans la volatilisation).

Tableau 1 ■ Volatilisation de la trifluraline en fonction du temps et dans différentes situations expérimentales (d'après Glotfelty *et al.*, 1984).

Mode d'application	**Quantité volatilisée (%)**	**Temps écoulé**
tension de vapeur : 1,1.10^{-4} mmHg à 25 °C		
Incorporation dans 0-2,5 cm	22	120 jours
Incorporation dans 0-7,5 cm	3,4	90 jours
Surface sol sec	2-25	50 heures
Surface sol humide	50	3-7,5 heures

Dans la mesure où les produits retrouvés dans l'air ou dans les précipitations ne sont pas nécessairement ceux manifestant une forte volatilité (Chevreuil *et al.*, 1996), on peut s'interroger sur le rôle de la volatilisation dans la contamination de l'atmosphère. Ainsi, la participation à la contamination de l'air des embruns observés lors des traitements et de l'érosion éolienne des sols secs traités doit être élucidée et évaluée.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

3.1.2. Transfert sous l'action des mouvements de l'eau

Même si le mouvement des particules de sol peut assurer le transfert de pesticides, l'eau constitue le principal vecteur du transport. Le mouvement de l'eau s'effectue de manière différente suivant qu'il a lieu dans la zone de sol saturée ou non saturée en eau. Dans la zone non saturée du sol, l'eau et les solutés s'écoulent verticalement (lixiviation, lessivage), alors que le mouvement est essentiellement latéral dans la zone saturée (nappe, surface d'un sol engorgé ou non perméable).

3.1.2.1. Lessivage-lixiviation

Selon la perméabilité du sol, la vitesse d'écoulement va être plus ou moins élevée, mais la densité de flux, liée à la perte de charge totale (gradient hydraulique) va également varier avec la teneur en eau du sol. La microporosité de l'espace intra-agrégat est généralement considérée comme homogène et le flux est alors qualifié de matriciel. Mais la majorité des sols n'est pas assimilable à des milieux homogènes et l'espace inter-agrégats, constitué de macropores (fissures, biopores), est le siège d'un autre type de transport : le flux préférentiel, mis en évidence depuis plus de 100 ans (Lawes *et al.*, 1882), mais longtemps négligé dans les études de modélisation et les expérimentations de laboratoire (Jury et Flühler, 1992).

Le flux préférentiel désigne le passage de l'eau dans le milieu poreux à travers des chemins privilégiés (Zehe et Fluhler, 2001). Il peut induire un transport rapide des solutés. Dans ces conditions, les processus d'adsorption, de diffusion et de dégradation, n'ont pas le temps d'intervenir, du moins de manière significative et les pesticides peuvent atteindre rapidement les couches profondes du sol, pauvres en matière organique et en micro-organismes où l'adsorption et la dégradation sont réduites (Miller *et al.*, 1997). Dans la mesure où le sol n'assure plus son rôle de « filtre », les risques de contamination des nappes sont alors élevés (Aderhold et Nordmeyer, 1995).

Le sol est un milieu hétérogène et l'équation de Richards n'est pas adaptée pour décrire l'écoulement de l'eau en son sein ; d'autres concepts doivent être utilisés.

Le sol peut être considéré comme un milieu poreux comportant deux continuums d'eau distincts mais connectés entre eux (figure 2) (Gerke et van Genuchten, 1993), l'un où l'eau est mobile et l'autre où l'eau est immobile (Addiscot, 1984 ; Tillmann *et al.*, 1991). Dans des conditions non saturées, la teneur en eau immobile a été évaluée à 25-40 % de la teneur en eau totale du sol (Gaudet *et al.*, 1977 ; Lennartz et Meyer-Windel, 1995).

Le mouvement des solutés dans l'eau immobile s'effectuerait exclusivement par diffusion tout comme les interactions entre les deux domaines. Le domaine de « l'eau immobile » peut ainsi constituer une source ou un puits de solutés vis-à-vis de l'eau mobile. Mais dans certains cas, l'eau immobile peut se révéler inaccessible à l'eau mobile. Les teneurs en solutés de l'eau mobile ne seront alors pas modifiées au cours de leur transfert car la diffusion entre les deux domaines ne peut intervenir (figure 3).

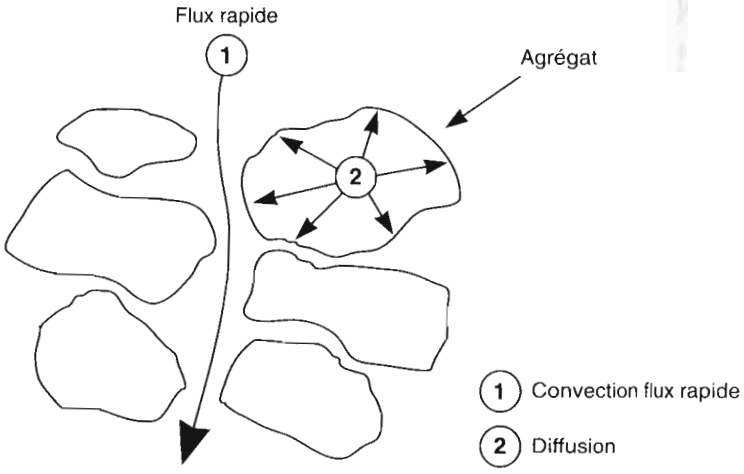


Figure 2 ■ Schéma du mouvement des solutés dans un sol structuré proche de la saturation, selon le concept d'eau mobile-immobile (d'après Green et Khan,1987).
(la flèche 1 représente le flux rapide de l'eau dans la macroporosité et la flèche 2, la diffusion lente des solutés vers l'extérieur de l'agrégat.)

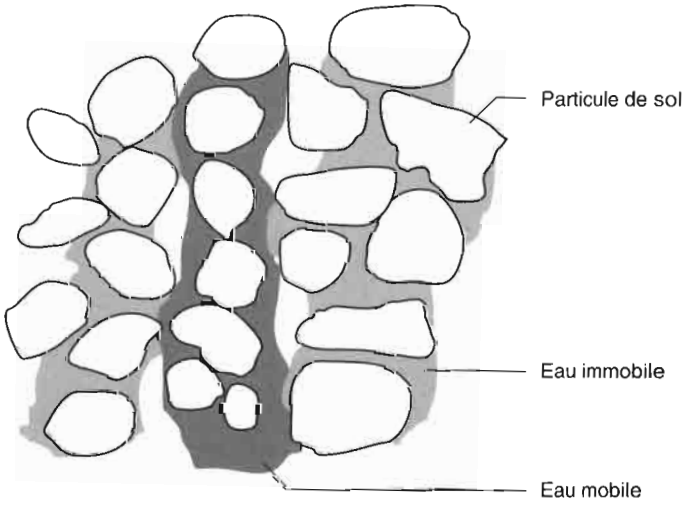


Figure 3 ■ Accessibilité de l'eau immobile en conditions de flux non saturé dans un sol sableux homogène (d'après Lennartz et Meyer-Windel, 1995).

À partir de ces concepts établis à l'aide d'expériences de laboratoire, la difficulté réside dans l'évaluation du transport qui résulte d'une interaction de processus au niveau de la parcelle.

Sur la base de ces observations concernant les mouvements de l'eau, on perçoit que deux facteurs sont primordiaux dans le déterminisme du transfert d'un pesticide : la pluviométrie et les caractéristiques structurales du sol.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

La pluviométrie doit être considérée sous différents aspects, à la fois dans son intensité et dans sa distribution dans le temps. La pluie non efficace par rapport à la mise en place de mouvements gravitaires favorisera la diffusion, notamment vers le compartiment « d'eau immobile ». Une part du produit sera alors soustraite au mouvement par convection. Ainsi, l'effet d'une pluie intense dépendra de son positionnement par rapport à d'autres événements pluvieux modérés (Guimont *et al.*, 2003).

Pour ce qui concerne la structure du sol, elle détermine la taille du compartiment « eau immobile ». Lorsqu'on envisage le mouvement d'un pesticide, on doit prendre en compte le fait que la taille de ce compartiment est influencée par des facteurs édaphiques mais aussi par les pratiques culturales. De plus, elle est en constante évolution. Ce dernier aspect semble particulièrement important, car au cours du temps, cette évolution tend à conférer au sol une porosité plus fine et plus homogène. Cela a pour conséquence de réduire le flux préférentiel et d'accroître le mouvement matriciel. Ceci pourrait expliquer en partie, les résultats obtenus sur sols drainés où, plus le délai séparant le traitement de la première pluie efficace au drainage est long, moins les quantités de résidus exportées sont fortes (Lafrance *et al.*, 1997 ; Novak *et al.*, 1998).

3.1.2.2. Le ruissellement

Lorsque l'intensité de la pluie est supérieure à la capacité d'infiltration, ou bien lorsque la capacité du sol à stocker l'eau est dépassée, il y a ruissellement d'eau à sa surface. À ce ruissellement de surface il faut ajouter le ruissellement hypodermique, qui se produit dans les premiers centimètres du sol ou dans l'ensemble de la couche de labour, lorsque la conductivité latérale est plus importante que la conductivité verticale. Ce ruissellement est associé à une pente et favorisé par une réduction de la porosité de l'horizon B situé sous la couche de labour. Dans bien des situations les différents types de ruissellement coexistent.

Le ruissellement peut affecter une grande diversité de sols, toutefois, il est peu probable sur des sols bien structurés reposant sur une roche mère filtrante (cas des rendzines sur calcaire karstique). Sa mise en place va dépendre des relations entre les conditions climatiques (pluviosité, gel-dégel) et les propriétés structurales du sol. Après un travail du sol, la couche de labour présente une structure fragmentaire favorable à l'infiltration (30-60 $mm.h^{-1}$). Sous l'action de la pluie (ou du gel), les agrégats se désagrègent et les éléments constitutifs se repositionnent et conduisent au colmatage, le sol s'affaisse avec perte de la macroporosité. La réorganisation des particules sur place ou après transport peut conduire à la formation d'une « croûte de battance » qui réduit considérablement la capacité d'infiltration de l'eau (Boiffin *et al.*, 1986).

La mise en place du ruissellement s'accompagne le plus souvent d'un phénomène d'érosion du sol. Les formes prises par l'érosion vont varier suivant l'organisation de l'eau à la surface du sol et l'énergie qu'elle acquiert (Mosimann *et al.*, 1991). Plusieurs tonnes de terre peuvent ainsi être transportées hors de la parcelle. L'importance du phénomène varie selon la pluie (intensité, durée), le sol (état de

surface, stabilité structurale, état d'humidité lié aux précipitations antérieures), la pente, la surface de la parcelle et le couvert végétal.

Dans ce contexte, le transport des pesticides par ruissellement peut se faire soit à l'état soluble, soit sous forme adsorbée aux particules de sol érodées. Si les pesticides mobilisés à partir des surfaces des végétaux traités parviennent dans les eaux de ruissellement sous forme soluble, par contre, la mobilisation de ceux présents à la surface du sol suppose la mise en œuvre de différents mécanismes (Ahuja et Lehman, 1983 ; Ahuja, 1986) : la désorption, la diffusion, la turbulence (qui favorise les échanges entre la solution du sol et l'eau mobile), la dissolution et l'érosion. L'épaisseur de sol affectée par ces mécanismes varie en fonction des caractéristiques du ruissellement (Lecomte, 1999).

Ainsi, les quantités de pesticide transférées dépendent de divers facteurs relatifs aux propriétés physicochimiques des produits et du sol (polarité, solubilité dans l'eau du pesticide, K_d, Kfd), mais également de la manière dont se développe le ruissellement (Klöppel *et al.*, 1994), elle-même dépendante des propriétés physiques du sol, du travail du sol, des caractéristiques de la pluviométrie et du couvert végétal. La plupart de ces paramètres sont évolutifs. Il est difficile de cerner à tout instant leurs interactions, et les dosages de résidus dans l'eau sous conditions naturelles à l'échelle de la parcelle n'en donnent que la résultante.

3.2. Dissipation par formation de résidus non extractibles

La notion de dissipation et le suivi de sa dynamique sont tributaires de l'échantillonnage et des capacités analytiques qui englobent la performance à l'extraction et la limite de quantification. Toutefois, par l'utilisation de pesticides marqués au ^{14}C, dès les années 70, il a été mis en évidence qu'une part de la radioactivité portée par le pesticide devenait progressivement non extractible. Naissait alors la notion de « résidus liés », définis en 1975 par l'US *Environmental Protection Agency* (EPA) de la manière suivante : « *Résidus de pesticides non extractibles par les solvants organiques, non identifiables chimiquement et qui restent dans le sol, après extraction exhaustive, au sein des fractions : acides fulviques, acides humiques et humine* » (www.epa.gov).

À l'heure actuelle, les chercheurs se sont accordés pour substituer à l'expression « résidus liés » celle de « résidus non extractibles » qui englobe les résidus véritablement liés aux constituants du sol par des liaisons stables et ceux que l'on peut supposer être retenus par des liaisons réversibles de faible énergie, mais qui, emprisonnés dans la matrice du sol, sont devenus non accessibles aux solvants d'extraction. Ainsi, il faut noter que les résultats de l'évaluation des résidus non extractibles peuvent varier suivant la procédure d'extraction adoptée.

Les travaux menés avec des produits de nature chimique diverse tendent à montrer que ce phénomène intéresse toutes les familles chimiques et plus généralement, tous les produits phytosanitaires (Schiavon *et al.*, 1978 ; Capriel *et al.*, 1985 ; Winkelman et Klaine, 1991). L'ampleur du phénomène dépend de la réactivité

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

chimique de la matière active et de ses produits de transformation (Scheunert *et al.*, 1985, 1991).

La formation de résidus non extractibles intervient très rapidement après application des produits au sol. Cependant, l'intensité du phénomène et sa dynamique dépendent de divers facteurs biologiques ou abiotiques : concentration en pesticide dans le milieu, température d'incubation, temps de contact pesticide-sol, activité biologique, teneur en matière organique du sol et conditions d'incubation (laboratoire ou plein champ) (Schiavon *et al.*, 1990).

La formation de résidus non extractibles dépend certes de l'activité biologique, mais des processus physicochimiques sont également impliqués (Ebing et Schuphan, 1979 ; Dakhel, 2001).

L'extraction des composés humiques par des réactifs alcalins, après épuisement du sol en résidus libres, montre qu'une part importante de la radioactivité portée par le pesticide se trouve associée aux différentes fractions de la matière organique : acides humiques, acides fulviques et humine (Barriuso *et al.*, 2000b). Toutefois, différents travaux ont montré que le pourcentage de résidus non extractibles associés à chacune des fractions de la matière organique évolue rapidement. Au cours du temps, on observe une diminution du pourcentage de résidus fixés sur les acides fulviques au profit de fractions plus humifiées (Schiavon *et al.*, 1978).

Si la plupart des travaux mettent en évidence le rôle majeur de la matière organique dans la formation de résidus non extractibles, d'autres ont montré que la fraction minérale peut également participer à ce processus. En effet, certains chercheurs émettent l'hypothèse d'une migration des pesticides dans les espaces interlamellaires des argiles gonflantes (Capriel *et al.*, 1985).

Dans une nouvelle définition, publiée en 1984, l'*International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC – www.iupac.org) considère que doivent être exclus de la fraction « résidus non extractibles » les fragments de molécule pesticide recyclés par des voies métaboliques et conduisant à des produits naturels. Or, l'évaluation de la radioactivité non extractible ne rend pas compte de l'importance de ces résidus ; elle indique simplement une limite maximale possible. Il est donc nécessaire d'identifier la part de cette radioactivité qui revient à la molécule mère et/ou à ses métabolites par rapport à la radioactivité mesurée. Différentes approches sont possibles : soit l'utilisation de techniques spectrométriques non destructives (Dec *et al.*, 1997a ; Benoit et Preston, 2000), soit la libération de ces résidus et leur identification (Khan, 1981 ; Andrea *et al.*, 1994 ; Loiseau et Barriuso, 2002), soit l'utilisation de modèles de synthèse de composés humiques où la réaction a lieu en présence du pesticide (Mathur et Morley, 1978).

La synthèse de modèles humiques en présence du pesticide ou de ses métabolites, permet d'examiner en conditions abiotiques, les possibilités d'incorporation des résidus en fonction de leur nature chimique. Grâce à cette approche, il a été possible de montrer que l'atrazine pouvait se lier d'une manière stable aux macromolécules humiques, mais le taux de formation de résidus liés est bien plus important pour ses métabolites chlorés alors qu'il est très réduit avec l'hydroxyatrazine (Andreux

et al., 1992). Ainsi, il semblerait que certains produits se lient aux constituants du sol de manière irréversible sans aucune transformation préalable, alors que d'autres doivent subir une dégradation qui les conduit à une forme plus réactive.

Les résidus liés contractent avec le complexe organo-minéral des liaisons dont la nature exacte reste hypothétique. Le fait que les résidus non extractibles résistent aux extractions par des solvants organiques ou par échanges d'ions, mais soient sensibles aux hydrolyses acides et alcalines, suggère à certains chercheurs l'existence d'une liaison de covalence. Pour d'autres, par contre, ces résidus ne seraient que très fortement adsorbés, dans la mesure où les hydrolyses acide ou alcaline conduisent à la libération de résidus significativement différentes (Saxena et Bartha, 1983).

Une autre hypothèse est également avancée. Ces résidus pourraient être, du moins pour partie, emprisonnés au sein du réseau tridimensionnel des macromolécules humiques. Ceci expliquerait les fortes libérations de résidus non extractibles induites simplement par des alternances de dessiccations et d'humectations qui sont à l'origine de réarrangements de la matière organique humifiée du sol (Schiavon *et al.*, 1990).

En fait, l'analyse de l'ensemble des travaux permet de penser que la formation de résidus non extractibles semble dépendre de processus différents suivant les espèces chimiques mises en jeu et les conditions de milieu. En effet, au sein de la fraction « résidus non extractibles » coexistent une partie stabilisée et une partie susceptible d'être libérée par l'intervention de phénomènes physiques ou biologiques (Khan et Ivarson, 1981 ; Schiavon *et al.*, 1990 ; Novak *et al.*, 1998). L'existence d'une possibilité de libération des résidus non extractibles constitue une préoccupation importante, en particulier par rapport à sa contribution à la pollution diffuse des eaux. Un travail considérable reste à faire pour identifier et quantifier ces résidus et les processus prédominants qui conditionnent leur formation et leur libération, probablement variables en fonction du produit phytosanitaire considéré.

À l'heure actuelle, nos connaissances bien qu'importantes sont fragmentaires. Pour quelques produits, nous disposons surtout d'informations portant sur leur dynamique de formation, alors que les aspects : nature, disponibilité et conséquences pour l'environnement sont bien moins claires.

3.3. Dissipation et prélèvement par les plantes

On peut considérer que les herbicides prélevés par les adventices retournent rapidement au sol, à l'état plus ou moins transformé, lors de la mort de celles-ci. Lorsqu'il s'agit des autres pesticides et des plantes cultivées, peu de travaux ont été entrepris en vue de quantifier le passage du pesticide du sol à la plante par voie racinaire. En conditions de terrain, le dosage de résidus d'atrazine dans les plantules de maïs et dans le sol montre que l'absorption réalisée par le maïs est de l'ordre de 10 % de la dose appliquée (Tasli, 1995). À partir des résidus présents dans la solution du sol, la plante serait capable d'exercer un effet de concentration consi-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

dérable, pouvant aller jusqu'à 12 fois la teneur en atrazine dans le milieu (Raveton *et al.*, 1997).

Des essais conduits à l'aide de modèles expérimentaux indiquent généralement des absorptions plus faibles. Ainsi, sur lysimètre, Schroll *et al.* (1992) observent un prélèvement par le maïs au cours de son cycle végétatif de seulement 0,41 % de la terbuthylazine appliquée. Lee *et al.* (1996) retrouvent 1,5 à 2,2 % de la bentazone appliquée dans la paille de riz et 0,012 % dans le grain au cours de l'année qui suit le traitement.

Les résultats présentés dans la littérature tendent à montrer que le prélèvement par la plante est conditionné par la disponibilité des résidus (concentration dans le sol), l'accessibilité (positionnement par rapport aux racines), la solubilité dans l'eau et les constituants lipidiques racinaires et par les paramètres qui définissent l'activité biologique de la plante (capacité d'absorption, température et humidité) (Scheunert et Parlar, 1992 ; Schroll *et al.*, 1992). Enfin, certains travaux montrent que les résidus non extractibles peuvent contribuer à l'alimentation en pesticides de la plante (Kloskowski *et al.*, 1992 ; Dec *et al.*, 1997b).

Conclusion

Différents processus, régulés par une grande diversité de facteurs, sont impliqués dans le devenir d'un pesticide appliqué au sol. Ces processus peuvent intervenir de manière indépendante, mais agissent le plus souvent de manière simultanée voire complémentaire. Dans ces conditions, il est extrêmement difficile de cerner, modéliser et généraliser le comportement des produits phytosanitaires dans les sols.

Références bibliographiques

Abbot D.C., Harrison R.B., Tatton O.G. (1965). Organochlorine pesticides in the atmospheric environment. *Nature*, **208** : 1317-1318.

Addiscot T.M. (1984). Modelling the interaction between solute leaching in soils: a review of modelling approaches. *J Soil Sci*, **36** : 411-424.

Aderhold D., Nordmeyer H. (1995). Leaching of herbicides in soil macropores as a possible reason for groundwater contamination. *In* BCPC Monograph n° 62 : *Pesticide Movement to Water*, Warwick UK, 3-5 april 1995, 217-222.

Ahuja, L.R. (1986). Characterization and modeling of chemical transfer to runoff. *Adv Soil Science*, **4** : 149-188.

Ahuja L.R., Lehman O.R. (1983). The extend and nature of rainfall-soil interaction in the release of solubles chemicals to runoff. *J Environ Qual*, **12** : 34-40.

Anderson J.P.E. (1994). Kinetics of pesticide biodegradation in soils: principles and applications. 5th International Workshop on Environmental Behaviour of Pesticides and Regulatory Aspects. Brussels April 26-29 1994, 211-217.

Andrea M.M., Tomita R.Y., Luchini L.C., Musimeci M.R. (1994). Laboratory studies on volatilisation and mineralization of ^{14}C-p-p'DDT in soil, release of bound residues and dissipation from solid surfaces. *J Environ Sci Health*, **B29** : 133-139.

Andreux F., Portal J.-M., Schiavon M., Bertin G. (1992). The binding of atrazine and its dealkylated derivatives to humic-like polymers derived from catechol. *Sci Total Environ*, **117/118** : 207-217.

Armstrong D.E. (1968). Adsorption catalyzed chemical hydrolysis of atrazine. *Environ Sci Technol*, **2** : 683-688.

Audus L.J. (1949). The biological detoxication of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in soils. *Plant and Soil*, **2** : 31-36.

Bailey G.W., White J.L. (1970). Factors influencing the adsorption, desorption and movement of pestides in soil. *Residue Reviews*, **32** : 29-92.

Barriuso E., Koskinen W., Sorenson B. (1992). Modification of atrazine desorption during field incubation experiments. *Sci Total Environ*, **123/124** : 333-344.

Barriuso E., Soulas G., Schiavon M. (2000a). Adsorption-désorption et dégradation des pesticides dans les sols. *J Eur Hydrol*, **1** : 49-56.

Barriuso E., Benoit P., Houot S. (2000b). Application of soil organic matter fractionation methods to the study of pesticide stabilization and bound residues formation in soils. *In* Cornejo J. et Jamet P. (Eds), *Pesticides-soil interactions: some current research methods*. INRA, Paris, 117-130.

Bedos C., Rousseau-Djabri M.F., Flura D., Masson S., Barriuso E., Cellier P. (2002). Rate of pesticide volatilization from soil: an experimental approach with a wind tunnel system applied to trifluralin. *Atmosph Environ*, **36** : 5917-5925.

Benoit P. (1994). *Rôle de la nature des matières organiques dans la stabilisation des résidus de polluants organiques dans les sols*. Thèse de doctorat de l'INA Paris-Grignon.

Benoit P., Preston C.M. (2000) Transformation and binding of 13C and 14C-labeled atrazine in relation with straw decomposition in soil. *Eur J Soil Sci*, **51** : 43-54.

Bidleman T.F. (1999). Atmospheric transport and air-surface exchange of pesticides. Water, *Air and Soil Pollution*. **115** : 115-166.

Boiffin J., Papy F., Peyre Y. (1986). *Système de production, système de culture et risque d'érosion dans le Pays de Caux*. Ministère de l'Agriculture, DIAME, INA-PG, INRA.

Burt G.W. (1974). Volatility of atrazine from plant, soil and glass surfaces. *J Environ Qual*, **2** : 114-117.

Calvet R. (1989) Adsorption of organic chemicals in soils. *Environ Health Pers*, **83** : 145-177.

Calvet R., Terce M., Arvieu J.C. (1980). Adsorption des pesticides par les sols et leurs constituants. I.- Description du phénomène d'adsorption. *Annales Agronomiques*, **31** : 33-62.

Capriel P., Haisch A., Khan S.U. (1985). Distribution and nature of bound (nonextractable) residues of atrazine in a mineral soil nine years after the herbicide application. *J Agric Food Chem*, **33** : 567-569.

Carrizosa M.J., Koskinen W.C., Hermosin M.C., Cornejo J. (2001). Dicamba adsorption-desorption on organoclays. *Applied Clay Sci*, **18** : 223-231.

Celis R., Hermosin M.C., Cox L., Cornejo J. (1999). Sorption of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid by model particles simulating naturally occurring soil colloids. *Environ. Sci Technol*, **33** : 1200-1206.

Chester G., Simsiman G.V., Levy J., Alhajjar B.J., Fathulla R.N., Harkin J.M. (1989). Environmental fate of alachlor and metolachlor. *Rev Environ Contam T*, **110** : 1-74.

Chevreuil M., Garmouma M., Teil M.J., Chesterikoff A. (1996). Occurence of organochlorines (PCBs, pesticides) and herbicides (triazines, phenylureas) in the atmosphere and in the fallout from urban and rural stations of the Paris area. *Sci Total Environ*, **182** : 25-37.

Cliath M.M., Spencer W.F., Farmer W.J., Shoup T.D., Grover R. (1980). Volatilization of s-ethyl n,n-dipropylthiocarbamate from water and wet soil during and after flood irrigation of an alfalfa field. *J Agric Food Chem*, **28** : 610-613.

Cooper J.R., Jenkins J.J., Curtis A.S. (1990). Pendimethalin volatility following application to turfgrass. *J Environ Qual*, **19** : 508-513.

Cui H., Hwang H.M., Zeng K., Glover H., Yu H., Liu Y. (2002). Riboflavin-photosensitized degradation of atrazine in a freshwater environment. *Chemosphere*, **47** : 991-999.

Dakhel N. (2001). *Effet des paramètres pédo-climatiques sur les mécanismes responsables de la dissipation de l'amitrole dans les sols : adsorption, dégradation et stabilisation des résidus*. Thèse de l'INA Paris-Grignon.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

De Amarante Jr O.P., Brito N.M., dos Santos T.C.R., Nunes G.S., Ribeiro M.L. (2003). Determination of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and its major transformation product in soil samples by liquid chromatographic analysis. *Talanta*, **60** : 115-121.

Dec J., Haider K., Benesi A., Rangaswamy V., Schäffer A., Plücken U., Bollag J.-M. (1997a). Analysis of soil-bound residues of ^{13}C-labeled fungicide cyprodinil by NMR spectroscopy. *Environ Sci Technol*, **31** : 1128-1135.

Dec J., Haider K., Rangaswamy V., Schäffer A., Fernandes E., Bollag J.-M. (1997b). Formation of soil-bound residues of cyprodinil and their plant uptake. *J Agri Food Chem*, **45** : 514-520.

De Jonge H., de Jonge L.W. (1999). Influence of pH and solution composition on the sorption of glyphosate and prochloraz to a sandy loam soil. *Chemosphere*, **39** : 753-763.

Deuet S., Dubourguier H.C., Wijffels P. (1995). Successful land farming bioremediation of soils highly contaminated by coal tar residues. Environmental Science and Technology Abstract 5th International KfK/TNO Conf. Cont. Soils, Maastricht, The Netherlands.

Ding G., Novak J.M., Herbert S., Xing B. (2002). Long-term tillage effects on soil metolachlor sorption and desorption behavior. *Chemosphere*, **48** : 897-904.

Ebing W., Schuphan I. (1979). Studies on the behavior of environmental chemicals in plants and soil quantitatively investigated in closed cultivating systems. *Ecotox Environ Safety*, **3** : 133-143.

Fernandez M.C., Cox L., Hermosín M.C., Cornejo J. (2002). Adsorption-desorption of metalaxyl as affecting dissipation and leaching in soils: role of mineral and organic components. *Pest Manag Sci*, **59** : 545-552.

Foy C.L. (1964). Volatility and tracer studies with alkylamino-s-triazines. *Weeds* **12**, 103-108.

Fusi P. (1991). Adsorption et décomposition catalytique des pesticides sur les minéraux argileux. XXIe Congrès du Groupe Français des Pesticides, Nancy 22-23 mai 1991, 31-44.

Fusi P., Arfaioli P., Calamai L., Bosetto M. (1993). Interactions of two acetanilide herbicides with clay surfaces modified with Fe(III) oxyhydroxides and hexadecyltrimethyl ammonium. *Chemosphere*, **27** : 765-771.

Gao J.P., Maguhn J., Spitzauer P., Kettrup A. (1998). Sorption of pesticides in the sediment of the Teufelsweiher pond (Southern Germany). I: Equilibrium assessments, effect of organic carbon content and pH. *Water Res*, **32** : 1662-1672.

Gaudet J.-P., Jegat H., Vachaud G., Wierenga P.J. (1977). Solute transfer with exchange betwenn mobile and immobile water through unsaturated sand. *Soil Sci Soc Am J*, **41** : 665-671.

Gawlik B.M., Lamberty A., Pauwels J., Blum W.E.H., Mentler A., Bussian B., Eklo O., Fox K., Kordel W., Hennecke D. (2003). Certification of the European reference soil set (IRMM-443-EUROSOILS). Part I. Adsorption coefficients for atrazine, 2,4-D and lindane. Sci. *Total Environ*, **312** : 23-31.

Gerke H.H., van Genuchten M.Th. (1993). A dual-porosity model for simulating preferential movement of water and solutes in structured porous media. *Water Resour Res*, **29** : 305-319.

Giles C.H., Mac Ewan S.N., Nakhwa S.H., Smith D. (1960). Studies in adsorption: Part XI. A system of classification of solution adsorption isotherms and its use in diagnosis of adsorption mechanisms and in measurement of specific surface area solids. *J Chem Soc*, **14** : 3973-3993.

Glotfelty D.E., Taylor A.W., Turner B.C., Zoller W.H. (1984). Volatilization of surface-applied pesticides from fallow soil. *J Agric Food Chem*, **32** : 638-643.

Graham-Bryce I.J. (1981). The behaviour of pesticides in soil. *In* D Greenland and MHB Hayes (Eds), *The Chemistry Soil Processes.* , 620-670.

Green R.E., Khan M.A. (1987). Pesticide movement in soil: Mass Flow and Molecular Diffusion, Chapter 9, *In* Fate of pesticides in the environment. Proc. Technical Seminar, Oakland, Univ. California. Biggar J.W. and Seiber J.N. Eds, 87-92.

Guimont S., Perrin-Ganier C., Schiavon M. (2003). Distribution de la bentazone dans les différents compartiments d'eau du sol au cours de sa migration : effet de l'humidité initiale du sol. XXXIIIe Congrès du Groupe Français des Pesticides, Aix-en-Provence, 20-24 mai 2003.

Hasset J.J., Banwart W.L. (1989). The sorption of nonpolar organics by soils and sediments. *In* Reactions and movement of organic chemicals in soils. Sawhney B.L. et Brown K. Eds. SSSA Madison, Wisconsin, Special publication, **22** : 31-44.

Henriet J. (1979). Le problème des résidus de pesticides pour le consommateur et l'environnement. *Revue de l'Agriculture*, **32** : 295-312.

Hequet V., Gonzalez C., Le Cloirec P. (1995). Approche méthodologique des conditions d'hydrolyse de l'atrazine. XXV[e] Congrès du Groupe Français des Pesticides, Montpellier, 17-18 mai 1995, 158-166.

Hermosin M.C., Cornejo J., Cox L. (2000). Calculation and validation of clays as predictor for polar or ionic pesticide adsorption by soils. *In* Cornejo J. et Jamet P. (Eds), *Pesticides-soil interactions: some current research methods*. INRA, Paris, 1311-1400.

Houot S., Topp E., Yassir A., Soulas G. (2000). Dependence of accelerated degradation of atrazine on soil pH in French and Canadian soils. *Soil Biol Biochem*, **32** : 615-625.

Hui C., Wenjun Z., Kun Z., Huiying Z., Mei J. (2004). Sorption of ionizable organic compounds on HDTMA-modified loess soil. *Sci Total Environ*, **326** : 217-223.

Jamet P. (1979). Le comportement des produits agropharmaceutiques dans le sol. *Phytiatrie-Phytopharmacie*, **28** : 87-122.

Jamet P. (1986). Les principaux aspects du comportement des produits phytosanitaires dans le sol. Journées sur « L'utilisation raisonnée des produits agropharmaceutiques », ENSA, Rennes, 1-15.

Jamet P., Thoisy J.-C., Laredo C. (1984). Étude et modélisation de la cinétique d'adsorption et de désorption de l'UKJ-1506 dans le sol. *In* Hascoet M. (Ed), Comportement et effets secondaires des pesticides dans le sol. *Les colloques de l'INRA*, **31** : 136-146.

Jaunky A. (2000). *Étude de la volatilisation des pesticides incorporés dans un sol agricole : études expérimentales et modélisation*. Thèse de l'Université Louis Pasteur

Jury W.A., Flühler H. (1992). Transport of chemicals through soil: mechanisms, models and field applications. *Adv Agron*, **47** : 141-201.

Khan S.U., Ivarson K.C. (1981). Microbial release of unextrated (bound) residues from an organic soil treated with prometryn. *J Agric Food Chem*, 29 : 1301-1303.

Klöppel H., Kördel W., Haider J. (1994). Herbicides in surface runoff: a rainfall simulation study on small plots in the field. *Chemosphere*, **29** : 649-662.

Kloskowski R., Führ F., Mittelstaedt W. (1992). Plant availability of bound anilazine residues in a degraded loess soil. *J Environ Sci Health*, **6** : 487-505.

Koskinen W.C., Harper S.S. (1990). The retention processus: mechanisms. *In* Cheng H.H., *Pesticides in Soil Environment. Process, impacts and modeling*. SSSA Madison, Wisconsin Book Ser. **2** : 51-77.

Lafrance P., Banton O., Gagne P. (1997). Exportations saisonnières d'herbicides vers les cours d'eau mesurées sur six champs agricoles sous quelques pratiques culturales du maïs (Basses-Terres du St-Laurent). *Revue des Sciences de l'Eau*, **4** : 439-459.

Lawes J.B., Gilbert J.H., Warington R. (1882). On the amount and composition of the rain and drainage waters collected at Rothamsted. III- The drainage water from land cropped and manured. *J R Agric Soc Engl*, **18** : 1-17.

Lecomte V. (1999). *Transfert de produits phytosanitaires par le ruissellement et l'érosion de la parcelle au bassin versant*. Thèse de l'ENGREF, Spécialité Science de l'eau.

Lee J.K., Führ F., Kyung K.S. (1996). Fate of the herbicide bentazon in rice plant-grown lysimeters over four consecutive cultivation years. *J Environ Sci Health*, **2** : 179-201.

Lennartz B., Meyer-Windel S. (1995). The role of immobile water in unsaturated substrates. *Hydrogeologie*, **4** : 75-83.

Locke M.A. (1992). Sorption-desorption kinetics of alachlor in surface soil from two soybean tillage systems. *J Environ Qual*, **21** : 558-566.

Loiseau L., Barriuso E. (2002). Characterization of the atrazine's bound (nonextractable) residues using fractionation techniques for soil organic matter. *Environ Sci Technol*, **36** : 683-689.

Mathur S.P., Morley H.V. (1978). Incorporation of methoxychlor-^{14}C in model humic acids prepared from hydroquinone. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **20** : 268-274.

Mietinnen I., Martikainen P., Vartiainen T., Lötjönen S. (1993). Biochemeical and chemical degradation of 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone (MX) in surface and drinking water. *Chemosphere*, **27** : 1707-1718.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un delit

Miller J.L., Wollum A.G., Weber J.B. (1997). Degradation of carbon-14-atrazine and carbon-14-metolachlor in soil from four depths. *J Environ Qual*, **26** : 633-638.

Mosimann T., Maillard A., Musy A., Neyroud J.-A., Rüttimann M., Weisskopf P. (1991). Lutte contre l'érosion des sols, Guide pour la conservation des sols. Rapport thématique du programme national de recherche « Utilisation des sols en Suisse » ; Liebefeld-Berne.

Novak S., Portal J.-M., Morel J.-L., Schiavon M. (1998). Mouvement des produits phytosanitaires dans le sol et dynamique de transfert de l'eau. *C.R Acad. Agric. Fr.*, **84** : 119-132.

Novick N., Alexander M. (1985). Cometabolism of low concentration of propachlor, alachlor, and cycloate in sewage and lake water. *Applied Environ Microbiol*, **49** : 737-743.

Parochetti J.V. (1978). Photodecomposition, volatility, leaching of atrazine, simazine, alachlor and metolachlor in soil and plant material. *Weed Sci Soc Am* Abstract 17.

Patakioutas G., Albanis T.A. (2002). Adsorption-desorption studies of alachlor, metolachlor, EPTC, chlorothalonil and pirimiphos-methyl in contrasting soils. *Pest Manag Sci*, **58** : 352-362.

Piccolo A., Celano G., Conte P. (1996). Adsorption of glyphosate by humic substances. *J Agric Food Chem*, **44** : 2442-2446.

Pieuchot M., Perrin-Ganier C., Portal J.-M., Schiavon M. (1996). Study on the mineralization and degradation of isoproturon in three soils. *Chemosphere*, **33** : 467-478.

Pignatello J.J. (1998). Soil organic matter as a nanoporous sorbent of organic pollutants. *Adv Colloid Interf Sci*, **76/77** : 445-467.

Pons N., Barriuso E. (1998). Fate of metsulfuron-methyl in soils in relation to pedo-climatic conditions. *Pestic Sci*, **53** : 311-323.

Raveton M., Ravanel P., Serre A.-M., Nurit F., Tissut M. (1997). Kinetics of uptake and metabolism of atrazine in model plant systems. *Pestic Sci*, **49** : 157-163.

Ristori G.G., Fusi P. (1995). Adsorption mecanisms and abiotic catalytic transformations of some agrochemicals by clay minerals. *In* Bollage J.-M., Huang M.P., *Environmental Impact of soil component interactions, volume 1: natural and anthropogenic organics*. CRCP Inc., 337-343.

Rousseaux S. (2001). *Diversité taxonomique, génotypique et physiologique des souches bactériennes dégradant l'atrazine dans les sols*. Thèse de l'Université de Bourgogne.

Roy W.R., Krapac I.G. (1994). Adsorption and desorption of atrazine and deethylatrazine by low organic carbon geological materials. *Environ Quality*, **23** : 549-556.

Saxena A., Bartha R. (1983). Microbial mineralization of humic acid-3,4-dichloroaniline complexes. *Soil Biol Biochem*, **15** : 59-62.

Scheunert I., Topp E., Schmitzer J., Klein W., Korte F. (1985). Formation and fate of bound residues of [^{14}C]benzene and [^{14}C]chlorobenzene in soil and plants. *Ecotox Environ Safety*, **9** : 159-170.

Scheunert I., Mansour M., Adrian Ph. (1991). Formation of conversion products and bound residues of chlorinated anilines in soil. *Toxicol Environ Chem*, **31/32**, 107-112.

Scheunert I., Parlar H. (1992). Fate of pesticides in plant and in soil fauna. *In* Ebing W. *Terrestrial behavior of pesticides*. Springer-Verlag Berlin Heideberg, 77-103.

Schiavon M., Jacquin F., Goussault C. (1978). Blocage de molécules s-triaziniques par la matière organique. Congress of International Atomic Energy Agency-SM-211/78 : 327-332.

Schiavon M., Barriuso E., Portal J.-M., Andreux F., Bastide J., Coste C., Millet A. (1990). Étude du devenir de deux substances organiques utilisées dans les sols, l'une massivement (l'atrazine), l'autre à l'état trace (le metsulfuron-méthyl), à l'aide de molécules marquées au ^{14}C. Rapport SRETIE/MERE 7219.

Schiavon M. (1998). Origine et devenir des produits phytosanitaires. *In* Les produits entraînés par l'eau. *Colloque d'Hydrotechnie*, 159^{e} session, SHF, Agriculture et Environnement. Paris, 18 et 19 novembre 1998, 107-118.

Schroll R., Langenbach T., Cao G., Dörfler U., Schneider P., Scheunert I. (1992). Fate of [^{14}C]terbutylazinein soil-plant systems. *Sci Total Environ*, **123/124** : 377-389.

Senesi N. (1993). Organic pollutant migration in soils as affected by soil organic matter : molecular and mechanistic aspects. *NATO ASI Series*, **32** : 47-74.

Singh R., Gerritse R.G., Aylmore L.A.G. (1989). Adsorption-desorption behavior of selected pesticides in some Western Australian soils. *Austral J Soil Res*, **28** : 227-243.

Somasundaram L., Coats J.R. (1990). Pesticide transformation products in the environment. *ACS symposium, series* **459** : 2-9.

Sonon L.S., Schwab A.P. (1995). Adsorption characteristics of atrazine and alachlor in Kansas soils. *Weed Sc*, **43** : 461-466.

Soulas G. (1991). La biodégradation des pesticides dans le sol. XXI[e] Congrès du Groupe Français des Pesticides, 22-23 mai 1991, Nancy, 120-137.

Soulas G. (1993). Evidence for the existence of different physiological groups in the microbial community responsible for 2,4-D mineralization in soil. *Soil Biol Biochem*, **25** : 443-449.

Soulas G. (1999). Techniques d'évaluation de l'écotoxicité des substances xénobiotiques vis-à-vis de la microflore des sols. *Ingénieries-EAT*, **19** : 57-66.

Stevenson F.J. (1972). Organic matter reactions involving herbicides in soil. *J Environ Qual*, **1** : 333-343.

Tasli S. (1995). *Devenir de l'atrazine en culture de maïs : étude en plein champ – site de la Côte Saint André, Isère, France – et au laboratoire.* Thèse de l'Université de Grenoble I.

Taylor J.A., Skjemstad J.O., Ladd J.N. (1995). Factors influencing the breakdown of sulfonylurea herbicides in solution and in soil. *CSIRO Division of Soils Divisional Report*, n° **127** : 1-12.

Tillmann R.W., Scotter D.R., Clothier B.E., White R.E. (1991). Solute movement during intermittent water flow in a field soil and some implications for irrigation and fertiliser application. *Agric Water Manage*, **20** : 119-133.

Vouzounis N.A., Americanos P.G. (1992). Effect of temperature and soil moisture on degradation of alachlor, pendimethalin and prometryn. *Technical Bulletin*, **147** : 1-5.

Walker A. (1987). Evaluation of a simulation model for prediction of herbicide movement and persistence. *Weed Res*, **27** : 143-152.

Walker A., Allen R. (1984). Influence of soil and environmental factors on pesticide persitence. BCPC Monograph n° 27. Symposium on Soils and Crop Protection Chemicals, 89-100.

White J.L. (1976). Clay-pesticide interactions. ACS, *Symposium Series*, **29** : 208-217.

Winkelman D.A., Klaine S.J. (1991). Degradation and bound residue formation of four atrazine metabolites, deethylatrazine, deisopropylatrazine, dealkylatrazine and hydroxyatrazine in a western tenesse soil. *Environ Toxicol Chem*, **10** : 347-354.

Wolfe N.L. (1990). Abiotic transformation of pesticides in natural waters and sediments. *In* Cheng H.H., *Pesticides in the Soil Environment : Processes, impacts and modeling*. SSSA Madison, Wisconsin Book, Series **2** : 93-104.

Xue S.K., Selim H.M. (1995). Modeling adsorption-desorption kinetics of alachlor in a typic fragiudalf. *J Environ Qual*, **24** : 896-903.

Yaduraju N.T. (1994). Influence of soil environmental factors on the efficacy of herbicides. *In* Prasad D., Gaur H.S., *Soil Environment Pesticides*, Vedams books Ldt, New-Delhi, 265-292.

Yaron B. (1989). General principles of pesticide movement to groundwater. *Agric Ecosystems Environ*, **26** : 275-297.

Yassir A., Lagacherie B., Houot S., Soulas G. (1999). Microbial aspects of atrazine biodegradation in relation to history of soil treatment. *Pestic Sci*, **55** : 799-809.

Zehe E., Fluhler H. (2001). Preferential transport of isoproturon at a plot scale and a field scale tile-drained site. *J Hydrol*, **247** : 100-115.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

7

Effets non intentionnels des pesticides organiques de synthèse : impact sur les écosystèmes et la faune

Bernard J.R. Philogène

« L'histoire de la vie sur la terre est celle des actions et réactions entre les êtres vivants et leur environnement. »
Rachel Carson

La lutte chimique contre les ravageurs des cultures et des forêts, ainsi que contre les vecteurs de maladies, a ajouté à l'environnement des quantités importantes et parfois considérables de molécules. Tous les pesticides posent un problème de contamination à court ou à long terme, selon la nature des molécules utilisées dans les traitements et selon la manière avec laquelle ils sont appliqués. Il nous faut composer avec les produits qui n'atteignent pas la cible au cours des épandages mais aussi avec les accidents et la négligence des usagers ou de personnes mal informées. Une bonne proportion de la contamination du milieu physique et de la biocénose est le résultat d'un usage excessif des pesticides. Ces excès proviennent d'une connaissance insuffisante de l'environnement et d'un manque d'effort et d'imagination pour mettre en œuvre des méthodes de lutte moins polluantes.

La présence des pesticides dans le milieu et les organismes vivants est le résultat :

– de l'application directe lors des épandages ;

– de la dispersion produite par la turbulence créée par la machinerie, et par les courants aériens ;

– du lessivage des sols lors des arrosages et par les précipitations atmosphériques ;

– des accidents reliés à la fabrication et au transport ;

– de la négligence de l'applicateur ;

– de la consommation de nourriture contaminée ;

– du degré de rémanence des molécules toxiques.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Les pesticides sont, par définition, des toxiques pour les organismes et ils en affectent un grand nombre, visés ou non visés, directement ou indirectement. Les plantes et les animaux vivent dans un environnement physique : air, eau, sol, qui est effectivement porteur de milliers de molécules naturellement associées aux constituants physiques et biologiques de l'environnement, ainsi que des molécules résultant de l'activité humaine, dont les pesticides.

L'air est un médium à travers lequel les pesticides passent avant d'atteindre les ravageurs, les mauvaises herbes, les phytopathogènes et autres organismes nuisibles. L'atmosphère est donc un vaste réservoir de pesticides – qui les véhicule vers les systèmes respiratoires des organismes – et de particules en suspension dans l'air qui se déposent sur le sol, l'eau et les êtres vivants. La contamination de l'eau par les pesticides, à la suite d'applications directes, de dérive, ou d'écoulements provenant de sols traités, met les organismes en contact avec les molécules toxiques. La riche faune aquatique et aviaire des estuaires et des milieux humides est particulièrement exposée à la contamination par les pesticides.

Les sols sont, par excellence, le milieu de contamination et d'entreposage des pesticides dans lesquels ces derniers s'accumulent par absorption et adsorption avant d'entrer en contact avec la faune et la flore endogées. Les plantes contribuent au déplacement des pesticides puisqu'elles absorbent ces derniers par leurs racines, leurs tubercules, bulbes ou rhizomes, dont certains seront par la suite consommés. Les invertébrés, par leur contact étroit avec les particules du sol et leur activité trophique, accumulent des quantités élevées de pesticides dans leurs tissus (Khan, 1980).

Pendant l'épandage de pesticides, divers organismes sont directement affectés, soit par des doses létales, soit par des concentrations sublétales qui produisent des effets chroniques. Ils vont de la simple réaction neurophysiologique aux effets tératogènes, mutagènes ou cancérigènes. Par ailleurs, la rémanence des pesticides les maintient dans les différentes composantes de l'environnement (air, eau, sol), à des concentrations diverses, ce qui conduit à des intoxications à proximité ou à des distances considérables des territoires traités par ces composés (Levin *et al.*, 1989 ; Moriarty, 1999 ; Newman et Unger, 2003). Que l'organisme soit atteint directement pendant l'épandage ou qu'il soit contaminé *via* l'air, l'eau, le sol ou la nourriture ingérée, son développement et sa survie seront fonction de la place qu'il occupe dans la chaîne trophique. Les prédateurs sont particulièrement victimes du phénomène de bio-amplification (voir définition plus loin). Les systèmes reproducteurs des organismes sont également sensibles puisqu'un nombre élevé de pesticides agit comme des œstrogènes. La modification du potentiel reproducteur de l'espèce affectée peut conduire à des réductions sensibles de la biodiversité dans les zones contaminées.

Dans le présent chapitre, nous examinerons la contamination des écosystèmes (milieu abiotique, biocénose), les effets de la bio-accumulation sur l'alimentation et les différentes composantes des chaînes trophiques, et les effets toxicologiques des pesticides organiques de synthèse (POS) sur les animaux, notamment les effets hormonaux, et les conséquences de la bio-amplification des pesticides.

1. *Impact sur les écosystèmes*

On ne peut se lancer dans une discussion sur les effets toxiques des pesticides envers les composantes biotiques de l'environnement, et leur cheminement dans les composantes physiques des écosystèmes, sans définir les termes qui sont essentiels à cette discussion. Ces définitions sont données dans l'encadré.

Définitions et concepts de base

- **Écosystème** : la littérature scientifique de langue française définit l'*écosystème* comme l'ensemble d'une biocénose et du biotope où vit cette biocénose. Cette définition en requiert deux autres : la *biocénose* constituée des communautés biologiques regroupant les populations de diverses espèces, et le *biotope,* une aire géographique aux conditions dominantes homogènes (Ramade, 1992).
- **Action secondaire** : toute action bien caractérisée autre que celle pour laquelle le produit a été employé, qu'elle soit bénéfique ou non, immédiatement ou à retardement (Besson *et al.*, 1974). Cette action peut se manifester sur les arthropodes auxiliaires, éléments clés de la lutte biologique, sur la qualité des fruits et légumes traités, et sur les organismes animaux.
- **Bio-accumulation** : Processus d'accumulation d'une substance dans tout ou partie d'un organisme vivant, *via* la chaîne trophique ou un écosystème (en anglais : *bio-accumulation*) (voir http://www.fasp.info/Glossaire/A-C.html). Il s'agit de l'accumulation des produits toxiques dans les tissus et organes des organismes. Cette situation est le résultat d'une absorption sélective, de la non dégradation de la molécule, et de la capacité des cellules à entreposer cette dernière, à cause, par exemple, de sa lipophilie.
- **Bioconcentration** : tendance d'une substance à s'accumuler dans un organisme vivant à un niveau supérieur à celui du milieu environnant par captation directe à partir de ce milieu. Exemple : une substance présente dans l'eau peut être concentrée par les poissons (Gobas *et al.*, 1999) (en anglais : *bioconcentration*) (http://www.fasp.info/Glossaire/A-C.html).
- **Bio-amplification** : processus d'accumulation successive d'une substance de bas en haut d'une pyramide alimentaire (en anglais : *biomagnification*) (http://www.fasp.info/Glossaire/A-C.html). Ce terme se réfère donc à l'augmentation de concentration progressive des contaminants d'un niveau trophique à l'autre. De ce fait, le niveau de pesticide mesuré, par exemple, dans le zooplancton est des dizaines de fois inférieur à ce qu'on peut mesurer chez les oiseaux piscivores.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1.1. Le milieu abiotique

Les trois principaux constituants physiques de notre environnement ont été particulièrement modifiés par l'addition de milliers de molécules résultant des activités agricoles et industrielles de l'espèce humaine. Depuis l'avènement des pesticides organiques de synthèse, cette contamination s'est accentuée à un point tel que la surface terrestre, dans son ensemble, recèle des molécules de cette nature, sans en avoir nécessairement subi des traitements directs. Cette ubiquité des POS est le résultat de phénomènes dynamiques qui en assurent le transport mais également celui de l'absence de réglementation planétaire, même si des accords internationaux ont été ratifiés sur ce point. Ainsi, on constate que certains pays continuent soit à produire les organochlorés, soit à les utiliser sur une grande échelle (*cf.* chapitre 1). Des pays européens, américains et asiatiques fabriquent encore des produits phytopharmaceutiques pour l'exportation alors que leur utilisation est interdite chez eux. L'Inde fabrique de grandes quantités de DDT (dichlorodiphényltrichloroéthane), de HCB (hexachlorobenzène), et de pentachlorophénol pour son marché intérieur mais aussi pour l'exportation vers l'Europe, l'Afrique, l'Amérique latine et le Moyen-Orient (Santillo *et al.*, 1997).

1.1.1. L'air

Lors d'un épandage aérien, près de 50 % du produit n'atteint pas la cible et se disperse dans l'air environnant. À cette contamination directe, il faut ajouter les molécules provenant de l'évaporation, une fois le pesticide déposé sur la plante, le sol ou l'eau. Toutes ces molécules peuvent se retrouver dans des nuages qui, poussés par les courants aériens, vont contribuer ultérieurement aux précipitations qui iront contaminer d'autres contrées. C'est ainsi que s'explique en bonne partie la présence des POP (polluants organiques persistants) dans l'Arctique canadien (McEwen et Stephenson,1979 ; Blais *et al.*, 1998).

Certaines molécules peuvent rester en suspension dans l'atmosphère, soit libres, soit adsorbées sur de fines particules de sol résultant de l'érosion éolienne. Le diazinon est régulièrement détecté dans l'air, le brouillard et la pluie (anonyme, 2000c). Une analyse de l'air a révélé que des concentrations de lindane et de chlordane observées dans l'Arctique sont liées au transport à partir de latitudes plus méridionales en Amérique du Nord, en Europe, et en Asie (anonyme, 1998a). Ceci n'est pas surprenant quand on sait que 99,6 % du HCB appliqué au sol dans le sud de l'Inde se volatilise et peut donc être transporté loin du site de traitement (Santillo *et al.*, 1997). Par ailleurs, la dispersion des pesticides au niveau des lieux de fabrication est notable, et contribue à la dissémination de ces molécules dans l'atmosphère.

1.1.2. Le sol

Lieu de croissance des plantes, le sol joue un rôle majeur dans la production agricole et forestière et reçoit la plus forte proportion des pesticides utilisés contre

les organismes nuisibles. Dans le seul Royaume-Uni (Angleterre et Pays de Galles), il est estimé que 28 000 tonnes de matière active de pesticides sont répandues chaque année sur les terres cultivées (Carter, 1993). Des millions d'hectares sont ainsi traités à travers le monde et les produits se retrouvent éventuellement dans la couche d'humus, la nappe phréatique, et l'aquifère. Il peut paraître surprenant qu'il ait fallu attendre 1987 pour que les scientifiques reconnaissent que les produits chimiques agricoles et industriels ne pouvaient se dégrader rapidement dans le sol, ni s'en évaporer facilement (Morgan, 1992).

La texture et la structure du sol, ainsi que la nature des molécules utilisées, déterminent la vitesse à laquelle les pesticides disparaîtront ou se maintiendront dans le sol traité (Khan, 1980 ; *cf.* chapitre 6). Les sols argileux tendent à adsorber davantage les pesticides, alors que les sols sablonneux facilitent leur descente vers la nappe phréatique. D'autre part, alors que les constituants organiques de l'humus contribuent à dégrader certaines molécules, les organismes comme les vers de terre tendent à les accumuler, surtout dans leurs parties lipophiles (Root, 1990).

Plusieurs pesticides se minéralisent assez rapidement par hydrolyse et/ou photolyse. Le pH du sol est un facteur qui en affecte la persistance. Ainsi, le dicofol, un des rares organochlorés encore utilisés sur une grande échelle, possède une demi-vie de 60 jours dans les sols mais tend à perdurer dans les sols plus acides (anonyme, 1999).

Les bactéries jouent un rôle important dans la biodégradation des POS et ont même contribué à réduire leur action insecticide envers les insectes du sol dont les larves se développent dans le sol comme les chrysomèles du genre *Diabrotica*, ou les larves des mouches de la carotte (*Delia radicum* et *Psila rosae*). Plusieurs travaux effectués avec des organophosphorés comme le chlorfenvinphos, le diazinon, et le fonofos, ou des carbamates comme le carbofuran et l'aldicarbe, ont mis le fait en évidence (Svett, 1991).

L'activité microbienne contribue aussi, sous conditions anaérobies, à la dégradation du lindane en α-HCH (Brooks, 1990) ce qui a favorisé l'utilisation de cet organochloré dans les rizières. Alors que les exemples précédents indiquent une dégradation des POS en produits non toxiques, il peut arriver que le produit de dégradation soit davantage toxique. C'est le cas de l'endosulfan qui se transforme en sulfate d'endosulfan, un produit plus rémanent qui constitue 90 % des résidus au bout de 11 semaines. Ce processus est favorisé par les températures élevées (anonyme, 2000a).

Dans un rapport sur la contamination des sols agricoles au Canada (Acton et Gregorich, 1995), Webber et Sing concluent que les POS ne sont plus des contaminants importants, du fait de l'interdiction de ces produits vers le milieu des années 70. Ils ont ainsi collecté les valeurs de concentrations observées dans plusieurs sites selon le poids sec du sol : des concentrations inférieures à 10 ppb ont été observées pour la plupart des organochlorés, inférieures à 15 ppb pour les organophosphorés, inférieures à 0,60 ppb pour les herbicides de type phénoxy (2,4,5-T). Selon ces auteurs, certains sites en contenaient même davantage, conséquence

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

du type de sol et de la nature des cultures ; on a trouvé 80 ppb d'endosulfan dans la couche arable de fermes en Ontario et à l'Île du Prince Édouard, 100 ppb dans la couche arable de sites en Ontario, au Nouveau Brunswick et à l'Île du Prince Édouard. Le fonofos a été le seul organophosphoré à atteindre une concentration de 100 ppb.

1.1.3. L'eau

Comme il ne peut y avoir de vie sans eau, la présence de POS dans cette composante essentielle de tout être vivant est donc une préoccupation majeure. Ceci est d'autant plus vrai que l'eau est menacée par de multiples pollutions : métaux lourds, nitrates, solvants, micro-organismes divers, pesticides. Plus de 200 contaminants ont été répertoriés dans les nappes phréatiques (EPA,1990 ; FAO, 2004). L'impact des pesticides sur la qualité de l'eau est aussi fonction du type de formulation, des contaminants qui y sont associés, et des adjuvants divers (anonyme, 1998b ; Coot et Gregorich, 2000).

Sous toutes les latitudes, l'eau est contaminée par le lessivage des sols contaminés, les précipitations provenant de nuages toxiques, des effluents des usines de pesticides, des déversements accidentels, des négligences lors de la manipulation ou l'utilisation des pesticides. Aux États-Unis, par exemple, on estime que les déversements, les entreposages déficients et les mauvaises manutentions contribuent à environ 50 % de la contamination par les pesticides (Carter, 1993). En France, on a constaté que « *la principale cause de pollution est le non-respect de pratiques d'utilisation respectueuses des personnes et de l'environnement* » (Crouzet *et al.*, 1998). En Amérique du Nord, certains produits agrochimiques se sont retrouvés dans les Grands Lacs à la suite de volatilisation, dérive atmosphérique, précipitation et ruissellement (Janzen *et al.*, 1998)

Outre la pollution non intentionnelle (lixiviation et filtration à travers le sol, qui contaminent la nappe phréatique), il est parfois nécessaire de faire des applications directes de pesticides dans l'eau pour lutter contre la présence de larves de moustiques ou autres vecteurs, ou contre les mollusques, bio-réservoirs associés à la bilharziose. Cet usage contribue directement à la contamination de l'eau sous les tropiques. Ainsi, au Botswana, on utilise le DDT depuis 30 ans pour le contrôle de la malaria et de la mouche tsé-tsé dans le bassin de l'Okavango, vaste région de lacs, de cours d'eau, et de marécages (Mbongwe *et al.*, 2003).

Jusqu'au début des années 70, les problèmes reliés à la qualité de l'eau potable concernaient surtout les bactéries, les composés inorganiques, et la radioactivité. L'adoption d'une loi, par le Congrès des États-Unis en 1974 (*Safe Drinking Water Act*) a obligé les législateurs et les responsables de l'environnement à porter une plus grande attention aux composés organiques en général, et aux pesticides en particulier, présents dans l'élément aqueux.

Comme près de 85 % des ressources hydrauliques, pour la consommation humaine et pour toutes les activités agricoles, proviennent des nappes aquifères, il a fallu se pencher plus attentivement sur la présence des pesticides dans ces

nappes, tout en prenant en compte les eaux de surface. Il est intéressant de constater que ce sont surtout les herbicides qui se retrouvent dans les nappes phréatiques et les aquifères, comme on a pu le constater autant aux États-Unis et en France (Wilkinson, 1991 ; IFEN, 2002). Par ailleurs, la Communauté européenne a jugé utile de définir les concentrations maximales admissibles dans l'eau pour chaque insecticide organochloré, organophosphoré et carbamate (0,1 $\mu L.L^{-1}$) (directive 80/778/EEC) (anonyme, 2000b). Cette directive est d'autant plus importante pour la santé publique que les consommateurs sont exposés simultanément à plusieurs molécules potentiellement toxiques et que, dans le contexte des perturbations endocriniennes, des effets synergiques pourraient intervenir (Tyler *et al.*, 1998).

La présence de POS dans les eaux courantes (rivières et estuaires) et stagnantes (lacs, étangs) représente une menace pour beaucoup d'organismes qui y vivent. C'est dans les eaux de surface et les eaux côtières que le phénomène de bioconcentration se manifeste tout particulièrement. Outre leur circulation dans l'eau, les pesticides les plus persistants s'accumulent dans les sédiments. On estime qu'environ 67 % du DDT est transporté en association avec les particules en suspension, quand les concentrations sont de l'ordre de 100 $mg.L^{-1}$, et que cette proportion augmente à 93 % pour 1 000 $mg.L^{-1}$ dans le sédiment. Dans certaines situations, on trouve 40 % des résidus de la dieldrine dans les sédiments, 40 % dans l'eau environnante et 10 % dans les poissons (Schnoor, 1981). Ce genre de situation complique sérieusement la capacité de détection de ce type de pesticide dans l'eau, car il faut doser l'ensemble des compartiments pour obtenir la concentration effective dans les compartiments aqueux.

2. *Impact sur la biocénose*

2.1. Bio-accumulation

Tout être vivant, au cours de son existence, est susceptible d'entrer en contact, de respirer ou d'ingérer des pesticides qui peuvent être retenus dans ses tissus. Ainsi, le papillon monarque, *Danaus plexippus*, se protège de ses prédateurs en accumulant dans ses ailes des glycosides. Le phénomène de l'accumulation (ou séquestration) de molécules existant dans la nature est un des éléments de défense des organismes bien documenté et analysé par les spécialistes de l'écologie chimique (Duffey,1976 ; Nishida, 2000).

On peut donc s'attendre à ce que les organismes accumulent des xénobiotiques à des concentrations bien supérieures à celles présentes dans leur milieu ambiant. La lipophilie des molécules de POS a favorisé cette bio-accumulation.

La présence, la fugacité, le maintien et la permanence, à des concentrations diverses, des molécules toxiques dans l'eau, le sol, l'air ou la nourriture sont avant tout fonction de la rémanence du produit. Un pesticide peu ou non rémanent possède une période d'activité d'une à douze semaines ; celui qui est modérément rémanent

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

d'un à dix-huit mois ; ceux qu'on considère comme rémanents de deux à cinq ans, et eux que l'on qualifie de quasi-permanents de plus de cinq ans (Hurtig,1972 ; Khan, 1980). La grande majorité des pesticides utilisés actuellement est classée dans les première et deuxième catégories. Les organochlorés sont majoritairement rémanents, alors que les pesticides contenant de l'arsenic, du mercure et du plomb sont quasi-permanents, ces éléments toxiques n'étant pas dégradables.

Cette présence à court ou à long terme conduit à des intoxications au niveau des organismes vivants, à proximité ou dans un périmètre plus ou moins étendu, selon les conditions environnementales, de l'endroit où se sont effectuées les applications initiales (*cf.* encadré « Une catastrophe écologique associée aux pesticides »). À la surface des océans se trouve une mince couche de substances huileuses dans laquelle prolifèrent bactéries, algues, protozoaires, œufs de poissons et d'invertébrés marins. Les organochlorés ont tendance à s'accumuler dans cette zone, créant, d'une part, des conditions toxiques pour tous les organismes qui y vivent et, d'autre part, contribuant aux conditions d'accumulation dans les chaînes trophiques (Johnston et McCrea, 1992).

Une catastrophe écologique associée aux pesticides

La mer d'Aral en Asie centrale, le quatrième plus grand lac du monde, a été transformée en une catastrophe écologique.

Le développement de l'irrigation dans la partie soviétique du bassin de la mer d'Aral a été couplé à l'emploi excessif de pesticides et d'engrais, ce qui a pollué les eaux de surface et les eaux souterraines, empoisonnant l'eau potable et les aliments. En 1998, on dressait le bilan suivant. Près de cinq millions de personnes sont touchées. Toutes les activités de pêche commerciale ont cessé en 1982. Sur les 30 espèces de poissons, 28 ont disparues. La concentration en produits toxiques dans les aliments et l'eau potable a des conséquences néfastes sur la santé des hommes et des animaux.

(http://www.fao.org/ag/fr/magazine/9809/spot2.htm – septembre 1998)

L'absence de spécificité de la plupart des pesticides, outre leurs effets neurotoxiques, fait qu'un grand nombre de réactions est possible lorsque ce genre de composé vient s'accumuler dans un tissu ou un organe, d'autant plus que l'organisme effectue également une absorption sélective et une séquestration d'une grande variété d'autres molécules (naturelles et synthétiques). Des organismes comme les algues, les vers de terre, et les poissons arrivent à absorber et concentrer des pesticides sans en subir de conséquences apparentes (*non responsive concentrators*) (Rudd, 1964). Il existe cependant un seuil au-dessus duquel les lésions biochimiques produisent des effets nocifs et souvent irréversibles. Dans la cellule, la molécule de pesticide est susceptible de se lier aux enzymes, au matériel génétique ou à toute autre composante, et de transformer radicalement le fonctionnement cellulaire (Chiras, 2001). De nombreux travaux dans ce domaine sont actuellement

menés pour mieux comprendre jusqu'où peuvent aller les effets sur les organismes non-cibles (*cf.* chapitres 8, 9, 10 et 11).

2.2. Apport alimentaire

La nourriture est une voie naturelle de transition des POS vers les cellules des organismes. Il n'est donc pas étonnant que les agences internationales de réglementation (FAO : *Food and Agriculture Organization*, Organisation des nations unies pour l'agriculture et l'alimentation ; OMS : Organisation mondiale de la santé ; la commission de l'Union européenne (UE) ; EPA : *Environmental Protection Agency* ; etc.) aient défini les concentrations au-dessus desquelles la prise de nourriture peut s'avérer dangereuse pour la santé, à court et à long terme. Pour établir la dose journalière acceptable (DJA) et la dose sans effet (DSE), on se base sur l'indice NOAEL (*no observed adverse effect level*). Les limites de résidus permises ont été établies par le *Codex Alimentarius* de la FAO et de l'OMS (FAO/OMS, 1999).

Quoiqu'en pense le grand public, les aliments disponibles sur le marché dans les pays industrialisés ne contiennent généralement pas de concentrations dangereuses de pesticides (Lindsay, 1997). À côté d'études ponctuelles sur un problème particulier, des vérifications périodiques sont effectuées par les pouvoirs publics.

Mais plusieurs exemples peuvent illustrer l'existence des résidus dans l'alimentation. En Espagne, la présence des organochlorés dans les fromages de consommation courante a été mise en évidence sur une période de 12 ans (Jodial-Villajero, 1996). Ce pays, comme les autres pays membres de l'UE, est soumis à la directive 86/363/CEE de la Communauté européenne qui a établi le niveau maximum de résidu acceptable pour les organochlorés. Bien que l'Espagne ait interdit les organochlorés, excepté le lindane, depuis 1977, on pouvait s'attendre en raison de la teneur lipidique des fromages et des propriétés lipophiles de ces pesticides, à un certain niveau de contamination. L'étude de Jodial-Villajero a répertorié la présence de résidus organochlorés dans les fromages, l'heptachlore (97 %) ayant la plus forte proportion d'échantillons positifs, et le chlordane la plus basse (0,7 %). Les limites permises par la FAO et la CEE ont été dépassées dans 11 % des cas pour l'heptachlor. Toutefois, l'auteur conclut que la consommation de fromage espagnol ne représente pas un risque pour le consommateur. Au Royaume-Uni, 16 ans après l'interdiction du DDT, en 1984, des concentrations élevées ont été trouvées dans des œufs provenant de certaines fermes où les poules vivent en liberté. Le sol de ces fermes contenait de fortes concentrations de DDT et de ses métabolites (2 100 à 12 000 $\mu g.kg^{-1}$) (anonyme, 2000d). En 1989 en Californie, une étude a porté sur près de 15 000 échantillons provenant de différentes cultures et denrées (Wilkinson, 1991). La plupart n'avait aucun niveau de pesticides détectables. Quand on pouvait en mesurer, les concentrations étaient en deçà de ce qui est toléré. Seuls 1,5 % des échantillons ne correspondaient pas aux normes. Bien que la majorité des auteurs soit d'avis que les niveaux de pesticides dans la nourriture sont suffisamment bas pour ne pas présenter des risques immédiats, selon l'US *Environment Working*

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Group, un million d'enfants de moins de cinq ans ingèrent quotidiennement des organophosphorés à des doses dangereuses, en particulier du méthylparathion, du diméthoate, du pyrimiphos-méthyl et de l'azinphos-méthyl, et du chlorpyrifos (Wiles *et al.*, 1998). Celui-ci était, avant la fin du siècle dernier, l'insecticide le plus utilisé aux États-Unis (Brittenden, 2000).

Dans les pays du sud, la situation est, d'une manière générale, encore et souvent plus préoccupante (Bouguerra, 1985). Selon Frauke (1996), la fréquence du DDT et de la dieldrine dans des échantillons de nourriture examinés en 1993 en Thaïlande était semblable aux observations faites de 1982 à 1985. L'eau, les fruits, les légumes, le riz contenaient du monocrotophos, du méthylparathion, du 2,4-D et du carbendazime. Les limites maxima permises étaient dépassées dans 10 à 20 % des échantillons, suivant la catégorie d'aliments examinés. La contamination du lait et des produits laitiers dans certaines régions de l'Inde, un pays qui continue à produire des organochlorés, est particulièrement alarmante. On a rapporté des doses quotidiennes de DDT dans le lait maternel qui dépassaient les normes de l'OMS de 13 à 24 fois (Santillo *et al.*, 1997), l'OMS ayant établi la DJA à 20 $\mu g.kg^{-1}$ (www.fao.org). Aux antipodes, les régions nordiques n'échappent pas à la présence de résidus comme le démontrent les études faites sur les populations Inuit du Canada, populations qui vivent pourtant dans des régions où il n'y a jamais eu d'épandage de pesticides (anonyme, 1998a ; Dewailly *et al.*, 2000). La contamination des aliments par les pesticides organiques est donc un problème mondial.

Qu'en est-il des effets chroniques ? Alors qu'on peut mesurer sans problème la NOAEL, il n'est guère possible de savoir quelles sont les concentrations les plus basses qui peuvent avoir des effets à long terme, et sur quelle période de temps, d'autant plus que l'organisme est confronté à l'action simultanée de plusieurs molécules. C'est plus souvent par recoupement que l'on fait état de cancers, tumeurs, lésions diverses, suppression du système immunitaire, bouleversement hormonal, inhibition de la reproduction, effets tératogènes et mutagènes, effets affectant autant les humains que les animaux (*cf.* encadré « Les douze salopards »). Dans ce chapitre, nous nous attarderons particulièrement sur les effets hormonaux et cancérigènes chez les animaux.

2.3. Effets hormonaux et potentiel reproducteur

Alors que la seule présence de pesticides ou de leurs résidus ne présente pas, à faible dose, un danger immédiat pour les oiseaux, les mammifères et autres animaux, l'exposition répétée à ces doses, et surtout la bio-accumulation, peuvent avoir des conséquences sur la croissance, le développement et la reproduction. Cette situation résulte du fait que de nombreux produits chimiques de synthèse, dont les pesticides, agissent sur les systèmes hormonaux. On les a qualifiés de perturbateurs endocriniens (*endocrine disrupting chemicals* ou EDC) et ils font actuellement l'objet de plusieurs études (Tyler *et al.*, 1998 ; Lyons, 1999 ; Watterson, 1999). Le problème est suffisamment sérieux pour que l'EPA des États-Unis mette

Les douze salopards (*The Dirty Dozen*)

Il s'agit d'un groupe de pesticides, particulièrement rémanents et ayant des effets pervers sur la développement et la santé de la plupart des organismes vivants, qui ont été répertoriés par *le Pesticide Action Network* (*PAN*). Initialement au nombre de douze, on en compte actuellement 18 : aldicarbe, chlordane, heptachlore, chlordiméforme, DBCP (dibromochloropropane), DDT, aldrine, dieldrine, endrine, EDB (dibromure d'éthylène), HCH/BHC (hexachlorohexane) et lindane, paraquat, parathion et méthyl parathion, pentachlorophénol (PCP), toxaphène et 2,4,5-T (2,4,5-*Trichlorophenoxyacetic acid*). Les interventions du PAN ont commencé il y a une dizaine d'années et ont réussi à faire prendre conscience des dangers que représentent des pesticides pour la santé humaine et l'environnement.

(http://www.pan-uk.org/pestnews/Pn30/pn30p11b.htm)

en place, en 1999, un programme de surveillance de ces perturbateurs (Wright et Nebel, 2002). Ces substances, parmi lesquelles on retrouve des organochlorés, des organophosphorés et des carbamates, peuvent se fixer aux récepteurs d'hormones dans la cellule, et se comporter comme des hormones, c'est-à-dire avoir une activité œstrogène ou anti-androgène. Elles peuvent affecter la synthèse des stéroïdes et leur métabolisme, et même agir au niveau du cerveau à partir duquel elles produiront une cascade d'effets sur les systèmes hormonaux nécessaires au bon fonctionnement de l'organisme. Les pesticides ayant des propriétés similaires à celles des hormones, ou agissant comme antagonistes de ces dernières, peuvent donc intervenir au niveau de l'axe hypothalamus-pituitaire-gonades, au cours des synthèses et catabolismes des hormones, de leur sécrétion, et leur transport (Tyler *et al.*, 1998).

Tous ces effets ont été observés chez les reptiles, les poissons, les oiseaux et les mammifères. Johnston et McCrea (1992) ont ainsi répertorié diverses pathologies dans différentes espèces aquatiques :

- mortalité accrue et malformations chez les alevins ;
- embryons déformés ou morts chez les tortues d'eau douce ;
- tumeurs et lésions chez les bélugas (baleines blanches) ;
- diminution du niveau d'hormones chez les baleines ;
- stérilités et perturbations du système immunitaire chez phoques ;
- déformation de la boîte crânienne et problèmes de développement chez les phoques de la Baltique.

Le déclin des populations d'oiseaux a été la sonnette d'alarme qui a amené les chercheurs à se pencher sur la relation existant entre les POS et le potentiel reproducteur de ces animaux. En Ontario entre 1966 et 1974, on a observé des réductions de 70 % du nombre d'oisillons et de nids (Chiras, 2001). Le phénomène des coquilles minces d'œufs d'oiseaux prédateurs (faucons, pélicans, cormorans, aigles, mouettes) avait déjà permis de démontrer l'effet du DDE sur le métabolisme du

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Ca^{2+} : l'amincissement des coquilles d'œufs est provoqué par l'inhibition de la calcium ATPase au niveau de la glande secrétant la coquille (Fry, 1995). La production d'œufs peut être réduite chez les oiseaux à la suite d'une contamination par les organophosphorés et les carbamates. En laboratoire, on a pu observer des malformations à la naissance chez les oisillons pour une cinquantaine de pesticides auxquels les oiseaux ont été exposés (Watterson, 1999).

Des travaux ultérieurs ont révélé une relation de cause à effet entre les organochlorés et les anomalies hormonales reliées à la reproduction. Ainsi, McArthur *et al.* (1983) ont observé que chez des tourterelles dont la nourriture contenait du DDE et du mirex, les niveaux d'androgènes chez les mâles, d'œstrogènes et de progestérone chez les femelles, ainsi que de thyroxine et de prolactine, étaient modifiés par rapport à ceux observés chez les oiseaux témoins. Cette modification hormonale a eu une incidence sur le comportement au moment de l'accouplement, la construction du nid, la couvée, et le temps passé par les parents à nourrir les oisillons. Ces études en laboratoire ont été corroborées sur le terrain par des observations effectuées sur des mouettes du lac Ontario, un milieu très pollué par les organochlorés dans les années 70. Les tests sur la reproduction font maintenant partie des études standards en vue de prédire les effets sub-létaux des produits chimiques, les oiseaux étant en fait devenus de très bons bio-indicateurs de la santé de l'environnement (Howe, 1998) (*cf.* chapitre 13).

D'autres espèces animales sont également affectées au niveau du système reproducteur. Le DDT et ses métabolites (anonyme, 1998c), le métoxychlor, la dieldrine, l'endosulfan et le toxaphène sont tous des insecticides qui se fixent sur les récepteurs des œstrogènes, ce qui peut conduire à une puberté accélérée ou à une perte de fertilité. Des malformations au niveau du tractus génital peuvent également se produire. Cependant, les effets endocrines de plusieurs pesticides ne sont pas établis avec certitude (EPA, 1998). On a observé une féminisation des rats mâles en laboratoire, des alligators sur le terrain en Floride (Guillette *et al.*, 1994) et des grenouilles (Hayes *et al.*, 2002 ; Tyrone *et al.*, 2002).

Enfin, certains pesticides sont génotoxiques et les changements qu'ils font subir au génome des organismes peuvent favoriser l'apparition de cancers (Morgan, 1992 ; anonyme, 2001). L'effet carcinogène des pesticides est étudié en laboratoire sur des rats et des souris. C'est un élément de la série de tests toxicologiques qui figurent dans les dossiers d'homologation, et à partir desquels les pouvoirs publics accordent l'autorisation de mise sur le marché (AMM).

2.4. Bio-amplification

Lorsque les organismes ayant accumulé les pesticides auxquels ils ont été exposés sont consommés par ceux situés au niveau supérieur de la chaîne trophique, il en résulte une augmentation de concentration élevée de molécules toxiques et/ou rémanentes, ce qui engendre un accroissement de la charge toxique. C'est le phénomène de la bio-amplification que Ramade (1992) définit en ces termes : « *chaque chaîne trophique sera le site d'un processus d'accroissement de la concentration*

des toxiques persistants dans la biomasse au fur et à mesure que l'on remonte les divers niveaux de la pyramide écologique ». Ainsi, l'oiseau de proie contiendra une concentration bien plus élevée de xénobiotique que le ver de terre, premier maillon de sa chaîne trophique.

Le phénomène de bio-amplification est différent selon qu'il se situe au niveau terrestre ou aquatique. Les espèces aquatiques accumulent des toxiques par contact direct avec leur milieu environnant ainsi que par une prise alimentaire (Becker *et al.*, 2000), alors que, pour les espèces terrestres, la nourriture est la source principale de bio-amplification (Moriarty, 1999). D'autre part, la rapidité avec laquelle les substances toxiques sont absorbées et éliminées par un organisme aquatique, phénomène facilité par le processus de filtration, ainsi que la quantité absorbée, doivent également être prises en considération.

La bioconcentration, la bio-accumulation et la bio-amplification des molécules xénobiotiques sont toutes dépendantes :

– des propriétés des molécules (hydrophobie, hydrophilie, niveau de dégradation) ;

– de leur capacité à se maintenir dans le milieu physique (air, eau, sol) et notamment leur mobilité ;

– de la capacité des organismes et des chaînes trophiques à les capter et les retenir ou les éliminer. Elle varie selon le niveau trophique, la capacité métabolique à transformer, la proportion de lipides et le métabolisme ;

– des facteurs environnementaux comme la température.

Le déclin spectaculaire de certaines populations du faucon pèlerin, *Falco peregrinus*, est un des exemples les mieux connus de la bio-amplification et de ses effets néfastes. Ce prédateur, qui est au sommet de la chaîne trophique, se nourrit d'autres volatiles qui prennent souvent leur nourriture dans des milieux aquatiques ou terrestres contaminés par les pesticides. C'est au début des années 50 que l'on a remarqué une baisse notable des populations de ce rapace en Europe occidentale et dans l'est de l'Amérique du Nord. Une vingtaine d'années plus tard, la population nord-américaine était sur le point de disparaître, conséquence de troubles liés à la reproduction et à la ponte d'œufs à coquille mince. On s'est alors rendu compte du lien qui existait entre le déclin de ces oiseaux prédateurs et l'utilisation des organochlorés. En effet, les populations non migratrices de *Falco peregrinus* qui, de plus, se nourrissent essentiellement d'oiseaux marins eux-mêmes non migrateurs (îles du Pacifique Nord éloignées des zones à pesticides) restaient stables, tandis que celles de l'Arctique et de l'est de l'Amérique du Nord qui migrent, se reproduisent dans des régions dans lesquelles les organochlorés sont largement utilisés. Elles se nourrissent d'oiseaux contaminés par ces pesticides et elles déclinent. L'abolition de l'utilisation du DDT, et de la plupart des autres organochlorés au Canada et aux États-Unis, a heureusement contribué à arrêter cette hécatombe et à permettre au faucon pélerin de reconstituer sa population au bout d'une trentaine d'années, là où il avait pratiquement disparu (Peakall, 1990 ; Fry, 1995 ; Freedman, 2004).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un delit

Des effets de bio-accumulation et de bio-amplification avec d'autres insecticides généralement considérés non résiduels ont été également constatés. Ainsi, le carbofuran, un carbamate utilisé sur des milliers d'hectares contre les sauterelles, dans les prairies canadiennes, a contribué au déclin des populations de chouette des terriers, *Athene cunicularia*, classée espèce menacée en 1978. Cet oiseau fait son nid dans les tanières abandonnées et se nourrit de petits mammifères et d'insectes. De 1976 à 1987, la population adulte a baissé de 50 % dans le sud de la province de Saskatchewan (Canada) (anonyme, 1990). À la suite des interventions du Service canadien de la faune, et de la constatation par l'EPA, en 1989, que la mort de deux millions d'oiseaux pouvait être associée à l'utilisation du carbofuran, une interdiction de ce pesticide a été décrétée en 1991 (Hjertaas *et al.*, 1995 ; Chiras, 2001).

Conclusion

Exposés à des centaines, si ce n'est des milliers de molécules naturelles ou synthétisées par l'homme, les organismes vivants doivent leur survie à une capacité de détoxication exceptionnelle qui joue un rôle primordial dans la sélection naturelle, et donc dans l'évolution. La prévalence de plus en plus grande des manifestations mutagènes, tératogènes et cancérigènes provoquées par des pesticides et autres contaminants des écosystèmes, ainsi que la modification sensible de la capacité reproductrice (quand ce n'est pas le potentiel reproducteur), engendrent des effets à long terme sur la biodiversité qui nous interpellent. Comme l'ont souligné Stark et Banks (2003), les récents développements en écotoxicologie ont modifié la façon dont on évalue l'impact des pesticides. Aux effets spécifiques sur les individus sont venues s'ajouter les conséquences sur la dynamique des populations. Bien qu'il y ait au niveau mondial, et dans toutes les instances environnementales internationales, une plus grande préoccupation pour la préservation et le maintien de la biodiversité de tous les organismes de la planète, ce sont essentiellement les populations d'arthropodes qui font l'objet de recherches visant à démontrer l'impact des pesticides sur la disparition de certaines espèces.

Pour minimiser tous les effets décrits et empêcher une dégradation constante du milieu biotique, il est impérieux que l'on fasse davantage appel à des méthodes de lutte phytosanitaire moins toxiques. L'élimination complète des pesticides organiques de synthèse contribuera certainement à la réduction sensible, si ce n'est la disparition, des perturbations biochimiques qui affectent tous les organismes non visés par l'utilisation des pesticides. Les diverses méthodes innovatrices de lutte phytosanitaire nous montrent la voie à suivre pour protéger tous les éléments de notre environnement.

Références bibliographiques

Acton A.D., Gregorich L.J. (1995). *La santé de nos sols*. Publication 190LF. Agriculture et agroalimentaire, Ottawa, Canada.

Anonyme (1990). Carbofuran and burrowing owls. Working for Wildlife (bulletin printemps 1990). www.workingforwildlife.org.uk

Anonyme (1998a). *Assessment report. Arctic pollution issues*. Arctic monitoring and assessment program, Oslo.

Anonyme (1998b). Some "inerts" cause toxic hazard. *Pesticides News*, **39** : 11.

Anonyme (1998c). DDT fact sheet. *Pesticides News*, **40** : 18-20.

Anonyme (1999). Dicofol fact sheet. *Pesticides News*, **43** : 20-21.

Anonyme (2000a). Endosulfan fact sheet. *Pesticides News*, **47** : 20.

Anonyme (2000b). Pesticides in water – new PAN UK briefing. *Pesticides News*, **49** : 5.

Anonyme (2000c). Diazinon fact sheet. *Pesticides News*, **49** : 20-21.

Anonyme (2000d). High levels of DDT found in eggs. *Pesticides News*, **49** : 22.

Anonyme (2001). Licensed to cause cancer. *Pesticides News*, **51** : 18-19.

Becker P.R., Krahn M.K., Mackey E.A., Demiralp R., Schantz M.M., Epstein M.S., Donais M.K., Porter B.J., Muir D.C.G., Wise S.A. (2000). Concentrations of polychlorinated biphenyls (PCBs), chlorinated pesticides, and heavy metals and other elements in tissues of belugas, *Delphinaterus leucas*, from Cook Inlet, Alaska. *Marine Fisheries Review*, **62** : 81-98.

Besson J., Joly E., Touzeau J. (1974). Les actions secondaires des pesticides agricoles. *Phytoma*, **256** : 15-22.

Blais J.M., Schindler D.C.G., Donald D.B., Rosenberg B. (1998). Accumulation of persistent organochlorines in mountains in Western Canada. *Nature*, **395** : 585-588.

Bouguerra M.L. (1985). *Les poisons du Tiers-Monde*. Éditions La Découverte. Paris.

Brittenden W. (2000) Chlorpyrifos faces severe restrictions. *Pesticide News*, **49** : 16.

Brooks G.T. (1990). Lindane: Faraday's hidden legacy. *Pesticide Outlook*, **1** : 10-15.

Carter A.D. (1993). Pesticides in soil and water. *Pesticide Outlook*, **4** : 23-28.

Chiras D.D. (2001). *Environmental Science*. 6th edition. Jones & Bartlett. Sudbury, MA.

Coote D.R., Gregorich L.J. (2000). *La santé de l'eau*. Publication 2020F. Agriculture et agroalimentaire. Ottawa, Canada.

Crouzet P., Germain C., Filhol A. (1998). *Les pesticides dans les eaux*. Collection Études et Travaux n° 19. Institut Français de l'Environnement. Orléans.

Cunningham W.P., Cunningham M.A. (2004). *Principles of Environmental Science*, 2nd edition, McGraw Hill. New York.

Dewailly E., Ayotte P., Bruneau S., Gingras S., Belles-Isles M., Roy R. (2000). Susceptibility of infections and immune status in Inuit infants exposed to organochlorines. *Envir Health Pers*, **108** : 205-211.

Duffey S. (1976). Arthropod allomones: chemical effronteries and antagonists. *Proc. XV Int Congr Entomol*, Washington, D.C. : 323-394.

EPA (1990). EPA handbook. Ground water. Vol. 1. *Ground water and contamination*. September 1990. USEPA. Office of Research and Development. Washington, D.C.

EPA (1998). Dicofol. *Registration eligibility decision*. Office of pesticides programs. Washington, D.C.

FAO (2004). *Pesticides, as waterpollutants*. http://www.fao.org/docrep/W2598E/w2598e07.htm

FAO/OMS (1999). *Comprendre le Codex Alimentarius*, Éditions FAO-OMS, Rome.

Frauke J. (1996) *Crop protection policy in Thailand: economic and political factors influencing pesticide use*. GTZ/University of Hanover Publ Ser N° 5.

Freedman B. (2004). *Environmental Science. A Canadian perspective*. 3rd edition. Pearson, Prentice Hall. Toronto.

Fry D.M. (1995). Reproductive effects in birds exposed to pesticides and industrial chemicals. *Envir Health Pers*, **103** : 165-171.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Gobas F.A.P.C., Wilcokson J.B., Russell R.W., Haffner G.D. (1999). Mechanisms of biomagnification in fish under laboratory and field conditions. *Environ Sci Tech*, **33** : 133-141.

Guillette L.J., Gross T.S., Masson G.R., Matter J.M., Percival H.F., Woodward M. (1994). Development abnormalities of the gonad and abnormal sex hormone concentrations in juvenile alligators form contaminated and control lakes of Florida. *Envir Health Pers*, **102** : 680-688.

Hayes T.B., Collins A., Lee M., Mendoza M., Noriega N., Stuart A.A., Vonk A. (2002). Hermaphroditic, demasculinized frogs after exposure to the herbicide triazine at low ecologically relevant doses. *Proc Natl Acad Sci USA*, **99** : 5476-5480.

Hjertaas D., Brechtel S., De Smet K., Dyer O., Haug E., Holroyd E., James P., Scmutz J. (1995). *Plan national de rétablissement de la Chouette des terriers (Chevêche des terriers)*, Rapport n° 13, Comité de rétablissement des espèces canadiennes en péril, Ottawa.

Howe P.D. (1998). Predicting the effects of pesticides on birds. *Pesticide Outlook*, **9** : 13-17.

Hurtig H. (1972). Long-distance transport of pesticides. *In* Matsumura F., Boush G.M., Misato T. *Environmental toxicology of pesticides*. Academic Press, New York : 257-280.

IFEN (2002). Les pesticides dans les eaux. Bilan annuel 2002. Institut français de l'environnement, Orléans.

Janzen H.H., Desjardins R.L., Asselin J.M.R., Grace B. (1998). *La santé de l'air que nous respirons*. Agriculture et agroalimentaire, Ottawa, Canada.

Jodial-Villajero M.L. (1996). Organochlorine agrochemical residues in Spanish cheeses 1983-1995. *Pesticide Outlook*, **7** : 20-23.

Johnston P., McCrea A. (1992). *The effects of organochlorines on aquatic ecosystems*. Greenpeace International.

Khan S.U. (1980). *Pesticides in the soil environment*. Elsevier Scientific. Amsterdam.

Levin S.A., Harwell M.A., Kelly J.R., Kimball K.D. (1989) *Ecotoxicology: problems and approaches*. Springer-Verlag, New York.

Lindsay D.G. (1997). Pesticide residues in food: the need for fairer risk-benefit analysis. *Pesticide Outlook*, **8** : 6-10.

Lyons G. (1999). Endocrine disrupting pesticides. *Pesticide News*, **46** : 16-19.

Mbongwe B., Legrand M., Blais J.M., Kimpe L.E., Ridel J., Lean D. (2003). Dichlorodiphenyltrichloroethane in the aquatic ecosystem of the Okavango delta, Botswana, South Africa. *Environ Toxicol Chem*, **22** : 7-19.

McArthur M.L.B., Fox G.A., Peakall D.B., Philogène B.J.R. (1983). Ecological significance of behavioral and hormonal abnormalities in breeding ring doves fed an organochlorine chemical mixture. *Arch Environ Con Tox*, **12** : 343-353.

McEwen F.L., Stephenson G.R. (1979). *The use and significance of pesticides in the environment*. John Wiley & Sons, New York.

Morgan D.R. (1992). Pesticides and public health – a case for scientific and medical concern? *Pesticide Outlook*, **3** : 24-29.

Moriarty F. (1999). *Ecotoxicology. The study of pollutants in ecosystems*. 3rd ed., Academic Press, San Diego.

Newman M.C., Unger M.A. (2003). *Fundamentals of Ecotoxicology*. 2nd ed., Lewis Publishing, Boca Raton.

Nishida R. (2000). Sequestration of defensive substances from plants by Lepidoptera. *Annu Rev Entomol*, **47** : 57-92.

Peakall D.B. (1990). Prospects for the peregrine falcon, *Falco peregrinus*, in the nineties. *Canadian Field Naturalist*, **104** : 168-173.

Ramade F. (1992). *Précis d'Écotoxicologie*. Masson, Paris.

Root M. (1990) Biological monitors of pollution. *BioScience*, **40** : 83-86.

Rudd R.L. (1964). *Pesticides and the living landscape*. University of Wisconsin Press, Madison.

Santillo D., Johnston P., Tinger R. (1997). A catalogue of gross contaminations. Organochlorine production and exposure in India. *Pesticide News*, **36** : 4-6.

Schnoor D.L. (1981). Fate and transport of dielrin in Coralville reservoir: residues in fish and water following a pesticide ban. *Science*, **211** : 840-842.

Svett D.L. (1991). Enhanced insecticide degradation in soil – implications for effective pest control. *Pesticide Outlook*, **2** : 7-12.

Stark J.D., Banks J.E. (2003). Population level effects of pesticides and other toxicants on Arthropods. *Annu Rev Entomol*, **48** : 505-519.

Thiers P. (1997). Pesticides in China: policy and practice. *Pesticide Outlook*, **8** : 6-16.

Tyler C.R., Jobling S., Sumpter J.P. (1998). Endocrine disruptions in wildlife: a critical review of evidence. *Crit Rev Toxicol*, **28** : 319-361.

Tyrone B.H., Collins A., Lee M., Mendoza M., Noriega N., Stuart A.A., Vonk A. (2002) Hermaphroditic, demasculinized frogs after exposure to the herbicide atrazine at low ecologically relevant doses *Proc Natl Acad Sci USA*, **99** : 5476-5480.

Watterson A. (1999). Pesticides and reproduction – women farmers in Indonesia. *Pesticide News*, **44** : 12-14.

Wiles R., Davies K., Campbell C. (1998). *Overexposed: organophosphate insecticides in children's food*. EWG, Washington, D.C.

Wilkinson C.F. (1991). The health significance of pesticide residues in food and water. *Pesticide Outlook*, **2** : 27-32.

Wright R.T., Nebel B.J. (2002). *Environmental Science*. 8th edition, Pearson Education, New Jersey.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un delit

8

Les résistances aux herbicides chez les plantes adventices

Jacques Gasquez

Depuis une cinquantaine d'années l'usage des herbicides s'est généralisé en Europe et partout dans le monde. Malgré une augmentation régulière des fongicides, les herbicides représentent près de 50 % des pesticides utilisés dans le monde (www.uipp.org). Si les herbicides se sont autant développés, c'est bien parce que leurs qualités ont rapidement permis de faciliter la conduite de la plupart des cultures en réduisant de manière spectaculaire l'emprise des mauvaises herbes. Cependant, cette réussite a conduit à une systématisation de l'usage des herbicides les plus efficaces révélant, comme pour toute pression de sélection qui devient constante, la limite de la technique qui est la sélection de génotypes capables de supporter cette pression, autrement dit les génotypes résistants. La résistance à un herbicide est une caractéristique naturelle héritable qui permet à des plantes de survivre à des doses d'herbicide qui détruisent les autres individus de l'espèce De fait, des populations résistantes sont apparues chez de nombreuses adventices dans la plupart des pays. Ce phénomène est devenu le problème principal de la gestion des adventices dans la quasi-totalité des cultures (www.weedscience.com).

A priori, toutes les angiospermes sont sensibles à tous les herbicides, même les cultures le sont aux herbicides utilisés pour les désherber, pourvu qu'on applique une dose suffisante. La seule exception concerne les inhibiteurs de l'ACCase (acétyl-coenzyme A carboxylase) qui ne sont efficaces que sur l'ACCase des graminées (*cf.* chapitre 3). En développant les molécules herbicides, les techniciens des firmes ont cherché, et généralement réussi à trouver, des conditions de « sélectivité » qui permettent de contrôler les adventices sans affecter la culture. Seuls quelques herbicides comme le glyphosate ou le glufosinate sont considérés comme des herbicides totaux car il n'a pas été possible de trouver, pour aucune culture, des conditions de sélectivité.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Par le jeu des mutations génétiques naturelles, il existe, chez toutes les espèces, de très nombreuses variations qui créent du polymorphisme et qui portent sur l'ensemble des métabolismes et des comportements. Souvent ces variations sont indiscernables parce qu'elles n'affectent ni le comportement de la plante ni l'importance de sa descendance fertile (les mutations neutres n'ont pas d'effet sur la fitness). On démontre que, dans ce cas, ces mutations se maintiendront à la fréquence d'apparition dans la population quelles que soient les conditions. Si, de surcroît, elles sont récurrentes, la fréquence finale de l'ensemble peut être assez forte. Le premier traitement efficace révèlera leur présence, car parmi les plantes survivantes, celles-ci seront largement majoritaires et effectivement résistantes. Mais si cela suffisait à créer les conditions explosives de la résistance, il y en aurait partout dès le premier traitement efficace. En réalité, la montée de la fréquence des résistants (jusqu'à constituer parfois de grandes populations 100 % résistantes) est directement sous la dépendance du maintien de la pression de sélection par l'agriculteur qui, au fil du temps, continue à favoriser les seuls génotypes résistants.

Dans ce chapitre, nous verrons les différents mécanismes de résistance connus et la situation actuelle dans le monde, puis nous chercherons, parmi ces nombreuses situations, à déterminer si tous les herbicides sont susceptibles de donner les mêmes résistances et à quelle fréquence, si ces résistances apparaissent de la même manière chez toutes les espèces et s'il existe des conditions qui pourraient les favoriser. Enfin, on cherchera à voir s'il est possible de proposer aux agriculteurs des moyens d'éviter ce phénomène sans trop affecter les conduites des cultures tout en respectant les contraintes réglementaires.

1. Mécanismes de résistance observés

Pour pénétrer dans la plante, les herbicides doivent surmonter une série de barrières avant d'atteindre leur cible (*cf.* chapitre 3). Un herbicide foliaire, lorsqu'il est appliqué, doit traverser les cires et la cuticule, les membranes des cellules et atteindre sa cible, qui peut être très loin du point de pénétration, à condition de ne pas avoir été métabolisé avant. Ainsi, avec un tel cheminement qui peut être très long, des variations dans les différentes étapes, comme une pénétration ou un transport réduits sont susceptibles de créer des différences de comportement suffisantes pour rendre moins sensibles les plantes portant ces variations. En fait, malgré toutes ces sources de variation possibles, seuls deux mécanismes de résistance sont réellement connus : la mutation du gène de la cible et l'amplification de la détoxication. La séquestration reste encore à confirmer, les modifications de pénétration ou de transport étant rarement considérées.

1.1. La résistance par mutation du gène de la cible

Cette résistance est caractérisée par l'existence de cibles portant des modifications très limitées liées généralement à une mutation ponctuelle du gène. En effet, au

cours des très nombreuses divisions cellulaires, il apparaît de nombreuses mutations. Celles qui persistent sont généralement sans effet majeur sur la valeur sélective de la plante et peuvent être considérées comme neutres. Dans ce cas, elles s'accumuleront, totalement invisibles, jusqu'à leur sélection. La mutation qui modifie le site de fixation de l'herbicide, peut entraîner une absence totale d'affinité de l'herbicide pour sa cible. La plante survivra donc au traitement (puisque l'herbicide n'est toxique que sur ce site). Cette résistance confère généralement un niveau très élevé de résistance au produit responsable de la sélection, mille fois pour les triazines (Gronwald, 1994) et jusqu'à dix mille fois pour des endives résistantes aux sulfonylurées (Lavigne *et al.*, 1994).

Parce qu'elle concerne le site de fixation, la résistance s'étend souvent à tous les herbicides de la famille ainsi qu'à des familles qui ont la même cible. C'est le cas de la mutation sélectionnée par l'atrazine qui confère la résistance à la quasi-totalité des herbicides se fixant sur la protéine D1 (Gronwald, 1994). Cependant, lorsque plusieurs mutations sont apparues sur la même cible, on découvre qu'elles ne sont pas identiques et qu'elles peuvent conférer des spectres de résistance différents.

1.2. La résistance par détoxication

Lorsque l'herbicide entre dans les cellules, avant d'atteindre sa cible, comme tout xénobiotique, il peut être plus ou moins métabolisé selon la plante. De très nombreuses enzymes peuvent réaliser ces métabolisations par différentes voies : oxydation, réduction, hydrolyse et conjugaison. C'est le taux de métabolisation par rapport aux autres plantes de l'espèce, qui déterminera si la plante est résistante ou non.

Deux familles d'enzymes sont plus particulièrement actives dans ces mécanismes. Des monoxygénases à cytochrome P450 (P450) et des glutathion-S-transférases (GST). Produites en grande quantité, elles permettent à la plante de supporter des doses largement supérieures à celles que l'agriculteur applique. D'un point de vue évolutif, la détoxication des xénobiotiques, dès lors qu'elle existe dans chaque espèce, est certainement le premier mécanisme sollicité par une pression de sélection pour conduire à la résistance. C'est pourquoi on a observé de nombreux exemples de résistances de détoxication dans chaque famille importante d'herbicides (www.weedscience.com). Comme il s'agit d'une amplification du métabolisme, les niveaux de résistance restent limités à quelques fois la dose efficace sur les plantes sensibles (de deux à quelques dizaines de fois, très rarement de cinquante à cent fois). En effet, la cellule ne peut investir trop d'énergie dans un métabolisme particulier sans déséquilibrer son fonctionnement.

Par ailleurs, la gamme des résistances croisées de ce mécanisme est très difficile à prédire. En effet, les herbicides sont classés par familles et donc essentiellement en fonction de leurs modes d'action (ou par cible) (*cf.* classification des modes d'action selon l'*Herbicide Resistance Action Committee* (HRAC) (*cf.* chapitre 3)). Or, la résistance est liée au type de réaction catalysée par l'enzyme de détoxication. De ce fait, elle ne dépendra que de la présence ou non des fonctions chimiques

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

reconnues par l'enzyme et sera donc très largement indépendante du classement par familles ou modes d'action. Ainsi, une résistance de détoxication sélectionnée par un produit d'une famille donnée pourra permettre à la plante qui la porte de résister à un ou plusieurs autres produits de n'importe quelle famille, qu'ils aient ou non déjà été utilisés dans cette parcelle.

1.3. La séquestration

Dans certains cas, ni la cible, ni la détoxication ne peuvent être mises en cause. Ainsi, quand on utilise un herbicide marqué ayant été absorbé par la plante, on observe, par autoradiographie, qu'il se localise essentiellement entre les cellules sans que l'on sache s'il ne peut pénétrer dans la cellule ou s'il existe un mécanisme actif qui l'expulse dès qu'il y pénètre (Fuerst *et al.*, 1985). Ces observations n'ont été effectivement rapportées que pour des plantes résistantes au paraquat et ce mécanisme a été qualifié de « séquestration ».

1.4. Hérédités des résistances

Toutes les résistances dont les hérédités ont été déterminées mettent en jeu un minimum de gènes assurant une transmission maximale du caractère de résistance à la descendance. Ainsi, la résistance aux triazines est d'hérédité cytoplasmique, c'est-à-dire que, en théorie, tous les descendants d'un individu résistant seront résistants que le pollen fécondant soit ou non résistant. Toutes les autres résistances connues présentent une hérédité nucléaire monogénique. À part la résistance à la trifluraline chez l'éleusine des indes (*Eleusine indica*, Poacées) et une résistance à des hormones chez la centaurée du solstice (*Centaurea solsticialis*, Composées) (Sabba *et al.*, 2003), résistances qui sont récessives, toutes les autres sont semi-dominantes ou dominantes. Ainsi, l'autofécondation d'un individu résistant hétérozygote fournit jusqu'à 75 % de descendants résistants alors qu'un individu sensible pollinisé par du pollen résistant produira au moins 50 % de descendants résistants. Le seul cas qui pourrait être d'hérédité plurigénique est celui d'une population anglaise de vulpin (*Alopecurus myosuroides*, Poacées) résistante au chlortoluron et dans laquelle seraient mis en jeu au moins deux gènes indépendants (Chauvel, 1991).

2. *Distribution actuelle des résistances aux herbicides*

2.1. Dans le monde

Grâce à un site internet (www.weedscience.com) qui, par le biais de correspondants dans chaque pays, compile régulièrement les observations, 289 cas d'espèces résistantes différentes dans 59 pays étaient rapportés au printemps 2004. Ces citations concernent au total 172 espèces différentes. Près de 20 pays ont plus de 10 cita-

tions différentes. Ce nombre dépend, évidemment, de la taille du pays et de la diversité des cultures et des produits utilisés, mais aussi de l'intensité des recherches.

Certaines familles, très utilisées, ont sélectionné des résistances chez de nombreuses espèces, c'est le cas des inhibiteurs de l'ALS (acétolactate synthase) (84 espèces), des triazines (65 espèces). Les inhibiteurs de l'ACCase (34 espèces) représentent le troisième mode d'action par l'importance (tableau 1). Par opposition aux autres inhibiteurs, ils ne sont actifs que sur les graminées. Ces 34 espèces représentent en réalité la quasi-totalité des adventices sensibles à ces produits. On peut aussi remarquer que ce phénomène est devenu très général, car, parmi les 22 modes d'action répertoriés dans la classification HRAC (*cf.* chapitre 3), 18 sont confrontés à des résistances. Les autres modes d'action ne concernent que des familles d'herbicides peu utilisées voire désormais interdites dans la plupart des pays, comme les agents découplants.

Tableau 1 ■ Nombre total d'espèces adventices résistantes dans le monde et classées par modes d'action (HRAC : classification des modes d'action selon *l'Herbicide Resistance Action Committee*).
(http:// www.weedscience.com ; http://www.plantprotection.org/HRAC/)

Groupe ou familles d'herbicides	HRAC	Nb espèces
Inhibiteurs de l'ALS	B	84
Triazines	C1	65
Inhibiteurs de l'ACCase	A	34
Auxines de synthèse	O	24
Bipyridylium	D	22
Urées et amides	C2	20
Dinitroanilines	K1	10
Thiocarbamates	N	8
Glycines	G	6
Triazoles	F3	4
Chloroacétamides	K3	2
Inhibiteurs de la PPO	E	2
Inhibiteurs de la synthèse des caroténoïdes	F1	2
Acides arylaminopropioniques	Z	2
Nitriles	C3	1
Inhibiteurs de la méïose	K2	1
Organoarsénicaux	Z	1
Pyrazolium	Z	1
Total		**289**

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

2.2. En France

On a identifié des populations résistantes à des herbicides qui ont deux modes d'action. De la fin des années 70 à la première moitié des années 80, 24 espèces sont devenues résistantes aux triazines (inhibiteurs du photosystème II) par mutation de la cible (Gasquez et Darmency, 1990). Elles se sont étendues sur plus de deux millions d'hectares de maïs et de vigne, toutes zones où on utilisait systématiquement des triazines. Il s'agit principalement du chénopode blanc (*Chenopodium album*, Chénopodiacées), de la morelle noire (*Solanum nigrum*, Solanacées) et de l'amarante réfléchie (*Amaranthus retroflexus*, Amaranthacées).

À partir de 1993, quatre graminées, parmi lesquelles le *ray grass* (*Alopecurus myosuroides*, *Lolium sp.*) et les folles avoines (*Avena fatua* et *A. sterilis*), sont devenues résistantes aux inhibiteurs de l'ACCase par mutation de cible et détoxication dans les céréales d'hiver sur environ les deux tiers du territoire. Il faut cependant noter que, depuis l'interdiction récente des triazines en France, il serait plus juste de considérer qu'il n'y a que quatre espèces résistantes en France.

2.3. Remarques

Dans le tableau 2, on peut remarquer qu'il n'y pas de corrélation entre le nombre d'espèces résistantes dans un pays et le nombre de modes d'action concernés.

Tableau 2 ■ Nombre d'espèces adventices résistantes et nombre de modes d'action concernés par ces résistances pour quelques pays occidentaux.

Pays	Espèces	Modes d'action
États-Unis	108	14
Australie	41	13
Canada	39	10
Royaume-Uni	24	8
Belgique	18	7
France	28	2
Suisse	14	2
République tchèque	13	2

Ainsi, dans la plupart des pays présentés, de nombreuses espèces sont résistantes à de nombreux modes d'action.

Cependant, bien qu'il y ait un nombre d'espèces suffisant (il y a plus d'espèces en France qu'au Royaume-Uni ou en Belgique), on constate que les résistances observées ne portent que sur deux modes d'action. Comme il n'y a pas de raisons pour que ces trois pays aient moins de diversité de cultures et d'adventices que les autres, on pourrait relier cette situation à des politiques agricoles différentes.

Dans certains pays, l'agriculture intensive est très importante. Elle est développée comme un processus industriel en définissant et fixant *a priori* des conditions de production optimisées : choix d'un nombre minimal de cultures les plus rentables, des pratiques réduites au maximum, l'usage exclusif du meilleur herbicide. Une telle approche, qui est valable dans un processus industriel, l'est beaucoup moins quand on travaille avec des organismes vivants. L'agriculture manipule des espèces qui interagissent et évoluent en fonction des pressions de sélection successives. Aussi, au fil du temps, si l'espèce visée se maintient voire s'accroît, le processus choisi ne sera plus le meilleur, car l'évolution des espèces permettra, à terme, à la résistance de se développer. Or, dans ces pays, la seule réaction à l'échec est de choisir un autre herbicide qui va, à nouveau, sélectionner des plantes résistantes et, de recommencer, à chaque échec. Ainsi, en quelques années, malgré un petit nombre de cultures majeures, on a pu voir apparaître successivement, dans ces pays, des espèces résistantes à de nombreux herbicides ayant des modes d'action différents.

3. *Mécanismes de résistances associés aux principales familles d'herbicides*

Malgré le grand nombre de citations de résistances, peu de mécanismes sont bien connus : des mutations de cibles chez cinq familles et des détoxications chez une demi-douzaine de familles. Pour la plupart des familles d'herbicides, les hypothèses non confirmées sont nombreuses.

3.1. Les triazines (groupe HRAC : C1)

Historiquement, c'est le groupe d'herbicides pour lequel une résistance par mutation de cible est apparue pour la première fois chez le séneçon vulgaire (*Senecio vulgaris,* Composées) (Ryan, 1970). La quasi-totalité des 65 espèces citées dans le monde possède la même mutation portant sur le gène chloroplastique *psbA* ciblant la protéine D1 dans laquelle une sérine en position 264 est remplacée par une glycine (tableau 3). Un autre remplacement de la glycine 264 en thréonine a été sélectionné par du linuron seulement chez le pourpier des maraîchers (*Portulaca oleracea*, Portulacacées) (Masabni et Zandstra, 1999) qui confère à cette plante la résistance aux triazines et au linuron (urée substituée). Enfin, en 2000, une nouvelle mutation (valine 219 – isoleucine) a été observée chez le pâturin annuel (*Poa annua,* Poacées) (Mengistu *et al.*, 2000) qui confère aussi la résistance aux triazines et à plusieurs urées substituées dont le diuron.

Très peu de cas de détoxication ont été cités. Anderson et Gronwald en 1991 ont montré une augmentation de l'activité des GST chez des populations de l'abutilon de Théophraste (*Abutilon theophrasti,* Malvacées). L'ivraie raide (*Lolium rigidum,* Poacées) en Australie a aussi évolué vers la résistance grâce à une augmentation de l'activité des P450 (Burnet *et al.*, 1993).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau 3 ■ Liste des mutations de cible apparues chez des populations adventices sélectionnées au champ.

herbicides	Code HRAC	Position de l'acide aminé	Substitution	Nombre d'espèces
Triazines	C1	Ser 264	gly	64
			thr	1
		Val 219	Ile	1
Inhibiteurs de l'ALS	B	Ala 122	Thr	3
		Pro 197	His	3
			Thr	3
			Arg	1
			Leu	2
			Gln	3
			Ser	8
			Ala	4
			Ile	1
		Ala 205	Val	2
		Trp 574	Leu	10
		Ser 653	Thr	3
			Asn	1
Inhibiteurs de l'ACCase	A	Ile 1781	Leu	3
		Ile 2041	Asp	1
Dinitroanilines	K1	Tre 239	Ile	1
Glyphosate	G	Pro 106	Ser	1

3.2. Les inhibiteurs de l'ALS (groupe HRAC : B)

Les deux premières espèces résistantes ont été découvertes aux États-Unis. Après cinq années de traitement, il y avait jusqu'à 400 plantes résistantes par m^2 de kochia à balai (*Kochia scoparia,* Chénopodiacées) (Saari *et al.*, 1990) ou de laitue scarole (*Lactuca serriola,* Composées) (Mallory Smith *et al.*, 1990). Rapidement, il a été démontré qu'il s'agissait de résistances liées à une insensibilité de l'ALS. Depuis lors, plusieurs mutations ont été reconnues dans le gène chez la plupart des espèces. Cinq sites sont actuellement connus (Tranel et Wright, 2000) (tableaux 3 et 4).

La mutation la plus fréquente porte sur la proline en position 197 qui peut être remplacée par huit acides aminés différents. Beaucoup d'espèces ont été étudiées et on découvre que la plupart présentent au moins deux mutations différentes, et que,

Tableau 4 ■ Mutations connues et leurs substitutions conférant des résistances aux inhibiteurs de l'ALS.
(Sulfo : sulfonylurées ; Imid : imidazolinones ; Pyrimid : pyrimidinyl benzoates ; triazolo : triazolopyrimidines ; S : sensible, r : faible résistance, R : résistant.)

N° Acide Aminé	Substitution	Sulfo	Imid	Pyrimid	Triazolo
Ala 122	Thr	S	R	S	
Pro 197	His	R	r	S	r
	Thr	R	S		
	Arg	R	R	R	R
	Leu	R			
	Gln	R			
	Ser	R			
	Ala	R	S		R
	Ile	R	r		R
Ala 205	Val	r	r	r	R
Trp 574	Leu	R	R	R	R
Ser 653	Thr	S	R		S
	Asn	S	R		S

par exemple, *Kochia scoparia, ou* le coquelicot (*Papaver rhoeas*, Papavéracées) et la ravenelle (*Raphanus raphanistrum*, crucifères) présentent toutes la mutation en position 197 avec, respectivement, 6, 3 et 2 substitutions différentes (Tranel, et Wright, 2000) (tableau 3). Cette diversité est, en plus, corrélée à une diversité de résistances croisées (tableau 4).

Cinq familles différentes d'herbicides inhibent l'ALS : sulfonylurées, imidazolinones, triazolopyrimidines, pyrimidinylthiobenzoates, sulfonylaminocarbonyltriazolinones. Bien que tous les produits de chaque famille n'aient pas été testés sur chaque résistant, toutes les substitutions sur la pro197 semblent conférer la résistance à des sulfonylurées, ce qui n'est pas le cas de l'ala122 ou de la ser 653 qui, elles, confèrent spécifiquement la résistance à des imidazolinones. De plus les diverses substitutions sur la pro197 ont des conséquences différentes car elles peuvent soit se limiter aux seules sulfonylurées, soit conférer la résistance à des produits de quatre familles, comme la trp 574 (tableau 4).

Par ailleurs, il faut aussi noter que les résistants sélectionnés par des inhibiteurs de l'ALS présentent presque toujours des mutations de la cible. Les citations de résistance par détoxication à certains inhibiteurs de l'ALS ont en fait été répertoriées comme sélectionnées par des herbicides ayant d'autres modes d'action (cas du vulpin résistant au flupyrsulfuron (groupe B) sélectionné par le fénoxaprop (groupe A)). Il s'agit de résistances croisées.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

3.3. Les inhibiteurs de l'ACCase (groupe HRAC : A)

Ce sont les résistances les plus importantes apparues en Europe dans la dernière décennie. Chez les deux principales espèces (*Alopecurus myosuroides* et *Lolium sp.*) aussi bien des amplifications de métabolisation que des mutations de cible ont été sélectionnées. La détoxication peut être réalisée par des GST, notamment lorsque les plantes sont résistantes seulement au fénoxaprop (Tal *et al.*, 1993). Elle met aussi souvent en jeu des P450. Ce sont ces dernières qui peuvent donner des résistances croisées avec des inhibiteurs de l'ALS comme le flupyrsulfuron (Letouze et Gasquez, 2003). L'hypothèse de la résistance par mutation de la cible était avancée depuis longtemps, mais ce n'est que très récemment que des mutations ont été caractérisées. La première, découverte à la fois chez *Avena fatua* (Christoffers *et al.*, 2002), la sétaire verte (*Setaria viridis*, Poacées) et *Alopecurus myosuroides*, est une substitution ile-leu en position 1781 qui peut présenter plusieurs allèles (Delye *et al.*, 2002). La seconde chez *Alopecurus* est ile-asp en position 2041 (Delye *et al.*, 2004). Chacune est associée à des résistances croisées différentes. Il semble bien que, devant la diversité des résistances croisées observées au champ, d'autres mutations aient déjà pu être sélectionnées.

3.4. Les dinitroanilines (groupe HRAC : K2)

Connue depuis longtemps chez *Eleusine indica*, et *Setaria viridis*, la résistance à ces herbicides est due à une mutation du gène des α-tubulines (substitution de la thr239 en ile qui réduit très fortement la liaison avec les herbicides (au moins 60 fois) (Anthony *et al.*, 1998). Cette résistance est la première hérédité monogénique récessive décrite.

3.5. Les inhibiteurs du photosystème I (groupe HRAC : D)

C'est une famille d'herbicides pour laquelle il a d'abord été rapporté des résistances de détoxication qui mettent en jeu toute une série d'enzymes (des superoxydismutases, ascorbate-peroxydases, gluthation-reductases, déhydroascorbate-réductases, catalases et peroxydases) qui protègent le chloroplaste de l'oxydation produite par l'herbicide : (Shaaltiel *et al.*, 1988). Il a aussi été montré que chez l'érigeron crépu (*Conyza bonariensis*, Composées), la mobilité du paraquat est très réduite chez les résistants empêchant le produit d'atteindre le chloroplaste. Les auteurs ont proposé deux hypothèses pour expliquer ce type de résistance par séquestration : soit un mécanisme actif au niveau de la membrane qui rejette le paraquat à l'extérieur, soit l'herbicide est piégé dans l'apoplaste (Fuerst et Vaughn, 1990).

3.6. Le glyphosate (groupe HRAC : G)

Quelques espèces ont récemment développé des génotypes résistants à cet herbicide, le plus utilisé dans le monde depuis de nombreuses années. D'une part chez le *ray grass* en Australie, il a été observé des différences de migration de l'herbi-

cide qui se concentre à l'extrémité des feuilles chez les individus résistants alors qu'il descend jusque dans les racines chez les individus sensibles (Lorraine-Colwill *et al.*, 2002), ce qui semble indiquer un frein au transport jusqu'à la cible. D'autre part chez *Eleusine indica* une mutation de la pro106 en ser du gène de l'EPSP synthase (énolpyruvylshikimate phosphate synthase) est corrélée à une sensibilité cinq fois moindre de l'enzyme des résistants (Baerson *et al.*, 2002).

On peut aussi citer le premier exemple, au monde, de la sélection d'une adventice résistante au glyphosate après une dizaine d'années de cultures OGM résistantes à des herbicides. Dès 2000, sont apparus des vergerettes du Canada (*Erigeron canadensis*, Composées) résistantes dans des cultures de soja, puis de cotons transgéniques aux États-Unis (VanGessel, 2001). Le frein majeur à la culture d'OGM résistants à des herbicides en France est le risque de transfert du gène de résistance vers les adventices. Ce premier exemple tendrait à montrer que la fréquence de la résistance chez les adventices peut être plus élevée que celle du passage du gène de la culture vers des espèces apparentées sauvages.

4. *Peut-on définir quelques règles déterminant l'apparition et le développement des résistances ?*

4.1. Y a-t-il des herbicides qui donnent plus facilement des résistances ? Et lesquelles ?

Plus un herbicide (ou des herbicides à même mode d'action) est utilisé sur de grandes surfaces et de nombreuses cultures pour contrôler beaucoup d'espèces, plus il est susceptible de sélectionner des génotypes résistants. Cependant, toutes choses égales par ailleurs, tous n'ont pas sélectionné le même nombre de résistants.

La plupart des modes d'action de la classification HRAC concernent des familles récentes et très utilisées qui ont une enzyme pour unique cible. On distingue :

- l'inhibition de synthèse d'acides aminés (A, B, G) ;
- l'inhibition de synthèse de caroténoïdes (E, F1, F2) ;
- l'inhibition du métabolisme de l'ammoniac (H) ;
- le blocage des MTOC (centres organisateurs des microtubules) (I) ;
- l'inhibition de la synthèse de lipides (K3, N).

Selon la manière dont ils se fixent sur l'enzyme, ces herbicides peuvent être inhibiteurs compétitifs ou non compétitifs.

Cette dualité va avoir des conséquences évolutives très différentes. Plus une mutation réduit la fitness de la plante qui la porte, plus vite elle sera éliminée, car la plante sera alors très fortement contre-sélectionnée. Moins elle réduit la fitness, plus elle a de chance de se retrouver dans les générations suivantes et de se fixer au taux auquel elle est apparue. Par ailleurs, comme les mutations apparaissant au hasard, plus elles seront proches du site actif de l'enzyme, plus elles risqueront d'altérer le bon fonctionnement de l'enzyme et donc d'être contre-sélectionnées.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Au contraire, plus elles en seront loin et moins elles auront d'effet sur l'activité de l'enzyme, risquant ainsi de se fixer facilement. Ainsi, on aura plus de chances de trouver des mutations qui confèrent la résistance à des herbicides inhibiteurs non compétitifs parce qu'ils se fixent loin du site actif qu'à des herbicides inhibiteurs compétitifs parce qu'ils se fixent au niveau du site. Un herbicide inhibiteur compétitif ne peut sélectionner qu'un mutant apparaissant parmi les plantes traitées puisque la *fitness* réduite ne permet pas aux mutants de laisser suffisamment de descendance. En revanche, un herbicide inhibiteur non compétitif sélectionnera les porteurs de toutes les mutations récurrentes qui se sont succédées et accumulées depuis de très nombreuses années, parce que ces mutants produisent autant de descendance que les sensibles, en l'absence de la pression de sélection. Pour cet herbicide, la probabilité d'apparition de résistances par mutation de cible sera donc plus grande.

Il n'y a qu'une seule espèce qui a développé une résistance par mutation de la cible (*Eleusine indica*), bien que le glyphosate (inhibiteur compétitif de l'EPSP synthase) soit l'herbicide le plus utilisé au monde. Alors que les inhibiteurs non compétitifs, comme ceux de l'ALS, ont sélectionné très rapidement de très nombreuses espèces et mutations (13 substitutions en cinq points trouvées chez 85 espèces). Par ailleurs, quand les mutations sont fréquentes et nombreuses, elles masquent les éventuelles résistances de détoxication, grâce à leur avantage sélectif en présence d'herbicide. Ainsi, dans le cas des inhibiteurs de l'ACCase, les deux mécanismes séparés s'observent également mais ce n'est que par l'étude de descendances que l'on peut découvrir qu'une plante possède ou non les deux mécanismes.

À l'opposé, les autres types d'herbicides sélectionnent plus facilement des détoxications (cas des urées substituées, du paraquat) sans que l'on puisse facilement l'expliquer.

4.2. Y a-t-il des espèces chez lesquelles les résistances apparaissent plus rapidement ?

Les espèces les plus présentes dans le plus grand nombre de milieux avec les fréquences les plus élevées sont évidemment susceptibles d'être soumises à la pression de sélection de très nombreux herbicides et donc de sélectionner de nombreux résistants différents.

En ce qui concerne le régime de reproduction, on trouve, chez les adventices, aussi bien des espèces allogames préférentielles (grâce à des systèmes d'auto-incompatibilité) que des autogames strictes. D'un point de vue évolutif, les allogames qui distribuent mieux un gène dans l'espace et dans des génotypes différents seront plus souvent résistantes que les autogames. Ainsi, l'espèce autogame *Stellaria media*, Caryophyllacées (stellaire), n'a développé qu'une seule et unique population résistante aux triazines (en Allemagne). De même, cette espèce est devenue résistante aux inhibiteurs de l'ALS en Norvège, Suède, Danemark, Irlande et Royaume-Uni avec une seule population résistante par pays. De même quatre espèces de renouée (*Polygonum*, Polygonacées), toutes très autogames, ont développé dans plusieurs

pays, à chaque fois, une ou quelques rares populations résistantes aux triazines. À l'opposé, le vulpin et le *ray grass*, espèces très allogames, développent rapidement dans plusieurs pays de nombreuses populations résistantes. Chez les espèces sélectionnées par les inhibiteurs de l'ALS et les triazines, le nombre d'espèces autogames résistantes est très limité et, en général pour tous les groupes d'herbicides importants, il y a bien moins d'espèces résistantes autogames qu'allogames.

Par ailleurs, quel que soit le régime de reproduction, les espèces qui ont des dispositifs de dispersion des semences (*Senecio vulgaris, Erigeron canadensis, Lactuca serriola*, et l'épilobe à quatre angles *Epilobium tetragonum*, Œnothéracées) présentent des résistances à un plus grand nombre de produits.

On peut aussi se demander si les premières espèces résistantes à un produit ont des caractéristiques particulières. En analysant les premières citations pour les résistances les plus importantes aux herbicides à large spectre, on remarque que ces espèces partagent, soit le fait de disperser beaucoup leurs semences (*Senecio vulgaris, Erigeron canadensis, Epilobium tetragonum*), soit le fait d'en produire beaucoup (*Poa annua*, l'amarante *Amaranthus sp.*, Amaranthacées), soit enfin la propriété de germer à tout moment (*Poa annua, Erigeron canadensis, Epilobium tetragonum*). Toutes ces caractéristiques plaident en faveur du fait que la résistance apparaît d'autant plus facilement qu'il existe un très grand nombre de levées mais aussi que la plante peut germer loin du traitement, c'est-à-dire en présence de faibles doses. En conséquence, ces observations montrent aussi que généralement, et de ce fait, ce ne sont pas forcément les espèces majeures visées par l'herbicide ni les plus abondantes au moment du traitement qui sont les premières résistantes. Cependant, ceci n'est valable que pour les herbicides à large spectre. Si l'herbicide n'est dirigé que contre très peu d'espèces, comme c'est le cas des anti-graminées utilisables en céréales, les résistances apparaissent forcément chez les quelques espèces visées.

4.3. Y a-t-il des conditions liées aux systèmes de culture qui les favorisent ?

Même si les cultures annuelles ont depuis très longtemps sélectionné des espèces adventices adaptées aux perturbations régulières du milieu, elles n'ont jamais été assez sélectives au point de favoriser très fortement une ou deux espèces au détriment des autres. Avant les herbicides plusieurs dizaines d'espèces adventices coexistaient dans chaque culture. Depuis l'utilisation systématique des herbicides et la tendance à l'uniformisation des pratiques (simplification du travail du sol, de la rotation, utilisation du même herbicide) la pression de sélection s'intensifie au point qu'il est très fréquent de ne voir qu'une ou deux espèces extrêmement abondantes dominer quelques rares espèces très faiblement représentées. Ces conditions agronomiques extrêmement favorables à si peu d'espèces sont susceptibles de favoriser la sélection rapide de résistances chez ces espèces dès lors qu'un seul herbicide est utilisé comme unique moyen pour les contrôler. Par exemple, le développement de rotations courtes à base de céréales d'hiver a d'abord favorisé des graminées adventices (vulpin, folle avoine et *ray grass*) parce que l'on disposait surtout d'anti-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

dicotylédones. L'arrivée des anti-graminées spécifiques appliqués tous les ans sur des populations énormes de ces espèces a rapidement sélectionné des génotypes résistants qui ont envahi les parcelles parce que l'agriculteur n'était pas conscient qu'il fallait abandonner son herbicide tant qu'il avait une certaine efficacité qui ne s'exerçait malheureusement que sur les sensibles.

4.3.1. Doses

Pour différentes raisons (prix, pollution) et spécifiquement pour ces conditions très uniformes, la tendance est à la réduction des doses appliquées. Cette tendance est d'autant plus accentuée que les doses des nouveaux herbicides foliaires peuvent être modulées en fonction du stade des plantes et des conditions de milieu (l'humidité relative en particulier). On peut ainsi vouloir conduire une agriculture raisonnée simplement en réduisant les doses de l'herbicide que l'on connaît bien. D'autre part, pour des raisons strictement économiques, certains pensent qu'il serait intéressant de ne pas chercher à contrôler tous les individus d'une espèce (Swanton *et al.*, 1999). Ces pratiques fondées sur des considérations indépendantes du problème agronomique lié aux adventices peuvent, en terme d'évolution, s'avérer très dangereuses. Comme on commence à en prendre conscience avec les antibiotiques en médecine humaine que l'utilisation à tout propos d'un seul et unique antibiotique à faible dose ou pas assez longtemps conduit à la résistance.

En effet, on démontre en génétique des populations que des pressions de sélection intermédiaires optimisent la sélection et le développement de génotypes résistants. Ceci est transposable aux herbicides. Le glyphosate est certainement un bon exemple : dans certains milieux, utilisé à très forte dose contre toute espèce, en particulier les vivaces, il n'a encore sélectionné aucune résistance. En revanche, avec des doses réduites à peine suffisantes pour contrôler tous les individus de l'espèce, du *ray grass* résistant a été sélectionné en Australie puis dans d'autres pays. Ainsi, tout désherbage qui laisserait systématiquement quelques plantes sur le terrain, favorise évidemment les résistants qui sont statistiquement plus nombreux parmi ces plantes. D'autre part, les espèces résistantes étant généralement allogames, laisser délibérément des individus sensibles au milieu de résistants permet à l'espèce de disperser spatialement le gène de résistance, et sur des génotypes très différents, mais aussi d'augmenter la production de descendants résistants.

4.3.2. Pratiques culturales

Le défaut majeur de l'usage de l'herbicide est de sélectionner des individus résistants, car plus le traitement est efficace plus les plantes survivantes devraient être résistantes. En revanche, la constitution de populations résistantes énormes est directement liée au comportement des agriculteurs. Donc, au-delà de traitements mal conduits (essentiellement les doses réduites), les pratiques culturales sont directement en cause. Trois raisons peuvent être invoquées : d'une part la simplification et la systématisation des pratiques culturales et des rotations sont respon-

sables de la réduction du nombre des adventices (il n'en reste souvent qu'une ou deux, les conditions correspondant exactement aux exigences de l'espèce) ; d'autre part le choix exclusif du même herbicide, parce que considéré comme le « meilleur », sélectionne les résistants. Enfin, ajouté à cela, la lenteur à réagir devant la situation qui s'aggrave régulièrement complète les conditions idéales au développement des populations résistantes.

5. *Peut-on limiter ou retarder le développement de populations résistantes ?*

Pour gérer des situations parfois totalement catastrophiques, il est évident qu'il faut bannir le produit responsable de la sélection de la résistance et, quand on les connaît, les produits concernés par la résistance croisée. Il faut aussi chercher à réduire fortement et rapidement la population adventice. Puisque ce sont les conditions agronomiques qui sont à l'origine du développement de l'espèce (et pas seulement l'herbicide qui, lui, ne sélectionne que les génotypes qu'il ne peut détruire), il est clair qu'il faut les modifier en réintroduisant le travail du sol par le labour, en diversifiant les rotations et en retardant les dates de semis. Des expérimentations ont bien montré l'effet spectaculaire de telles pratiques (*cf.* chapitre 18), en particulier le décalage de la date de semis et l'introduction de cultures de printemps pour lutter contre le vulpin ou le *ray grass*.

Dès lors que l'on identifie les conditions qui favorisent une espèce et sélectionnent des génotypes résistants, l'introduction de conditions différentes va interférer avec sa dynamique. Mais il ne faut pas remplacer des conditions fixées par d'autres conditions fixes, au risque de sélectionner une autre espèce. Puisque ce sont des conditions de milieu stables qui sont à l'origine de ces situations, il faut absolument maintenir des conditions changeantes. Une semence a d'autant plus de chances de se développer facilement qu'elle va rencontrer les conditions dans lesquelles elle a été produite. L'agriculteur doit chercher à varier constamment ses pratiques, ses cultures, ses herbicides pour que les conditions de milieu qu'il définira ainsi soient aléatoires et de ce fait ne favorisent aucune espèce en particulier. En effet, les résultats des expérimentations agronomiques et de modèles simples montrent bien l'effet immédiat du changement de pratiques culturales, alors que le meilleur des herbicides ne peut pas contrôler totalement de grandes populations. En effet, un herbicide ne peut contrôler que les plantes levées, soit généralement moins de 10 % du stock de semences du sol, alors que la moindre des pratiques culturales affecte tout le stock. Dans cette recherche de variabilité, il faut aussi varier les pressions de sélection liées aux herbicides en agissant sur plusieurs paramètres :

– en adaptant, d'une année à l'autre, les produits à des cultures différentes ;

– en alternant, dans la même culture et d'une année sur l'autre ou en mettant en œuvre des programmes utilisant plusieurs produits efficaces sur la même adventice, voire des mélanges.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Dans ce dernier cas, si l'objectif est la prévention de résistances, les doses doivent être suffisantes pour que chaque produit soit susceptible de contrôler le maximum de plantes, même les éventuels résistants à l'autre produit. Ce n'est généralement pas le cas des mélanges actuels où l'on recherche une efficacité maximale avec la dose la plus faible et non pas le choix d'une dose retardant la sélection de résistants.

Conclusion

Le développement des résistances aux herbicides est le problème majeur posé par les adventices à l'agriculture intensive. Cependant, la gestion des adventices, apparemment plus simple que celle des maladies ou des ravageurs, n'est pas facilitée par l'évolution actuelle de l'agriculture. En effet, pour retarder ou éviter la sélection d'espèces puis, parmi celles-ci, de génotypes résistants à l'origine de populations incontrôlables, les conditions agronomiques (herbicides y compris) à retenir doivent impérativement être les plus diversifiées possibles afin de créer ainsi des conditions environnementales les plus variables possibles.

Or, sous l'influence combinée des législations, tant européenne que nationale, le nombre de molécules herbicides diminue dramatiquement. Ces réductions limitent dangereusement le nombre de modes d'action différents réduisant *de facto* la diversité des pressions de sélection herbicide. Par ailleurs, pour des raisons de pollution, mais aussi de coût, l'agriculteur, à son niveau, a tendance à réduire les doses appliquées. Le risque de sélectionner des résistances s'en trouve fortement multiplié. Ces résistances seront d'autant plus difficiles à enrayer en l'absence de solutions nouvelles. Les OGM résistants à des herbicides en sont une, mais posent d'autres problèmes (*cf.* chapitre 36).

De plus, pour des raisons essentiellement économiques, la tendance est aussi à la réduction du travail : pour survivre dans certaines régions, un agriculteur doit, de plus en plus, cultiver seul plusieurs centaines d'hectares, souvent répartis en de nombreuses parcelles parfois très éloignées. Or, dans les conditions actuelles, si on limite drastiquement l'usage des herbicides et aussi largement le travail dans le respect des contraintes agronomiques, le contrôle des adventices va vite devenir impossible si les exigences de rendement et de coût de l'agriculture ne sont pas modifiées.

Il faudra alors choisir entre le rejet de l'usage des herbicides et l'absence de travail du sol. Dans les conditions actuelles, les cultures sans travail du sol ne peuvent se passer d'herbicides durant la culture et l'interculture. À l'opposé, si l'on privilégie la durabilité, en visant des rendements moins élevés, on pourra recourir à un choix plus large de pratiques agronomiques, penser la gestion des adventices dans une succession de cultures. Il sera alors possible de réduire fortement (voire totalement) l'usage des herbicides, la contre-partie étant de nombreuses interventions mécaniques (exemple de l'agriculture biologique). Dans tous les cas, la solution viendra d'une meilleure prise en compte des connaissances d'agronomie actuelles et à acquérir.

Références bibliographiques

Anderson M.P., Gronwald J.W. (1991). Atrazine resistance in a velvet leaf (*Abutilon theophrasti*) biotype due to enhanced glutathione S transferase activity. *Plant Physiol*, **96** : 104-109.

Anthony R.G., Waldin T.R., Ray J.A., Bright S.W.J., Hussey P.J. (1998). Herbicide resistance caused by spontaneous mutation of the cytoskeletal protein tubulin. *Nature*, **39** : 260-263.

Baerson S.R., Rodriguez D.J., Tran M., Feng Y.M., Biest N.A., Dill G.M. (2002). Glyphosate-resistant goosegrass. Identification of a mutation in the target enzyme 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase. *Plant Physiol*, **129** : 1265-1275.

Burnet M.W.M., Loveys B.R., Holtum J.A.M., Powles S.B. (1993). Increased detoxification is a mechanism of simazine resistance in *Lolium rigidum*. *Pestic Biochem Physiol*, **46** : 207-218.

Chauvel B. (1991). *Polymorphisme génétique et selection de la résistance aux urées substituées chez* Alopecurus myosuroides *(Huds.)*. Thése de doctorat ès sciences, Université d'Orsay.

Christoffers M.J., Berg M.L., Messersmith C.G. (2002). An isoleucine to leucine mutation in acetyl-CoA carboxylase confers herbicide resistance in wild oat. *Genome*, **45** : 1049-1056.

Delye C., Wang T., Darmency H. (2002). An isoleucine-leucine substitution in chloroplastic acetyl-CoA carboxylase from green foxtail (*Setaria viridis* L. Beauv.) is responsible for resistance to the cyclohexanedione herbicide sethoxydim. *Planta* **214 :** 421-427.

Delye C., Straub C., Matejicek A., Michel S. (2004). Multiple origins for black-grass (*Alopecurus myosuroides* Huds) target-site-based resistance to herbicides inhibiting acetyl-CoA carboxylase. *Pest Manag Sci*, **60** : 35-41.

Fuerst E.P., Nakatani H.Y., Dodge A.D., Penner D., Arntzen C.Z. (1985). Paraquat resistance in Conyza. *Plant Physiol*, **77** : 984-989.

Fuerst E.P., Vaughn K.C. (1990). Mechanism of paraquat resistance. *Weed Tech*, **4** : 150-156.

Gasquez J., Darmency H. (1990). Herbicide resistance in France. *In* Cavalloro R., Noyé G., *Importance and perspectives on herbicide-resistant weeds*. Commission of the European Communities, Luxembourg, 81-94.

Gronwald J.W. (1994). resistance to Photosystem II inhibiting herbicides. *In* Powles S.B. and Holtum J.A., *Herbicide Resistance in Plants*. Lewis Publishers, Boca Raton, 27-60.

Lavigne C., Millecamps J.-L., Manac'h H., Cordonnier P., Matejiceck A., Vasseur J., Gasquez J. (1994). Monogenic semidominant sulfonylurea resistance in a line of white chicory. *Plant Breeding*, **113** : 305-311.

Letouze A., Gasquez J. (2003). Enhanced activity of several herbicide-degrading enzymes: a suggested mechanism responsible for multiple resistance in blackgrass (*Alopecurus myosuroides* Huds.). *Agronomie*, **23** : 601-608.

Lorraine-Colwill D.F., Powles S.B., Hawkes T.R., Hollinshead P.H., Warner S.A.J, Preston C. (2002). Investigations into the mechanism of glyphosate resistance in *Lolium rigidum*. *Pestic Biochem Phys*, **74** : 62-72.

Mallory Smith C.A., Thill D.C., Dial M.J. (1990). Identification of sulfonylurea herbicide-resistant prickly lettuce (*Lactuca serriola*). *Weed Technology*, **4** : 163-168.

Masabni J.G., Zandstra B.H. (1999). A serine-to-threonine mutation in linuron-resistant *Portulaca oleracea*. *Weed Sci*, **47 :** 393-400.

Mengistu L., Mueller-Warrant G.W., Liston A., Barker R.E. (2000). psbA mutation (valine219 to isoleucine) in *Poa annua* to metribuzin and diuron. *Pest Manag Sci*, **56** : 209-217.

Ryan G.F. (1970). Resistance of common grounsel to simazine and atrazine. *Weed Sci*, **18** : 614-616.

Saari L.L., Cotterman J.C., Primiani M.M. (1990). Mechanism of sulfonylurea herbicide resistance in the broadleaf weed, *Kochia scoparia*. *Plant Physiol*, **93** : 55-61.

Sabba R.P., Ray I.M., Lownds N., Sterling T.M. (2003). Inheritence of resistance to clopyralid and picloram in yellow starthistle (*Centaurea solsticialis*). *J Hered*, **64** : 523-527.

Shaaltiel Y.A., Glazer P., Biocion F., Gressel J. (1988). Cross tolerance to herbicidal and environmental oxidants of plant biotypes tolerant to paraquat, sulfurdioxide and ozone. *Pestic Biochem Phys*, **31** : 13-23.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Swanton C.J., Weaver S., Cowan P., Acker R., van Deen W., Shrestha A. (1999). Weed thresholds: theory and applicability. *J Crop Prod*, **2** : 9-29.

Tal A., Romano M.L., Stephenson G.R., Schwan A.L., Hall J.C. (1993). Glutathione conjugation: a detoxification pathway for fenoxaprop ethyl in barley, crabgrass, oat and wheat. *Pestic Biochem Phys*, **46** : 190-199.

Tranel P.J., Wright T.R. (2002). Resistance of weeds to ALS-inhibiting herbicides: What have we learned? *Weed Sci*, **50** : 700-712.

Van Gessel M.J. (2001). Glyphosate-resistant horseweed from Delaware. *Weed Sci*, **49** : 703-705.

9

Les mutations responsables de résistances aux insecticides

Claude Mouchès

L'utilisation des insecticides organiques de synthèse dès la fin de la Seconde Guerre mondiale a rapidement réduit l'incidence de nombreux insectes ravageurs ou vecteurs et remplacé, en agriculture, les méthodes ancestrales de contrôle. Mais ces premiers pesticides massivement utilisés, peu spécifiques, souvent rémanents et bio-accumulables, se sont vite avérés dangereux pour beaucoup d'espèces non visées, notamment la plupart des vertébrés et des invertébrés auxiliaires. Dans le même temps on assistait, à une vitesse surprenant gestionnaires de santé publique et agronomes, à la sélection chez de nombreuses espèces fléaux de populations résistantes aux biocides censés les contrôler. La résistance aux insecticides est un exemple des processus de microévolution darwinienne qui, avec d'autres mécanismes, ont permis au vivant de surmonter les changements environnementaux et de conquérir de nouveaux milieux.

La résistance résulte de la sélection, au sein de populations polymorphes, d'individus mutants mieux adaptés au toxique. Cette sélection a été particulièrement rapide et efficace chez les insectes, où l'utilisation massive et fréquente d'insecticides issus de seulement quatre classes chimiques et visant trois cibles moléculaires principales, a créé une situation particulièrement favorable au développement de la résistance. Cinquante ans après l'introduction de ces xénobiotiques dans les stratégies de contrôle, les mutations à l'origine de processus de résistance ont été identifiées dans un nombre limité de cas. Même s'il est encore trop tôt pour en tirer des conclusions définitives, quelques grandes lignes émergent d'ores et déjà des mécanismes de résistance décrits. En particulier, si des mutations très diverses peuvent en théorie conférer la résistance aux insecticides, certaines semblent plus fréquemment sélectionnées dans les populations naturelles, car elles confèrent des niveaux

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

de résistance efficaces, tout en ne représentant pas de trop lourds fardeaux génétiques et physiologiques chez les individus qui les portent.

L'objectif de ce chapitre est de présenter les mécanismes d'acquisition de résistances, les facteurs opérationnels qui ont favorisé leur sélection, les mécanismes physiologiques et mutations impliqués. Nous nous limiterons aux processus responsables de niveaux élevés de résistance dans les populations naturelles, ceux entraînant un accroissement considérable des doses et de la fréquence des traitements insecticides ou même ayant rendu ces derniers inopérants. Quelques mutations sélectionnées chez des insectes en élevage seront également évoquées, lorsqu'elles apportent des informations supplémentaires.

1. *La résistance acquise, un processus de micro-évolution darwinienne*

Les espèces sont différemment sensibles aux pesticides. Ces différences parfois considérables correspondent, chez certaines d'entre elles, à une tolérance dite « résistance innée » ou « phénotypique », qui peut interdire l'utilisation d'un biocide pour les contrôler. Elle peut être due à un grand nombre de facteurs comportementaux ou physiologiques : stratégies d'évitement, absence de pénétration du produit, insensibilité ou absence de cible potentielle, activités excrétrices élevées, systèmes de stockage et de métabolisation particulièrement efficaces. Les enzymes impliquées dans la tolérance constituent des mécanismes de défense à large spectre d'action et sont souvent inductibles par les toxiques et de nombreux autres stress. Une telle préadaptation, possédée par tous les membres d'une espèce, n'est pas le fruit d'un événement évolutif récent. Elle résulte d'un processus adaptatif ancien, souvent antérieur à la spéciation, sans lien direct avec la résistance au toxique impliqué, comme par exemple l'homéothermie responsable pour une part de la tolérance des animaux à sang chaud aux pyréthrinoïdes ou à de nombreux organochlorés.

La résistance acquise, celle qui met en danger l'efficacité d'un pesticide vis-à-vis des populations d'une espèce donnée, est le fruit de l'hétérogénéité génétique des populations. Au sein d'une espèce polymorphe, une ou plusieurs mutations génétiques survenues au hasard confèrent à certains individus une capacité à survivre à des conditions environnementales nouvelles (Raymond et Mouchès, 1986 ; Georghiou, 1990 ; McKenzie et Batterham, 1994 ; Roush et McKenzie, 1987). Le traitement par un pesticide d'une population initialement sensible sélectionne quelques individus mutants, dotés d'une plus grande capacité à survivre en présence du toxique que la majorité des individus originellement présents. Si la pression de sélection persiste, la proportion de porteurs de l'allèle de résistance augmente à chaque génération et la population va devenir en majorité ou en totalité composée d'organismes résistants. Cette résistance acquise, déterminée génétiquement et dite héréditaire, que nous appellerons dans la suite de cet article résistance tout court, résulte donc du polymorphisme intraspécifique et se traduit par un changement géné-

tique des populations évoluant en réponse à la sélection. Une fois la résistance fixée, c'est-à-dire dans une population exclusivement constituée d'individus homozygotes pour l'allèle de résistance, le retour à un état sensible implique soit une migration d'individus non dotés de l'allèle de résistance ou hétérozygotes pour celui-ci, soit une nouvelle mutation conduisant à une réversion du caractère de résistance.

Les processus de résistance prennent de l'importance dans des systèmes de contrôle qui se font en appliquant souvent et massivement les mêmes composés. Ils peuvent être gérés en diminuant la pression de sélection par emploi de doses réduites de pesticides et par utilisation séquentielle, en alternance dans le temps ou l'espace, de produits actifs sur des cibles différentes et susceptibles de ne pas être détoxiqués par les mêmes enzymes.

La résistance aux pesticides n'est donc qu'un des exemples des mécanismes micro-évolutifs que l'homme peut constater à l'échelle d'une génération. D'autres exemples spectaculaires sont ceux de l'évolution dans le Nord de l'Angleterre du mélanisme de la phalène du bouleau en réponse à la pollution industrielle (puis à la régression de celle-ci) (Mani, 1980), ou des changements de la taille du bec des pinsons des Galápagos selon les changements climatiques dus aux phénomènes d'oscillations australes El Niño et La Niña (Grant et Grant, 2002) ou encore, chez les mammifères, de la modification profonde du cycle reproductif de l'écureuil du Yukon par le réchauffement climatique (Reale *et al.*, 2003).

2. *Cinquante ans de lutte chimique ou des stratégies favorables à l'émergence de résistances*

L'utilisation massive des insecticides organiques issus de la chimie de synthèse dans la deuxième moitié du XX^{e} siècle a été indubitablement une catastrophe pour la plupart des populations d'insectes. Dans un premier temps, les principales espèces compétitrices de l'homme et de ses activités furent rapidement contrôlées. De fait, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) décrétait en 1980 que la malaria et les autres maladies tropicales transmises par insectes vecteurs seraient jugulées en l'an 2000. Un optimisme excessif amenait nombre d'organismes de recherche des pays développés à considérer que l'entomologie, la parasitologie ou la virologie étaient passées de mode. Mais ce n'était pas la première fois que la classe des insectes, antérieure au carbonifère et représentée aujourd'hui sur la Terre par plus d'un million d'espèces vivantes, avait à faire face à un changement environnemental drastique. Rapidement, il fallut déchanter et, à la fin du XX^{e} siècle, des insectes particulièrement nocifs pour l'homme ou l'agriculture sont devenus très difficiles à contrôler.

2.1. L'émergence rapide de la résistance aux insecticides

Dès 1914, la possibilité de développement de résistances des insectes aux composés chimiques avait été signalée (Melander, 1914). Mais les premiers cas de résis-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un delit

tance à un insecticide organique de synthèse, le dichlorodiphényltrichloroéthane ou DDT, ont été décrits dès 1947 (Weismann, 1947), très peu de temps après la première utilisation massive de cette molécule en 1943, lors de la campagne de l'armée américaine en Italie. Selon une compilation de données bibliographiques, déjà près de cinq cents espèces d'insectes fléaux présentaient des populations résistantes à au moins un insecticide dès 1983, alors que seulement quatorze cas de résistance étaient signalés en 1948 (Georghiou, 1983 et 1986).

En ce début de XXI^{e} siècle, la situation n'a fait qu'empirer. Dans de nombreux cas, des populations résistent à plusieurs insecticides et à des doses souvent plusieurs milliers de fois supérieures à celles efficaces cinquante ans auparavant. Même l'utilisation d'insecticides biologiques a sélectionné des populations résistantes. De nombreux cas de résistance à ces agents ont été sélectionnés en laboratoire, par exemple par le plus utilisé, *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) chez la pyrale des fruits secs *Plodia interpunctella* (Mc Gaughey, 1985) ; dès 1990, un premier cas de résistance à ce biopesticide a été détecté dans une population naturelle de teigne des crucifères *Plutella xylostella* (Tabashnik *et al.*, 1990). Il convient par ailleurs de remarquer que le nombre d'espèces fléaux ayant donné naissance à des populations résistantes est très certainement sous-estimé. D'une part, il n'a été recherché de façon systématique que pour les espèces les plus nocives pour l'agriculture et la santé humaine. D'autre part, le niveau de résistance ne peut être exactement évalué que chez des espèces pour lesquelles des populations « sensibles » de référence ont été maintenues protégées de l'action du pesticide concerné dès l'introduction de celui-ci.

Cette histoire du développement de la résistance n'est pas particulière aux insectes et aux insecticides (Georghiou, 1986). L'utilisation intensive des herbicides a conduit à la sélection de mauvaises herbes résistantes à ces produits : 48 adventices avaient développé une résistance à au moins un produit entre 1970 et 1984 (LeBaron, 1984) (*cf.* chapitre 8). Des résistances aux anticoagulants utilisés comme rodenticide ont été sélectionnées entre 1950 et 1958 chez le rat *Rattus norvegicus*. En fait, tous les pesticides utilisés massivement dans la deuxième moitié du XX^{e} siècle ont sélectionné des populations résistantes à partir de la plupart des espèces proliférantes compétitrices de l'homme ou de ses activités. En revanche, il semble que peu d'espèces de vertébrés et d'invertébrés auxiliaires ont donné naissance à des populations résistantes aux pesticides. D'une façon générale, ce sont manifestement les processus de résistance des insectes ravageurs et vecteurs aux insecticides qui ont été le plus rapidement et le plus efficacement sélectionnés. Cette rapidité de la sélection de populations résistantes aux insecticides chez ces fléaux peut être imputée à différents facteurs, traits de vie de celles-ci, mode d'activité des molécules insecticides ou stratégie de traitements.

2.2. L'impact des stratégies opérationnelles des traitements sur le développement de la résistance

Les stratégies opérationnelles de traitements ont très certainement joué un rôle majeur dans le développement de la résistance des insectes aux biocides destinés

à les contrôler. Quatre classes principales de molécules insecticides de synthèse ont été introduites massivement dans l'environnement de la planète en seulement 25 ans : les organochlorés, dont le DDT et les cyclodiènes chlorés (à partir de 1943), les organophosphorés (1945), les carbamates (1950) et les pyréthrinoïdes (1970) (*cf.* chapitre 1). Beaucoup de ces xénobiotiques ont été utilisés de façon continue après leur introduction et souvent plus ou moins conjointement. D'autres insecticides, neurotoxiques ou non, n'appartenant pas aux quatre classes majeures ci-dessus n'ont été que peu utilisés, ou trop récemment pour que des phénomènes de résistance aient pu être déjà sélectionnés.

Les organochlorés ont été utilisés les premiers car ils étaient peu coûteux et surtout non toxiques à court terme pour les animaux à sang chaud. Mais la plupart sont très stables, donc rémanents et parfois bio-accumulables. La campagne menée contre eux par les défenseurs de l'environnement, en particulier suite à la dénonciation de leurs effets collatéraux par Rachel Carson dans une série d'articles publiés dans *The New Yorker*, puis compilés dans *Silent Spring* (Carson, 1962), a abouti à l'interdiction au niveau international des plus persistants d'entre eux, dont le DDT, puis le lindane. Mais le DDT continue à être utilisé dans le tiers-monde et même un pays développé comme l'Afrique du Sud a repris son usage en l'an 2000 pour contrôler les populations d'*Anopheles funestus* résistantes aux pyréthrinoïdes, responsables d'une dramatique recrudescence de malaria (60 000 cas en 2000). De toute façon, la rémanence des organochlorés fait que leurs pressions de sélection peuvent s'exercer encore plusieurs années après arrêt de leur utilisation.

Les organophosphorés et les carbamates, directement issus de la technologie des gaz de combats neurotoxiques, ont été introduits peu après les précédents. La plupart sont très toxiques pour tous les animaux, mais ils présentent l'avantage d'être peu stables et donc non rémanents dans l'environnement. L'accident de Bhopal en Inde dans la nuit du 2 au 3 décembre 1984, dû à l'explosion d'un réacteur contenant le précurseur du carbamate aldicarbe et d'autres accidents ou incidents ont porté un frein sérieux à leur expansion (Shrivastava, 1987).

Les pyréthrinoïdes, plus coûteux, sont en général peu toxiques pour les animaux à sang chaud et très vite dégradés, en particulier par le rayonnement ultraviolet. Ils présentent l'inconvénient majeur d'être toxiques pour les animaux à sang-froid et leur coût initial élevé a ralenti leur utilisation, en particulier au niveau des pays les plus pauvres.

2.3. Le nombre limité des cibles moléculaires visées par les principaux insecticides utilisés au XX^{e} siècle, un élément favorable à la résistance

Un pesticide agit au niveau d'une cible principale, le plus souvent une enzyme, dont l'arrêt de fonctionnement entraîne rapidement la mort de l'organisme nuisible visé. Le développement de la résistance aux insecticides a été très certainement favorisé par le fait que les principaux produits actifs mis en œuvre dans la deuxième

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

moitié du XX^{e} siècle étaient tous des neurotoxiques visant seulement trois cibles moléculaires principales. Il s'agit de trois enzymes du système nerveux : l'acétylcholinestérase (AChE) cible des organophosphorés et des carbamates, le canal sodium voltage-dépendant (canal Na) cible de la majorité des organochlorés et des pyréthrinoïdes, le canal ligand-dépendant récepteur de l'acide γ-aminobutyrique (rGABA) cible des cyclodiènes chlorés.

Bien que ces modes d'action aient été évoqués au chapitre 1, il est nécessaire de préciser, au niveau moléculaire, les mécanismes en présence.

La cible de la plupart des organochlorés et des pyréthrinoïdes est le canal Na impliqué dans la transmission axonale de l'influx nerveux. Ce canal est responsable de la transmission rapide du potentiel d'action dans beaucoup de tissus excitables, incluant la plupart des neurones. La sous-unité α du canal Na est une structure symétrique avec quatre unités répétées ou domaines homologues (I à IV) dont l'assemblage forme le canal complet. Chacune de ces unités est elle-même constituée de six segments transmembranaires (S1 à S6). Les canaux Na des vertébrés et des invertébrés présentent beaucoup de similarités dans leur structure primaire, la disposition des domaines fonctionnels, leur électrophysiologie et le mécanisme de conductance des ions. Mais ils présentent aussi des propriétés pharmacologiques distinctes révélées par l'effet sur leur activité d'agents modifiant ou bloquant les canaux. Ces différences expliquent une part de la différence de toxicité des organochlorés et des pyréthrinoïdes vis-à-vis d'espèces distinctes. Mais leur action dépend bien sûr aussi de leur capacité à atteindre leur cible.

Les organochlorés de la famille des cyclodiènes quant à eux agissent sur un autre canal, le récepteur rGABA des synapses GABAergique. Ce canal pour l'ion chlorure, actionné par le neuromédiateur GABA, est constitué de quatre domaines transmembranaires, M1, M2, M3 et M4. D'autres classes plus récentes d'insecticides sont également actives sur les canaux ioniques : si les phénylpyrazoles tels le fipronil agissent aussi sur rGABA, la cible des néonicotinoïdes est le récepteur nicotinique de l'acétylcholine, alors que celle de l'ivermectine est une des sous-unités du canal chlore glutamate-dépendant.

Les organophosphorés et les carbamates inhibent la transmission de l'influx nerveux au niveau de la synapse en bloquant l'activité de l'AChE, qui termine la transmission nerveuse en catalysant l'hydrolyse du neurotransmetteur acétylcholine. Comme la transmission cholinergique est très conservée chez les espèces animales, ces anticholinestérasiques, substrats analogues de l'acétylcholine, sont très toxiques pour tous les animaux, mais ils présentent l'avantage d'être peu rémanents.

En réalité, un xénobiotique affecte en général plusieurs voies métaboliques de la cellule et tel est le cas de la plupart des insecticides de synthèse. Mais dans la mesure où les premiers insecticides de synthèse utilisés ont été choisis d'abord pour leur capacité à tuer rapidement, l'effet sur la cible principale d'un individu sensible masque les autres effets possibles qui n'ont que peu d'importance. Par contre, chez une espèce tolérante à l'effet immédiat de l'insecticide, les effets secondaires vont pouvoir se manifester.

2.4. Les traits de vie des insectes, déterminants importants de la résistance

Certains traits de vie particuliers, souvent propres aux espèces fléaux, ont eux aussi favorisé l'émergence de populations résistantes. En effet, la résistance d'une population est supposée évoluer plus rapidement si :

- la variabilité génétique initiale des populations exposées est importante ;
- le taux de reproduction et le renouvellement (*turn-over*) des générations sont élevés ;
- la proportion initiale de la population exposée et tuée est élevée ;
- le taux d'immigration depuis d'autres populations non exposées est faible.

Il est difficile d'évaluer la fréquence initiale avec laquelle surviennent des individus résistants dans les populations naturelles. Le taux de mutation varie d'une espèce à l'autre et selon le type de mutation (ponctuelle ou remaniement chromosomique), la région génomique concernée ou bien encore l'environnement de l'organisme. Les individus résistants issus de mutations ponctuelles sont probablement rares dans la majorité des cas, avec un taux de substitution neutre par site estimé communément à environ 4.10^{-9}. Mais la variation naturelle peut aussi résulter de remaniements chromosomiques. Chez les insectes, le génome de beaucoup d'espèces présente une densité élevée d'éléments génétiques mobiles, et des mutations associées à la transposition de ces séquences ou à leur redondance peuvent survenir à une fréquence beaucoup plus élevée que les mutations ponctuelles (Salvado *et al.*, 1994 ; Kaminker *et al.*, 2002). De toute façon, même si le taux de mutation initial est faible, le nombre considérable d'individus qui constituent les populations proliférantes des fléaux multiplie les chances que survienne un événement de mutation favorable à la résistance.

Des traitements tuant une forte proportion des individus sont un autre facteur favorable à l'installation de la résistance, les gènes porteurs de la mutation conférant celle-ci ne pouvant être rapidement dilués par les gènes de sensibilité initiaux. Par contre, les gènes de résistance seront dilués si les pressions de sélection sont faibles ou si des migrants issus de populations non exposées viennent se croiser avec des individus résistants. Cette dernière situation peut se produire lorsqu'existent des zones refuges ou si des immigrations périodiques viennent s'ajouter aux populations locales traitées.

La résistance une fois sélectionnée dans une population va ensuite s'étendre d'autant plus rapidement que celle-ci est apte à migrer, par ses propres moyens ou passivement par des vecteurs naturels, tels les courants atmosphériques ou océaniques, ou encore grâce à l'activité humaine, et que le stress qui l'a sélectionnée est généralisé dans l'espace et le temps. Les invasions historiques de ravageurs et de vecteurs de parasites ont amplement illustré le fait que beaucoup d'espèces d'insectes peuvent franchir des distances considérables. De plus, les transports modernes, automobiles, avions et bateaux ont grandement augmenté les possibilités d'invasion de populations résistantes ou non.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

3. *Les mécanismes physiologiques de la résistance*

Des processus comportementaux ne semblent pas avoir joué un rôle majeur dans la sélection de populations d'insectes résistantes aux quatre classes majeures d'insecticides neurotoxiques utilisés dans la deuxième moitié du XX^{e} siècle. Une telle résistance comportementale, qui peut dépendre ou non du stimulus, n'a que rarement une efficacité notable, par exemple chez certaines populations de moustiques intradomiciliaires. Les plus efficaces des mécanismes de résistance des insectes aux insecticides qui ont été sélectionnés à ce jour sont physiologiques : ils résultent de processus diminuant la sensibilité de la cible au toxique ou réduisant la dose de celui-ci atteignant cette cible.

Une diminution de la sensibilité de la cible à l'insecticide peut être due à une modification de la qualité de celle-ci, en particulier au voisinage du site actif de l'enzyme, ou à une augmentation de sa quantité. Une réduction de la dose de toxique atteignant la cible, quant à elle, peut résulter d'une barrière plus efficace à la pénétration de celui-ci au niveau de la cuticule ou d'autres téguments et à une augmentation des activités de détoxication, de séquestration et d'excrétion. Trois familles de protéines contribuent largement au métabolisme des insecticides : les monoxygénases à cytochrome P450, les carboxylestérases (CoE), les gluthation-S-transférases (GST) (Feyereisen, 1999). À ces enzymes détoxiquant le xénobiotique s'ajoutent des protéines pièges le séquestrant, comme par exemple certaines estérases ou les glycoprotéines P (pGp). Toutes ces enzymes neutralisant les toxiques sont extrêmement nombreuses dans les cellules, et toute mutation augmentant qualitativement ou quantitativement leur efficacité peut théoriquement être à l'origine d'un processus de résistance. De plus, il peut y avoir à long terme sélection séquentielle, chez certains individus, de gènes de résistance dont l'effet se surajoute. D'autre part, de nombreux cas de résistance croisée sont connus, c'est-à-dire que la résistance à un composé peut conférer la résistance à un autre produit n'appartenant pas forcément à la même famille chimique.

Plusieurs mutations à l'origine de modifications qualitatives ou quantitatives des enzymes impliquées dans la résistance des populations naturelles d'insectes ont été identifiées. De nombreuses autres mutations conférant la résistance ont été caractérisées dans des populations sélectionnées artificiellement en laboratoire. Bien que ces mutations, spontanées ou induites par mutagenèse, apportent des outils permettant de mieux comprendre les mécanismes de la résistance, ce sont surtout les mutations sélectionnées dans la nature et qui donc satisfont au nécessaire compromis efficacité de la résistance-valeur adaptative qui seront évoquées ici.

4. *Résistances dues à des mutations modifiant la sensibilité de la cible moléculaire de l'insecticide*

La sensibilité d'une cible à un toxique peut être réduite suite à une modification de sa séquence polypeptidique. Des résistances extrêmement élevées résultent de mutations ponctuelles survenues dans les régions codantes du gène de la cible et modifiant un seul de ses acides aminés. Ce type de mutation de résistance a été observé pour les trois cibles moléculaires majeures des insecticides neurotoxiques, AChE, canal Na et canal rGABA. La sensibilité de la cible peut être aussi réduite par une synthèse accrue de cette enzyme, mais ce type de mutations ne semble pas apporter de taux de résistance très élevés.

4.1. Mutations ponctuelles modifiant structurellement la cible des xénobiotiques neurotoxiques

Une mutation ponctuelle unique modifiant la séquence polypeptidique du canal rGABA suffit à conférer la résistance aux cyclodiènes chez beaucoup d'espèces. Chez *Drosophila*, une résistance efficace à ces produits est conférée par une mutation ponctuelle substituant une sérine à l'alanine en position 302 dans le domaine transmembranaire M2 du rGABA (allèle *Rdl* « *resistance to dieldrin* ») (ffrench-Constant *et al.*, 1993). L'acide aminé concerné joue un double rôle : il occupe le site de liaison de l'insecticide au récepteur et insensibilise celui-ci en déstabilisant l'état de la cible préféré par le toxique. Ce remplacement de l'alanine 302 du rGABA par une sérine ou une glycine est survenu chez un large éventail d'espèces d'insectes, appartenant à des ordres différents (Thomson *et al.*, 1993). Une telle identité des mutations, conférant la résistance chez des espèces parfois très éloignées, constitue un exemple remarquable d'évolution parallèle. Cette conservation suggère que même si d'autres polymorphismes jouant le même rôle sont théoriquement possibles, ce sont toujours les mêmes mutations individuelles qui sont systématiquement sélectionnées et retenues, car elles conduisent à un haut niveau de résistance pour un faible coût adaptatif. En outre, chez le Coléoptère ravageur des grains *Tribolium castaneum*, des mutations identiques du gène rGABA conférant la résistance aux cyclodiènes ont été sélectionnées plusieurs fois indépendamment au niveau mondial, avec plusieurs allèles différents qui ont été ensuite diffusés sur l'ensemble de la planète par les transports de grains infestés (Andreev *et al.*, 1999).

Des mutations ponctuelles des régions codantes du gène du canal Na sont responsables de hauts niveaux de résistance au DDT et aux pyréthrinoïdes ; elles aussi sont conservées, dans la même position, chez des espèces différentes, constituant un autre exemple d'évolution parallèle. Chez la blatte *Blatella germanica*, la mouche *Musca domestica* et de nombreux autres insectes, une mutation ponctuelle dans l'exon codant le segment transmembranaire S6 du domaine homologue II confère le phénotype *kdr* (*knock-down resistance*) (Williamson *et al.*, 1996 ; Miyazaki *et al.*, 1996 ; Smith *et al.*, 1997 ; Lee *et al.*, 1999). Chez un autre allèle

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

de résistance, la mutation *kdr* est associée à un autre changement d'acide aminé dans la séquence polypeptidique intracellulaire joignant S4 et S5. Le double mutant confère le phénotype *super-kdr* doté d'une résistance plus élevée. Chez des drosophiles *Drosophila melanogaster* mutagénéisées par l'EMS (éthylméthane sulfonate) et initialement sélectionnées pour un phénotype de paralysie codé par le gène du canal Na *para*, la résistance à l'alléthrine résulte de mutations très similaires à *kdr* et *super-kdr*, mais cette fois dans le domaine III. Ce fait suggère que le site de liaison du toxique est effectivement constitué par des résidus des quatre domaines homologues et que des mutations affectant un quelconque des domaines peuvent altérer sa fixation (Pittendrigh *et al.*, 1997). Mais pour une raison particulière, seules des mutations survenues dans le domaine homologue II ont été sélectionnées dans la nature. L'analyse de souches résistantes aux pyréthrinoïdes chez un large éventail d'espèces révèle que les mutations responsables sont toujours situées aux mêmes niveaux du gène du canal Na, de façon similaire à la situation constatée précédemment pour le gène rGABA.

Une mutation ponctuelle unique survenue dans l'un des deux gènes d'acétylcholinestérase, *Ace-1*, confère de hauts niveaux de résistance aux organophosphorés et carbamates chez les moustiques *Culex pipiens* et *Anopheles gambiae*. La mutation d'une base d'un exon du gène a substitué une sérine à la glycine 119 située dans la gorge de l'enzyme, plus précisément près du site catalytique et contigu au puits oxyanion (Weil *et al.*, 2003). Cette mutation ponctuelle de résistance est survenue, et a été sélectionnée indépendamment, au moins trois fois chez les insectes, deux fois dans le complexe d'espèces *C. pipiens*, chez *C. p. pipiens* et *C. p. quinquefasciatus* et une fois chez *A. gambiae*. Chez *D. melanogaster*, de faibles niveaux de résistance résultent de l'effet combiné d'au moins sept substitutions d'acides aminés issues chacune de mutations ponctuelles survenues dans l'unique gène d'acétylcholinestérase, *Ace-2* (Mutero *et al.*, 1994) ; la résistance conférée par chaque substitution est faible, même si leur combinaison au sein du même gène, vraisemblablement par recombinaisons intracistroniques, produit une enzyme plus résistante.

4.2. Mutations modifiant la quantité de la cible

De faibles niveaux de résistance sont conférés par des mutations qui modifient la quantité de la cible, que ce soit dans le cas d'une sous ou d'une surexpression de l'AChE ou du canal Na, par exemple suite à une duplication du gène de structure. Ces taux de résistance sont toujours très faibles, mais ils peuvent se surajouter à d'autres mécanismes.

5. *Résistances aux insecticides dues à des mutations augmentant des activités de détoxication*

L'augmentation des activités de détoxication des insecticides par métabolisation ou piégeage est un autre mécanisme majeur de résistance à ces toxiques. Une détoxication plus efficace peut résulter de la synthèse accrue d'une enzyme suite à l'amplification de son gène de structure ou à une mutation augmentant l'expression de celui-ci au niveau de la transcription ou de la traduction. Elle peut aussi être due à une ou plusieurs mutations ponctuelles modifiant la spécificité de l'enzyme de détoxication vis-à-vis du substrat.

5.1. Amplifications géniques augmentant la quantité d'une enzyme piégeant le toxique

Dans la plupart des cas où la résistance est due à une augmentation des activités de détoxication, celle-ci résulte de l'amplification d'un gène codant une estérase qui, accumulée dans les individus résistants, séquestre les insecticides. Ainsi, les moustiques *C. p. quinquefasciatus* de Californie résistent-ils à l'organophosphoré téméphos grâce à l'amplification d'un gène d'estérase (Mouchès *et al.*, 1986). Chez les individus résistants (facteur de résistance 800), le gène d'estérase B1 est amplifié à 250 copies et la quantité d'enzyme synthétisée est 500 fois plus élevée que chez les individus sensibles, l'estérase représentant à elle seule environ 15 % des protéines de l'insecte (Mouchès *et al.*, 1985 et 1987 ; Fournier *et al.*, 1987). Le gène de l'estérase est amplifié au sein d'un amplicon de plus de 30 Kb (Mouchès *et al.*, 1990). Chez *C. p. quinquefasciatus* et *C. p. pipiens*, l'amplicon contient un ou deux locus estérase, avec dans ce dernier cas surexpression des deux enzymes. Au moins huit amplicons différents sélectionnés par l'utilisation des organophosphorés se sont diffusés dans différentes régions du monde (Raymond *et al.*, 1991 ; Hemingway et Karunaratne, 1998). Dans les populations naturelles, l'amplicon est le plus souvent présent à environ 80 copies, conférant un facteur de résistance voisin de 100. Des amplifications similaires de gènes d'estérases de piégeage ont été décrites chez plusieurs autres espèces, par exemple chez l'aphide *Myzus persicae* où deux estérases, E4 et sa version tronquée FE4, sont surexprimées grâce à l'amplification de leurs gènes de structure respectifs, conférant une résistance croisée aux organophosphorés (facteur de résistance voisin de 60) et aux pyréthrinoïdes (Field *et al.*, 1988 ; Field et Devonshire, 1998).

Le processus d'amplification génique est encore mal connu, mais l'amplification de séquences en tandem est un processus très fréquent chez les eucaryotes : elle est à l'origine de familles multigéniques, de nombreuses séquences centromériques et des séquences satellites. L'unité répétée est le plus souvent courte, mais parfois des séquences longues de plusieurs milliers de base sont hautement répétées, par exemple les mégasatellites. À partir d'un événement créant deux ou plusieurs copies d'une séquence, celle-ci peut continuer à être amplifiée à de hauts niveaux par des

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

processus très efficaces, glissements replicatifs et crossing-over inégaux. *A priori* tout gène peut être amplifié par ces processus, à condition que la valeur adaptative des individus porteurs de l'amplification ne soit pas trop affectée. L'amplification de gènes d'estérases pourrait-être plus fréquente que celle d'autres gènes, car une activité élevée de certaines de ces enzymes n'affecterait que de façon modérée la valeur adaptative des individus concernés.

5.2. Transcription accrue du gène d'une enzyme de dégradation de l'insecticide

La résistance de *D. melanogaster* au DDT est associée à la transcription accrue du gène *Cyp6g1*, qui entraîne au niveau protéique la surexpression du cytochrome P450 codé par ce gène (Daborn *et al.*, 2002). Cette régulation amont de la résistance résulte de l'insertion d'une copie partielle de l'élément transposable *Accord* dans l'extrémité 5' du gène *Cyp6g1*. Cette mutation répandue au niveau mondial confère une résistance croisée à un large éventail d'insecticides appartenant à des classes différentes tels le DDT, les néonicotinoïdes, des organophosphorés et des régulateurs de croissance (lufénuron).

5.3. Mutations ponctuelles modifiant structurellement une protéine de métabolisation

La résistance insecticide peut aussi résulter d'une mutation ponctuelle qui, modifiant la séquence d'un enzyme de détoxication, augmente l'activité de métabolisation de celle-ci vis-à-vis du pesticide. Ainsi, chez les Diptères *Lucilia cuprina* et *M. domestica*, des résistances croisées à large spectre aux organophosphorés résultent de substitutions dans la carboxylestérase E3. De modestes niveaux de résistance à la plupart des organophosphorés (4 à 30 fois) sont dus à la substitution de la glycine 137 en acide aspartique ; la substitution indépendante du tryptophane 251 en leucine ou une sérine confère quant à elle une résistance de plus haut niveau (100) aux organophosphorés dotés de liaisons carboxylester et phosphoester tels le malathion (Newcomb *et al.*, 1997 ; Campbell *et al.*, 1998 ; Claudianos *et al.*, 1999 ; Heidari *et al.*, 2004).

6. Les résistances aux bio-insecticides : des mutations modifiant la qualité de la cible

La constatation que les agents biologiques sélectionnent rarement et tardivement des populations résistantes est probablement liée au fait que leur utilisation parcimonieuse et leur efficacité opérationnelle souvent faible n'ont jusqu'à présent pas exercé des pressions de sélection suffisantes sur de longues périodes. Néanmoins, des populations naturelles devenues résistantes à *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), le

plus utilisé des biopesticides, ont été décrites pour la teigne *Plutella xylostella* dès 1990 (Tabashnik *et al.*, 1990) et d'autres espèces sont concernées. Surtout, des souches résistantes à *Bacillus thuringiensis* et *B. sphaericus* sont aisément sélectionnables en laboratoire, par exemple des pyrales *Plodia interpunctella* résistantes à *Bt* (Mc Gaughey, 1985). À ce jour, trois mutations de résistance aux biopesticides ont été décrites : elles affectent toutes une cible de l'entomotoxine.

Chez *Heliothis virescens*, Lépidoptère ravageur majeur du coton et d'autres cultures des Amériques, une mutation sur un seul gène est responsable de 40 à 80 % d'un niveau de résistance de 10 à la toxine Bt-Cry1Ac. Ce gène code chez les populations naturelles sensibles une protéine de la superfamille des cadhérines ; chez les individus résistants, il est interrompu par l'insertion d'une copie délétée d'un rétrotransposon, Hel-1 (Gahan *et al.*, 2001).

La résistance du nématode *Caenorhabditis elegans* à la toxine Bt-Cry5B est due à une mutation dans le gène de la β-1,3-galactosyltransférase (Griffitts *et al.*, 2001). Chez les individus sensibles, cette enzyme attache des lipides, des protéines et des carbohydrates, ces derniers jouant peut-être le rôle de récepteurs de la toxine. Chez le mutant résistant, celle-ci passe directement à travers la lumière intestinale et, n'entrant pas dans les cellules de l'intestin, ne peut le détruire.

Un très fort niveau de résistance de *C. pipiens* à la toxine binaire de *B. sphaericus* (environ 100 000) est conféré par la perte du récepteur cible de la toxine, la maltase-1 ; chez les larves sensibles, cette α-glucosidase est ancrée *via* un glycosylphosphatidylinositol aux cellules épithéliales de l'intestin moyen. Chez les individus résistants, une mutation ponctuelle a converti la leucine 569 (qui ne fait pas partie du site de reconnaissance de la toxine) en codon stop ; du fait de cette traduction précocement terminée, la protéine aboutit dans le compartiment extracellulaire et la toxine ne peut plus interagir avec la membrane épithéliale (Darboux *et al.*, 2002). De futurs travaux diront si de telles mutations sélectionnées en laboratoire n'ont pas un coût adaptatif excessif et sont effectivement impliquées dans la résistance des populations naturelles.

7. *Résistance et espèces non visées de la faune sauvage*

Si des populations résistantes aux insecticides ont très rapidement émergé chez de nombreuses espèces fléaux, la plupart des invertébrés auxiliaires des activités humaines et des vertébrés n'ont pas généré de populations naturelles résistantes à ces toxiques. Seuls quelques cas de résistance ont été sélectionnés chez des auxiliaires, en particulier des acariens prédateurs *Phytoseiidae* utilisés en lutte biologique, *Amblyseius fallacis*, *Phytoseiulus persimilis* ou *Metaseiulus occidentalis*.

Le premier exemple de vertébrés à avoir développé une résistance aux organochlorés est le poisson *Gambusia affinis* prédateur de moustiques, qui est devenu résistant au métabolite du DDT, le DDE (dichloro-diphényl-éthane) et au toxaphène dans la partie aval de la vallée du Rio Grande au Texas (Andreasen, 1985). Mais

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

aucun cas de résistance aux insecticides n'a été mis en évidence chez les oiseaux, alors même que le fort déclin de beaucoup de leurs populations a été imputé à une chute de fertilité due à une intense contamination par les organochlorés (Newton, 1988 ; Kubiak *et al.*, 1989).

Le fait que des résistances physiologiques aux insecticides n'aient pas été sélectionnées chez les oiseaux et la plupart des autres vertébrés est très probablement lié à certains de leurs traits de vie et au faible polymorphisme de leurs populations. D'une part, ces espèces sont constituées par des populations numériquement bien moins nombreuses que les invertébrés fléaux, et leur taux de reproduction et de renouvellement sont également beaucoup plus faibles. D'autre part, leur polymorphisme intraspécifique est limité par rapport à celui des invertébrés. Ainsi, chez les populations européennes de *Cinclus cinclus*, passereau au sommet des chaînes trophiques se nourrissant principalement de larves d'invertébrés des rivières, les régions codantes du gène d'une estérase de détoxication présentent un taux de polymorphisme extrêmement faible (Mouchès *et al.*, résultats non publiés). Un aussi faible polymorphisme des enzymes de détoxication des insecticides, mais aussi des protéines cibles, est très défavorable à l'émergence de populations résistantes grâce à des processus physiologiques. Par contre, des processus de résistance comportementale ont pu jouer un rôle non négligeable dans la réponse d'organismes non visés par les insecticides : des populations d'oiseaux ou de mammifères ayant des comportements atypiques par rapport à leurs congénères ont peut-être été sélectionnées, mais les gènes gouvernant ces comportements sont pour l'instant inconnus.

Conclusion

Les stratégies de lutte chimique conduites depuis un demi-siècle contre les principaux insectes ravageurs ou vecteurs ont très fréquemment sélectionné des populations résistantes, capables de survivre et de se reproduire en présence de concentrations de plus en plus élevées des xénobiotiques utilisés. En fait, la résistance aux pesticides illustre spectaculairement les capacités du vivant à s'adapter à des environnements hostiles.

Chez les insectes fléaux, des mutations très diverses semblent pouvoir conférer une résistance aux insecticides. Mais les processus de résistance les plus efficaces fréquemment sélectionnés dans les populations naturelles sont des mutations ponctuelles conférant aux protéines cibles une moindre sensibilité au toxique et des remaniements chromosomiques augmentant l'efficacité des enzymes de détoxication et/ou de séquestration des xénobiotiques (tableau 1). D'autres types de mutations affectant la cible ou les systèmes de détoxication sont également parfois impliqués, mais semblent conférer des niveaux de résistance inférieurs. Surtout, les résultats obtenus à ce jour montrent que les caractères de résistance les plus efficaces qui ont été sélectionnés ne sont pas des traits de résistance polygéniques combinant des facteurs de résistance préexistant fréquemment et dotés chacun d'effets mineurs. Au contraire, les traitements insecticides massifs appliqués depuis un demi-siècle

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau I ■ Principales mutations génétiques responsables de résistances aux insecticides sélectionnées dans les populations naturelles d'insectes.

Mécanisme physiologique	Type de mutation	Région génique concernée	Conséquence biochimique	Enzyme(s) affectée(s)	Résistance conférée	Espèce(s) concernée(s)
Diminution de la sensibilité de la cible à l'insecticide	Mutation ponctuelle	Exon codant la protéine cible	Modification qualitative de la protéine cible	Canal ionique ligand-dépendant récepteur GABA	Cyclodiènes chlorés	*D. melanogaster*
				Canal ionique voltage-dépendant Na	DDT et pyréthrinoïdes	*B. germanica* *M. domestica*
				Acétylcholinestérase	Organophosphorés et carbamates	*C. pipiens* *A. gambiae*
Augmentation de la neutralisation et/ou de la détoxication de l'insecticide	Mutation ponctuelle	Exon codant une enzyme de détoxication	Modification qualitative de l'enzyme de détoxication	Carboxylestérase E3	Organophosphorés	*L. cuprina* *M. domestica*
	Remaniement chromosomique : amplification génique	Large amplicon recouvrant le gène d'une protéine piège	Surproduction de la protéine piège	Estérases B	Organophosphorés (Téméphos)	*C. pipiens*
				Estérases E4/FE4	Organophosphorés et pyréthrinoïdes	*M. persicae*
	Remaniement chromosomique : insertion d'un élément transposable	Promoteur du gène d'une enzyme de détoxication	Surproduction de l'enzyme de détoxication	Cytochrome à P450 *Cyp6g1*	DDT	*D. melanogaster*

sur les populations naturelles d'insectes ont plutôt sélectionné un petit nombre de gènes dotés de mutations rares mais d'un effet majeur, selon un schéma de réponse monogénique (McKenzie et Batterham, 1994 ; Roush et McKenzie, 1987). Une fois installés dans les populations, les différents gènes de résistance peuvent, par le jeu des échanges génétiques intraspécifiques, être séquentiellement additionnés chez certains individus, avec des effets qui se surajoutent.

Selon un processus typique d'évolution parallèle, certaines mutations de résistance sont hautement conservées d'une espèce à une autre, suggérant qu'elles sont individuellement sélectionnées de façon répétée parce qu'elles confèrent un haut niveau de résistance, tout en ayant un faible coût adaptatif. En outre, les mutations sélectionnées se répandent fréquemment au niveau mondial, comme les fléaux eux-mêmes et les parasites véhiculés par ceux-ci, ces processus étant appelés à s'accélérer avec le développement des échanges économiques.

La protection des écosystèmes implique le développement futur de pesticides non rémanents, sélectifs pour les espèces à contrôler et sans effets sur les autres organismes des écosystèmes. Mais la multiplicité et l'efficacité des processus de résistance aux insecticides et la rapidité avec laquelle les mutations impliquées ont été sélectionnées et se sont répandues, condamnent les systèmes de contrôle faisant appel à l'application massive et sans discernement d'un petit nombre de molécules actives visant un nombre limité de cibles moléculaires. Dans un contexte de lutte chimique, toute gestion des processus de résistance implique une diversification des molécules actives et des cibles moléculaires visées. Mais une telle stratégie, si elle peut retarder la sélection de gènes de résistance, accroît les risques d'introduction dans l'environnement de nouvelles substances qui pourraient à plus ou moins long terme s'avérer nocives à leur tour. L'application du principe de précaution doit plutôt conduire au recours, le plus souvent possible, à des méthodes de lutte biologique et à des stratégies de gestion des agrosystèmes et des écosystèmes.

Références bibliographiques

Andreasen J.K. (1985). Insecticide resistance in mosquito fish of the Lower Rio Grande Valley of Texas – an ecological hazard. *Arch Environ Con Toxicol*, **14** : 573-577.

Andreev D., Kreitman M., Philips T.W., Beeman R.W., ffrench-Constant R.H. (1999). Multiple origins of cyclodiene insecticide resistance in *Tribolium castaneum* (*Coleoptera* : *Tenebrionidae*). *J Mol Evol*, **48** : 615-624.

Campbell P.M., Newcomb R.D., Russell R.J., Oakeshott J.G. (1998).Two different amino acid substitutions in the aliesterase, E3, confer alternative types of organophosphorus insecticide resistance in the sheep blowfly, *Lucilia cuprina*. *Insect Biochem Mol Biol*, **28** : 139-150.

Carson R. (1962). *Silent Spring*. Houghton-Mifflin Co, Boston.

Claudianos C., Russell R.J., Oakeshott J.G. (1999). The same amino acid substitution in orthologous esterases confers organophosphate resistance in the housefly and a blowfly. *Insect Biochem Mol Biol*, **29** : 675-686.

Daborn P.J., Yen J.L., Bogwitz M.R., Le Goff G., Feil E., Jeffers S., Tijet N., Perry T., Heckel D., Batterham P., Feyereisen R., Wilson T.G., ffrench-Constant R.H. (2002). A single P450 allele associated with insecticide resistance in *Drosophila*. *Science*, **297** : 2253-2256.

Darboux I., Pauchet Y., Castella C., Silva-Filha M.H., Nielsen-LeRoux C., Charles J.F., Pauron D. (2002). Loss of the membrane anchor of the target receptor is a mechanism of bioinsecticide resistance. *Proc Natl Acad Sci USA*, **99** : 5830-5835.

Feyereisen R. (1999). Insect P450 enzymes. *Annu Rev Entomol*, **44** : 507-533.

Field L.M., Devonshire A.L., Forde B.G. (1988). Molecular evidence that insecticide resistance in peach-potato aphids *(Myzus persicae* Sulz.) results from amplification of an esterase gene. *Biochem J*, **251** : 309-312.

Field L.M., Devonshire A.L. (1998). Evidence that the E4 and FE4 esterase genes responsible for insecticide resistance in the aphid *Myzus persicae* (Sulzer) are part of a gene family. *Biochem J*, **330** :169-173.

Fournier D., Bride J.-M., Mouchès C., Raymond M., Magnin M., Bergé J.-B., Pasteur N., Georghiou G.P. (1987). Biochemical characterization of the esterases A1 and B1 associated with organophosphate resistance in the *Culex pipiens* L. complex. *Pestic Biochem Phys*, **27** : 211-217.

ffrench-Constant R.H., Rocheleau T.A., Steichen J.C., Chalmers A.E. (1993). A point mutation in a *Drosophila* GABA receptor confers insecticide resistance. *Nature*, **363** : 449-451.

Gahan L.J., Gould F., Heckel D.G. (2001). Identification of a gene associated with *Bt* resistance in *Heliothis virescens*. *Science*, **293** : 857-860.

Georghiou G.P. (1983). Management of resistance in arthropods. *In* BOA-NRC Georghiou G.P., Saito T., *Pest Resistance to Pesticides*. Plenum Publishing Corp, New York, 769-792.

Georghiou G.P. (1986). The magnitude of the resistance problem. *In Pesticide Resistance: Strategies and Tactics for Management*. National Academy Press, Washington, D.C., 14-43.

Georghiou G.P. (1990). Overview of insecticide resistance. *ACS Symp Ser*, **421** : 18-41.

Grant B.R., Grant BR (2002). Unpredictable evolution in a 30-year study of Darwin's finches. *Science*, **296** : 707-711.

Griffitts J.S., Whitacre J.L., Stevens D.E., Aroian R.V. (2001). *Bt* toxin resistance from loss of a putative carbohydrate-modifying enzyme. *Science*, **293** : 860-864.

Heidari R., Devonshire A.L., Campbell B.E., Bell K.L., Dorrian S.J., Oakeshott J.G., Russell R.J. (2004). Hydrolysis of organophosphorus insecticides by *in vitro* modified carboxylesterase E3 from *Lucilia cuprina*. *Insect Biochem Mol Biol*, **34** : 354-363.

Hemingway J., Karunaratne S.H.P.P. (1998). Mosquito carboxylesterases: A review of the molecular biology and biochemistry of a major insecticide resistance mechanism. *Med Vet Entomol*, **12** : 1-12.

Kaminker J.S., Bergman C.M., Kronmiller B., Carlson J., Svirskas R., Patel S., Frise E., Wheeler D.A., Lewis S.E., Rubin G.M., Ashburner M., Celniker S.E. (2002). The transposable elements of the *Drosophila melanogaster* euchromatin: a genomics perspective. *Genome Biol*, **3** : 0084.1-0084.20.

Kubiak T.J., Harris H.J., Smith L.M., Schwartz T.R., Stalling D.L., Trick J.A., Sileo L., Docherty D.E., Ercman T.C. (1989). Microcontaminants and reproductive impairment of the Forster's tern on Green Bay, Lake Michigan – 1983. *Arch Environ Contamin Toxicol*, **18** :706-727.

LeBaron H.M. (1984). Principles, problems, and potentials of plant resistance. *In* Thornberg J.P., Staehelin L.A., Hallick R.B., *Biosynthesis of the Photosynthetic Apparatus*. Alan Liss, New York, 351-356.

Lee S.H., Smith T.J., Knipple D.C., Soderlund D.M. (1999). Mutations in the house fly *Vssc1* sodium channel gene associated with *super-kdr* resistance abolish the pyrethroid sensitivity of Vssc1/tipE sodium channels expressed in *Xenopus* oocytes. *Insect Biochem Mol Biol*, **29** : 185-194.

McGaughey W.H. (1985). Insect resistance to the biological insecticide *Bacillus thuringiensis*. *Science*, **229** : 193-195.

Mani G.S. (1980). A theorical study of morth ratio clines with special reference to melanism in moths. *Proc R Soc Lond B*, **B210** : 299-316.

McKenzie J.A., Batterham P. (1994). The genetic, molecular and phenotypic consequences of selection for insecticide resistance. *Trends Ecol Evol*, **9** : 166-169.

Melander A.L. (1914). Can insects become resistant to sprays? *J Econ Entomol*, **7** : 167-173.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Miyazaki M., Ohyama K., Dunlap D.Y., Matsumura F. (1996). Cloning and sequencing of the para-type sodium channel gene from susceptible and *kdr*-resistant German cockroaches *(Blatella germanic*a) and the house fly *(Musca domestic*a). *Mol Gen Genet*, **252** : 61-68.

Mouchès C., Fournier D., Raymond M., Magnin M., Bergé J.-B., Pasteur N., Georghiou G.P. (1985). Association entre l'amplification de séquences d'ADN, l'augmentation quantitative d'estérases et la résistance à des insecticides organophosphorés chez les moustiques du complexe *Culex pipiens* avec une note sur une amplification similaire chez *Musca domestica* L. *C R Acad Sci Ser D*, **16** : 695-700.

Mouchès C., Magnin M., Bergé J.-B., De Silvestri M., Beyssat V., Pasteur N., Georghiou G.P. (1987). Overproduction of detoxifying esterases in organophosphate resistant *Culex* mosquitoes and their presence in other insects. *Proc Natl Acad Sci USA*, **84** : 2113-2116.

Mouchès C., Pasteur N., Bergé J.-B., Hyrhien O., Raymond M., Robert de Saint-Vincent B., De Silvestri M., Georghiou G.P. (1986). Amplification of an esterase gene is responsible for insecticide resistance in a California *Culex* mosquito. *Science*, **233** : 778-780.

Mouchès C., Pauplin Y., Agarwal M., Lemieux L., Herzog M., Abadon M., Beyssat-Arnaouty V., Hyrien O., Robert de Saint-Vincent B., Georghiou G.P., Pasteur N. (1990). Characterization of amplification core and esterase B1 gene responsible for insecticide resistance in *Culex*. *Proc Natl Acad Sci USA*, **87** : 2574-2578.

Mutero A., Pralavorio M., Bride J.-M., Fournier D. (1994). Resistance-associated point mutations in insecticide-insensitive acetylcholinesterase. *Proc Natl Acad Sci USA*, **91** : 5922-5926.

Newcomb R.D., Campbell P.M., Ollis D.L., Cheah E., Russell R.J., Oakeshott J.G. (1997). A single amino acid substitution converts a carboxylesterase to an organophosphorous hydrolase and confers insecticide resistance on a blowfly. *Proc Natl Acad Sci USA*, **94** : 7464-7468.

Newton I. (1988). *Population limitation in birds*. Academic Press, San Diego.

Pittendrigh B., Reenan R., ffrench-Constant R., Ganetzky B. (1997). Point mutations in the *Drosophila* sodium channel gene *para* associated with resistance to DDT and pyrethroïd insecticides. *Mol Gen Genet*, **256** : 602-610.

Raymond M., Callaghan A., Fort P., Pasteur N. (1991). Worldwide migration of amplified insecticide resistance genes in mosquitoes. *Nature*, **350** : 151-153.

Raymond M., Mouchès C. (1986). La résistance des moustiques aux insecticides. *La Recherche*, **183** : 1561-1562.

Reale D., McAdam A.G., Boutin S., Berteaux D. (2003). Genetic and plastic responses of a northern mammal to climate change. *Proc R Soc Lond*, **B270** : 591-596.

Roush R.T., McKenzie J.A. (1987). Ecological genetics of insecticide and acaricide resistance. *Annu Rev Entomol*, **32** : 361-380.

Salvado J.C., Bensaadi-Merchermek N., Mouchès C. (1994). Transposable elements in mosquitoes and other insect species. *Comp Biochem Physiol*, **109B** : 531-544.

Smith T.J., Lee S.H., Ingles P.J., Knipple D.C., Soderlund D.M. (1997). The L1014F point mutation in the house fly *Vssc1* sodium channel confers knockdown resistance to pyrethroids. *Insect Biochem Mol Biol*, **27** : 807-812.

Shrivastava P. (1987). *Bophal : Anatomy of a Crisis*. Ballinger, New-York.

Tabashnik B.E., Cushing N.L., Finson N., Johnson M.W. (1990). Field development of resistance to *Bacillus thuringiensis* in diamondback moth (Lepidoptera : Plutellidae). *J Econ Entomol*, **83** : 1671-1676.

Thompson M., Steichen J.C., ffrench-Constant R.H. (1993). Conservation of cyclodiene insecticide resistance associated mutations in insects. *Insect Mol Biol*, **2** : 149-154.

Weill M., Lutfalla G., Mogensen K., Chandre F., Berthomieu A., Berticat C., Pasteur N., Philips A., Fort P., Raymond M. (2003). Comparative genomics : Insecticide resistance in mosquito vectors. *Nature*, **8** : 136-137.

Weismann R. (1947). Differences in susceptibility to DDT of flies from Sweden and Switzerland. *Mitt Schweiz Entomol Ges*, **20** : 484-504.

Williamson M.S., Martinez-Torres D., Hick C.A., Devonshire A.L. (1996). Identification of mutations in the housefly *para*-type sodium channel gene associated with knockdown resistance *(kdr)* to pyrethroid insecticides. *Mol Gen Genet*, **252** : 51-60.

10

Toxicité et risques liés à l'emploi de pesticides chez les pollinisateurs : cas de l'abeille domestique

Axel Decourtye, Michel Tisseur,
Jean-Noël Taséi, Minh-Hà Pham-Delègue

Le recours à des produits phytopharmaceutiques pour protéger les cultures contre les ravageurs et les maladies, engendre des interrogations sur leur impact environnemental. Il est donc important de concilier la recherche de la productivité agricole et celle du respect des écosystèmes. Ce souci concerne en particulier les risques d'intoxication des auxiliaires de l'agriculture tels que les insectes pollinisateurs : abeille domestique, bourdons et autres Hyménoptères floricoles. Leur action pollinisatrice est considérée comme essentielle pour le maintien des écosystèmes terrestres incluant les agrosystèmes. L'abeille domestique *Apis mellifera* participe ainsi à la pollinisation de nombreuses plantes cultivées (Williams, 1996) ou sauvages (Pimentel *et al.*, 1997). Outre son rôle écologique et agronomique, l'abeille possède un intérêt économique important grâce à la commercialisation des produits de la ruche (miel, cire, gelée royale) qui fait vivre environ 13 500 apiculteurs européens, propriétaires de trois millions de ruches.

Récemment, un déclin des populations d'abeille domestique a été observé en Amérique du Nord et en Europe (Kearns *et al.*, 1998). Les causes possibles du déclin des populations d'abeilles domestiques et sauvages sont la destruction et la fragmentation de leur habitat (urbanisation, monoculture céréalière), la prolifération des parasites et des maladies, ainsi que l'impact des produits phytopharmaceutiques. Tout traitement phytopharmaceutique d'une plante cultivée visitée par les abeilles, notamment les traitements insecticides, présente un risque d'intoxication. Dès les années 50, il a été démontré que les populations d'abeilles pouvaient être fortement affectées après leur exposition aux insecticides à usage agricole. À partir de cette période, des travaux scientifiques ont été entrepris afin de développer des méthodo-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

logies permettant d'évaluer leurs effets chez cet insecte (Atkins et Anderson, 1954). À présent, des tests de toxicité chez l'abeille doivent être incorporés aux dossiers biologiques exigés au moment de l'inscription des nouveaux produits sur la liste européenne des substances actives autorisées, ainsi que lors des demandes d'autorisation de mise sur le marché des préparations phytosanitaires contenant ces substances actives auprès des États membres de l'Union européenne. Malgré ces mesures réglementaires, de récents problèmes de dépopulations de ruches ont fait incriminer l'utilisation de deux insecticides, le Gaucho® et le Régent TS® utilisés pour traiter les semences de maïs et de tournesol. Cette crise, qui a illustré les insuffisances des directives réglementaires, a également permis de mettre au point une nouvelle procédure d'évaluation du risque pour les abeilles. Celle-ci nécessite l'acquisition de nouveaux outils pour estimer l'exposition des abeilles aux insecticides, ainsi que la toxicité de ces derniers. Dans ce chapitre, nous décrirons les méthodes réglementaires d'évaluation de la toxicité des pesticides chez l'abeille domestique, ainsi que l'évolution prévisible de ces méthodes.

1. L'intoxication de l'abeille domestique par les pesticides : un problème récurrent

1.1. Des organochlorés aux néonicotinoïdes et aux phénylpyrazoles

Les composés chimiques provoquant des intoxications dans le cheptel apicole changent de nature selon l'évolution des pratiques phytosanitaires dans le monde agricole. Le premier empoisonnement de ruches par un insecticide aurait été constaté à la fin du XIX^{e} siècle aux États-Unis (Johansen, 1977). Après la Seconde Guerre mondiale, les problèmes d'intoxication se sont généralisés avec l'utilisation accrue des traitements phytopharmaceutiques et l'apparition des molécules insecticides de synthèse : les organochlorés, les carbamates (Louveaux, 1984), les organophosphorés (Kevan et Plowright, 1995) et les pyréthrinoïdes (Wimmer, 1987). À partir des années 80, ont été synthétisées de nouvelles molécules affectant le développement des stades larvaires de façon spécifique, telles que les analogues de l'hormone juvénile (méthoprène, fénoxycarbe) et les inhibiteurs de chitinase (diflubenzuron). Plus récemment, de nouvelles familles de composés, les néonicotinoïdes (imidachlopride) et les phénylpyrazoles (fipronil) qui agissent respectivement sur les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine et sur les récepteurs de l'acide γ-aminobutyrique, ont commencé à être utilisées.

1.2. Le malaise dans l'apiculture française

1.2.1. Gaucho®

Depuis 1993, la protection des cultures de tournesol (*Helianthus annuus*) est assurée de façon préventive par la technique d'enrobage des semences avec l'insecticide

Gaucho® issu de la recherche Bayer AG (700 µg de matière active par graine, soit environ 50 g de matière active par hectare). Cette spécialité phytosanitaire a pour matière active l'imidachlopride qui est le premier représentant du groupe des chloronicotinyls, appartenant à une nouvelle famille de composés, les néonicotinoïdes. Les tests de toxicité aiguë ont permis de classer l'imidachlopride comme très toxique pour les abeilles (Suchail *et al.*, 2000 ; Decourtye *et al.*, 2003). Néanmoins selon la firme produisant la substance active, la technique d'enrobage des semences par Gaucho® ne produirait aucun effet nocif sur les abeilles (Schmuck *et al.*, 2001). Pourtant, certains apiculteurs français accusent l'insecticide Gaucho® d'induire une baisse sensible des récoltes de miel de tournesol. Les ouvrières exposées à de faibles quantités d'insecticide lors du butinage manifesteraient des troubles du comportement et seraient incapables de retrouver leur ruche, ce qui provoquerait soit un dépeuplement des ruches au moment de la floraison du tournesol, soit une absence de leur développement à la sortie de l'hiver.

Face à cette problématique, le ministère de l'Agriculture a mis en place en 1998 un programme national de recherche visant à évaluer l'impact des traitements de semences de tournesol par Gaucho® chez l'abeille domestique (Pham-Delègue et Cluzeau, 1998). Le ministère de l'Agriculture décidait en janvier 1999 d'appliquer le principe de précaution en suspendant l'usage de Gaucho® sur les semences de tournesol (décision reconduite en février 2001). Le principe de précaution est une approche de gestion des risques qui s'exerce dans une situation d'incertitude scientifique sur le risque et son étendue. Face à un risque potentiellement grave, le principe de précaution permet de gérer l'attente d'informations scientifiques nouvelles nécessaires à l'évaluation précise du risque. Parallèlement, un comité scientifique et technique chargé de piloter une enquête multifactorielle des troubles des abeilles a été créé. Ce comité a conclu en septembre 2003 que l'enrobage des semences de tournesol par Gaucho® conduisait à un risque significatif pour les abeilles (CST, 2003).

1.2.2. Régent TS®

Employé en enrobage des semences de tournesol, le Régent TS® (matière active : fipronil) est également considéré comme étant l'une des causes possibles des troubles du comportement de butinage et des dépeuplements des colonies. La crise dans le monde apicole engendrée par l'utilisation des deux insecticides Gaucho® et Régent TS®, ainsi que les travaux successifs ordonnés par le ministère de l'Agriculture français en 1997 et en 2001, ont révélé certaines lacunes dans les procédures d'homologation et de post-homologation des pesticides : absence de méthodologies standardisées permettant de déceler les effets biologiques rencontrés sur le terrain, appréciation imprécise de l'exposition des abeilles, absence de facteurs d'incertitude appliqués aux données toxicologiques issues des expérimentations de laboratoire ou de terrain.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

2. *L'évaluation du risque chez l'abeille domestique lié à l'application de produits phytopharmaceutiques*

2.1. Les exigences réglementaires européennes actuelles

La majorité des cas d'intoxication par pesticides rapportés dans la littérature correspond à un dépeuplement des colonies consécutivement à la mort d'un grand nombre de leurs individus. Cependant, de tels effets létaux ont diminué depuis que les États membres de l'Union européenne exigent la présentation de données écotoxicologiques avant l'autorisation de l'emploi de pesticides auxquels les abeilles peuvent être exposées (directive 91/414/CEE amendée par la directive 96/12-CEE ; *European Commission*, 1996). Depuis 1982, les réflexions du groupe de travail « *bee protection* » de la Commission internationale des relations plante-abeille (ICPBR) ont permis d'harmoniser les principes de l'évaluation des effets non intentionnels des pesticides chez l'abeille. Ces principes s'inscrivent dans le schéma de prise de décision proposé par le groupe de travail et adopté par l'Organisation européenne et méditerranéenne pour la protection des plantes (EPPO, 1993). Ce schéma est fondé sur l'évaluation des effets biologiques des produits lors de tests de toxicité (*cf.* encadré « Les critères des tests de toxicité ») réalisés en laboratoire, en conditions semi-naturelles puis en conditions naturelles.

Les critères des tests de toxicité

Les tests de toxicité peuvent être classés selon trois critères :

– les conditions expérimentales (laboratoire, conditions semi-naturelles ou naturelles) ;

– la durée d'exposition appliquée (aiguë, sub-chronique ou chronique) ;

– les effets biologiques mesurés : létaux (induisant la mort de l'individu) ou sublétaux (tout effet biologique mesurable qui n'induit pas directement la mort de l'individu).

Les effets létaux peuvent être observés après une intoxication :

– aiguë (administration ponctuelle d'une dose unique) ;

– chronique (administration de faibles doses, répétée durant le stade larvaire et imaginal d'une ouvrière (supérieur ou égal à 60 jours) ;

– sub-chronique (administration de faibles doses, répétée sur moins d'un cycle de vie inférieur à 60 jours).

L'évaluation du risque implique la prise en compte de la toxicité (ou danger) du produit et de l'exposition au produit dans l'environnement.

2.1.1. La toxicité

La série séquentielle et hiérarchisée des tests de toxicité permet de limiter la durée et le coût du processus d'évaluation tout en améliorant sa précision (figure 1). La procédure débute par l'évaluation de la toxicité aiguë du produit en laboratoire chez l'abeille adulte, correspondant à la détermination de la DL_{50} (dose létale 50 induisant la mortalité de 50 % des individus traités). Dans ces tests, les individus sont exposés à de fortes doses de produit dans des conditions standardisées (CEB, 1996). La DL_{50} est un estimateur permettant de comparer la toxicité de différents produits (Atkins *et al.*, 1981) et la sensibilité des abeilles selon leur race (Suchail *et al.*, 2000), leur âge (MacKenzie et Winston, 1989), leur colonie d'origine ou la saison (Smirle et Winston, 1987). La détermination de la DL_{50} reste incontournable car elle permet, non seulement, de classer les produits selon leur toxicité intrinsèque mais également de limiter le nombre de produits soumis aux essais en conditions semi-naturelles ou naturelles qui sont coûteux et difficiles à mettre en place (Hassan, 1989). Cependant, l'obtention de la DL_{50} comme estimateur de la toxicité peut se heurter à certaines difficultés. Ainsi, Suchail *et al.* (2000) ont démontré que la relation dose-mortalité de l'imidachlopride était bimodale ce qui aboutissait à l'établissement par calcul de deux DL_{50}. Les auteurs supposent que les mécanismes complexes de détoxication de l'imidachlopride sous-tendent ces résultats. Le pic de mortalité induit par les faibles doses serait principalement dû à l'absence de métabolisation de l'imidaclopride. Alors que les doses intermédiaires entraîneraient la mise en jeu des mécanismes de détoxification de l'imidaclopride, et par conséquent une faible mortalité. Finalement, le pic de mortalité observé aux doses élevées traduirait l'apparition des métabolites toxiques de l'imidaclopride et/ou la saturation des enzymes de détoxification.

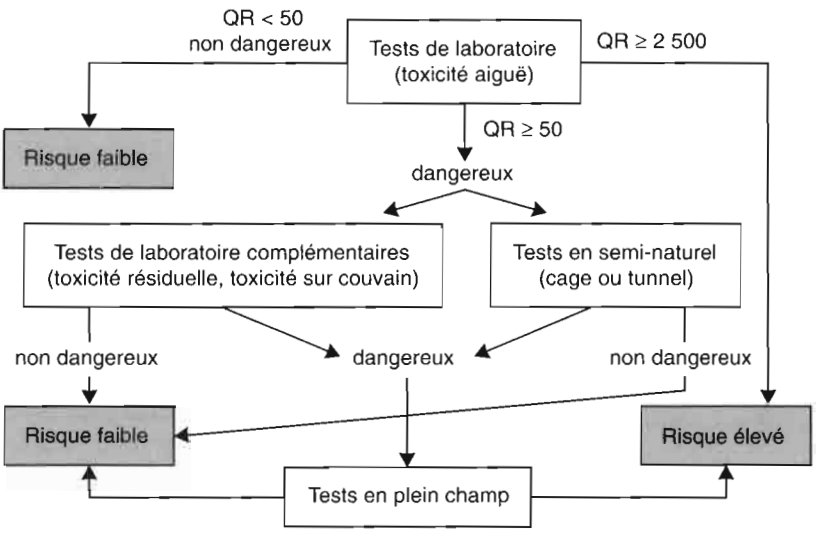


Figure 1 ■ Le schéma séquentiel des tests réglementaires pour l'évaluation des risques phytosanitaires.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

2.1.2. Le risque

À l'issue des tests de toxicité aiguë en laboratoire, un estimateur du risque, le quotient de risque (QR) est évalué par la combinaison de la toxicité du produit et de la dose de produit appliqué par hectare à laquelle sont exposées les abeilles. Le QR s'obtient en calculant le rapport de la dose de substance active par hectare (g/ha) sur la DL_{50} (µg/abeille). Un composé ayant un QR inférieur à 50 est estimé comme étant sans risque dans une situation agronomique. Au contraire, s'il est supérieur à 2 500, le produit est considéré comme entraînant un risque potentiel élevé pour les abeilles sans qu'aucune expérimentation complémentaire ne soit demandée. Dans le cas d'un QR compris entre 50 et 2 500, un test complémentaire en conditions semi-naturelles (cage ou tunnel) doit être réalisé puis, si un effet est révélé dans cette situation, un test en champ est exigé. Si le produit a un mode d'action spécifique (par exemple, inhibiteur de croissance) ou un effet indirect (retardé ou comportemental), des tests spécifiques doivent être réalisés afin de préciser ses effets biologiques, tels qu'un test sur couvain (Oomen *et al.*, 1992) ou un test de toxicité résiduelle (Estesen *et al.*, 1992).

2.2. La nécessité d'une nouvelle approche pour l'évaluation du risque

2.2.1. Les pesticides systémiques

Dans le schéma de prise de décision défini par l'EPPO, il est admis que la dose d'application agricole est l'estimateur de l'exposition des abeilles dans les conditions naturelles lors d'une application de produit sur les parties aériennes des cultures. L'estimateur de risque QR manque de précision étant donné qu'il ne tient pas compte de l'exposition réelle des abeilles et des colonies. L'exposition résulte non seulement de la dose d'application mais aussi de sa persistance sur le végétal, sa capacité de pénétration dans l'insecte et ses capacités de bio-accumulation. Par ailleurs, le QR basé sur la dose d'emploi, ne présente aucune utilité dans le cas des traitements systémiques appliqués soit sur les semences (pelliculage) soit sur (ou dans) le sol (pulvérisation ou granulés). Une substance active systémique diffuse dans la plante traitée, protégeant ainsi les parties végétales aériennes contre les ravageurs. Dans ce cas, le produit n'est pas en contact avec les abeilles au moment du traitement mais seulement de façon différée lors de la floraison de la plante traitée. La présence d'un pesticide (ou ses métabolites) dans le nectar ou le pollen est particulièrement probable lorsqu'il possède des propriétés systémiques (Waller *et al.*, 1984).

2.2.2. Le rapport PEC/PNEC

Dans le but de statuer sur les risques pour l'abeille liés aux traitements de semences par des insecticides systémiques, le comité scientifique et technique de l'étude multifactorielle des troubles des abeilles (CST, 2003) a adapté à l'abeille

une méthode d'évaluation des risques qui est classiquement utilisée chez des organismes aquatiques non-cibles. Cette évaluation est basée sur un rapport entre la concentration d'exposition prédite (PEC : *predicted environmental concentration*) et la concentration prévue sans effet toxique pour ces organismes dans l'environnement (PNEC : *predicted no effect concentration* ; par exemple, van Leeuwen *et al.*, 1996). Dans le cas des abeilles, la PEC est remplacée par la dose prévisible d'exposition à la substance active qui est estimée grâce à des scénarios d'exposition prenant en compte la nature de l'aliment contaminé (nectar, pollen), le stade des abeilles exposées (larves, ouvrières butineuses ou nourrices), ainsi que la saison.

Parallèlement, l'équivalent de la PNEC est la dose prévisible sans effet observable. Elle se calcule à partir des résultats des essais biologiques en divisant la dose minimale avec effet, la dose maximale sans effet, ou la dose létale 50 par un facteur d'incertitude (de 5 à 100). Ce facteur d'incertitude tient compte de la variabilité des résultats et de leur extrapolation aux conditions de plein champ lorsqu'ils sont obtenus dans d'autres conditions : plus les conditions expérimentales se rapprochent du plein champ, plus le facteur diminue. Dans la première application de cette méthode à l'égard du Gaucho®, les facteurs d'incertitude ont été : 100 pour les données issues des tests mesurant la létalité à court terme (DL_{50} à 48 heures), 50 pour les données de toxicité sublétale obtenues en laboratoire après une exposition brève (quelques heures), 10 pour les données de toxicité sublétale obtenues en laboratoire après une exposition à long terme (dizaine de jours) et pour les données issues d'expérimentations en cage ou en tunnel, et finalement, 5 pour les données obtenues en champ (exposition au laboratoire puis observation des effets en champ). En tentant de préciser l'exposition des abeilles aux pesticides en conditions réalistes, cette nouvelle méthode d'évaluation des risques semble prometteuse dans le cas des traitements de semences mais pourrait aussi être étendue aux autres types d'application. Cette méthode implique que soient développées les études sur l'exposition réelle des abeilles selon divers scenarios et sur les quantités de produits susceptibles d'induire des effets négatifs létaux ou sublétaux après exposition brève ou prolongée.

2.2.3. Les métabolites

Dans le cas des produits systémiques métabolisés dans la plante, l'évaluation des risques doit aussi être réalisée avec certains métabolites des substances actives (majoritairement présents et/ou présentant un mode d'action identique à celui de la molécule parente). Par exemple, les deux principaux métabolites de l'imidachlopride (oléfine, hydroxy-imidaclopride), qui ont la même cible biochimique que l'imidaclopride (Nauen *et al.*, 1998), présentent une haute toxicité chez l'abeille domestique (Decourtye *et al.*, 2003). Par ailleurs, dans les cas où l'on peut prévoir un emploi simultané ou quasi-simultané de deux substances actives sur une même culture, l'évaluation de la toxicité due à la co-existence des produits est conseillée. Par exemple, la coïncidence entre des traitements avec des fongicides azoles ou imidazoles et avec des insecticides pyréthrinoïdes peut induire des phénomènes de synergie (Colin et Belzunces, 1992). Récemment, la synergie entre un insecticide

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

chloronicotinyl, la thiaclopride, et des fongicides, le prochloraze et le tébuconazole, a été démontrée lors de tests de toxicité aiguë en laboratoire (Schmuck *et al.*, 2003).

3. *Des tests spécifiques nouveaux afin d'évaluer la toxicité des produits chez l'abeille*

Dans la littérature, la plupart des méthodologies évaluent l'impact des pesticides sur la survie des abeilles après une exposition unique et ponctuelle au produit testé. De même, l'évaluation réglementaire du risque basé sur le quotient « dose hectare/ DL_{50} » implique de façon abusive que la DL_{50} du produit classé « sans danger » est capable de refléter l'ensemble de ses effets biologiques en conditions naturelles, qu'ils soient létaux (sub-chroniques et chroniques) ou sublétaux. L'étude des effets aigus et létaux des produits phytopharmaceutiques ne peut pas rendre compte de l'ensemble des effets toxiques. En d'autres termes, les effets biologiques de pesticides employés sur des cultures visitées par l'abeille domestique ne se limitent pas à l'augmentation brutale de la mortalité chez les butineuses après une exposition brève à de fortes quantités de pesticides.

3.1. La toxicité à long terme chez l'adulte

La contamination du pollen (Russel *et al.*, 1998) ou du nectar (Fernandez Muino *et al.*, 1995) stockés dans la ruche implique que des abeilles appartenant à différentes catégories d'âges peuvent être exposées. Par ailleurs, l'exposition peut être prolongée dans le temps puisque les réserves alimentaires de la ruche peuvent être consommées plusieurs semaines ou plusieurs mois (notamment en période d'hivernage) après leur stockage. Considérant cette hypothèse, des études sur la toxicité chronique d'insecticides ont été réalisées à l'échelle de colonies (Stoner *et al.*, 1982 ; Schmuck *et al.*, 2001). Bien que de tels tests reproduisent des conditions d'exposition proches de celles rencontrées en plein champ, l'importante variabilité des résultats obtenus rend leur reproductibilité incertaine. La toxicité à long terme des produits chimiques peut également être évaluée en laboratoire par l'exposition de petits groupes d'individus maintenus en cage d'élevage (Fiedler, 1987 ; Bendahou *et al.*, 1999 ; Suchail *et al.*, 2001 ; Decourtye *et al.*, 2003). Dans ces conditions, l'administration prolongée de solutions sucrées alimentaires contaminées par des pesticides a révélé leur toxicité sub-chronique (10-11 jours d'exposition) et chronique (60 jours d'exposition). Pour ces deux durées d'exposition, les concentrations-seuils en dessous desquelles aucun effet négatif n'est observé (LOEC : *lowest observed effect concentration*) sur la survie des ouvrières ont été définies avec cinq produits (imidachlopride, 5-hydroxy-imidaclopride, prochloraze, fipronil, diméthoate : tableau 1). Par ailleurs, une étude comparant la toxicité aiguë et sub-chronique de l'imidaclopride a montré que le même taux de mortalité était obtenu avec

des doses 60 à 6000 fois plus faibles lors des tests de toxicité sub-chronique (Suchail *et al.*, 2001). La grande variabilité des résultats de toxicité de l'imidaclopride, et de ses métabolites (5-hydroxy-imidaclopride, oléfine), selon les travaux considérés, peut en partie s'expliquer par les différents protocoles utilisés : jeunes ou vieilles abeilles, période hivernale ou estivale.

L'ensemble de ces travaux indique que les pesticides ingérés de façon chronique peuvent affecter la survie des abeilles à des doses très faibles, nettement inférieures à la DL_{50}. Ainsi, la DL_{50} établie lors des tests réglementaires de toxicité aiguë, dont la durée ne dépasse pas 48 heures, ne donne qu'une mesure partielle du potentiel létal d'un pesticide. Une méthodologie complémentaire à celle de la toxicité aiguë est nécessaire afin de considérer la toxicité à long terme des pesticides lors de l'évaluation des risques.

Tableau I ■ Les études de la toxicité à long terme de pesticides en laboratoire sur l'abeille.

Produit	Durée d'exposition	Concentrations	LOEC
Imidachlopride	60 jours[1]	4-8 µg.kg^{-1}	4 µg.kg^{-1}
	11 jours[2]	1,5-96 µg.kg^{-1}	96 µg.kg^{-1}
	10 jours[3]	0,1-10 µg.kg^{-1}	< 0,1 µg.kg^{-1}
5-OH-imidachlopride	11 jours[2]	7,5-240 µg.kg^{-1}	240 µg.kg^{-1} (abeilles d'hiver)
	10 jours[3]	0,1-10 µg.kg^{-1}	< 0,1 µg.kg^{-1}
Oléfine	11 jours[2]	1,4-45 µg.kg^{-1}	Pas d'effets (abeilles d'hiver)
	10 jours[3]	0,1-10 µg.kg^{-1}	< 0,1 µg.kg^{-1}
Prochloraz	11 jours[4]	15-150 mg.kg^{-1}	150 mg.kg^{-1}
Diméthoate	11 jours[4]	145-580 µg.kg^{-1}	580 µg.kg^{-1}
Fipronil	11 jours[4]	2,2-9 µg.kg^{-1}	9 µg.kg^{-1}

LOEC : Lowest observed effect concentration.
[1] Decourtye *et al.*, 2003.
[2] Dechaume Moncharmont *et al.*, 2004.
[3] Suchail *et al.*, 2001.
[4] Decourtye *et al.*, 2005.

3.2. La toxicité chez les larves

Le stockage au sein de la colonie d'aliments contaminés par un pesticide peut entraîner une intoxication des larves ou des jeunes ouvrières. Si nous pouvons considérer que la toxicité d'un produit déterminée chez les ouvrières âgées, comme celle mesurée lors des tests de toxicité aiguë réglementaires, est proche de celle que nous pourrions observer chez les jeunes ouvrières, l'extrapolation entre la toxicité

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

des adultes et celle des larves n'est pas justifiée. De nombreux cas d'effets négatifs d'insecticides sur la survie larvaire, la quantité de couvain ou la morphogenèse des ouvrières naissantes, ont été observés (Stoner *et al.*, 1982 ; Davis *et al.*, 1988 ; Naumann et Isman, 1996). Une méthode d'évaluation des effets biologiques des produits phytosanitaires sur le développement des larves d'abeilles a été officialisée au niveau européen par l'EPPO (Oomen *et al.*, 1992). Elle concerne particulièrement les insecticides dont le mode d'action est la régulation de la croissance des insectes (IGR : *insect growth regulators*). La méthode consiste à suivre en champ le développement d'œufs et de larves pendant les trois semaines suivant l'administration d'un sirop alimentaire contaminé. Le principal inconvénient de ce test de toxicité réalisé à l'échelle de la colonie est la difficulté de contrôler l'alimentation des larves par les ouvrières nourrices, autrement dit de mesurer l'exposition réelle des larves au produit. De plus, la variabilité inter-coloniale peut être importante, notamment parce que la concentration d'exposition dépend de la quantité de nectar récoltée par les butineuses (Taséi, 2001) : plus le flux de nectar au sein de la ruche est important, plus le facteur de dilution du produit testé est élevé.

Pour pallier le manque de standardisation des tests réalisés en conditions naturelles, l'élevage de larves d'abeilles en conditions de laboratoire semble prometteur. Des auteurs ont placé des larves sur un milieu alimentaire artificiel contenant le composé chimique à tester, et ont ainsi pu calculer des DL_{50} larvaires (Czoppelt, 1991). Sur le même principe, la méthode proposée par Malone *et al.* (2002) et Brodsgaard *et al.* (2003) semble être la plus standardisée. L'originalité de la méthode repose sur la maîtrise de l'élevage *in vitro* grâce à une alimentation artificielle à laquelle le produit testé peut être additionné à différents stades de développement, et à un suivi individuel des larves de l'éclosion à l'émergence. Outre les effets létaux chez les larves (DL_{50}), cet essai permet aussi d'étudier l'impact des produits sur la durée de développement des différents stades larvaires, le taux d'émergence et le poids des adultes. Par exemple, le nombre de jours nécessaires à l'émergence de larves nourries continuellement avec une alimentation contenant de l'imidaclopride (5 $\mu g.kg^{-1}$) est significativement supérieur à celui observé chez les individus témoins (figure 2 ; Pham-Delègue, données non publiées) : 18,4 jours chez les traitées contre 17,9 jours chez les témoins. Ce résultat indique un retard de développement des larves exposées de façon chronique à une concentration sublétale d'imidaclopride. Il reste à déterminer si la concentration retrouvée dans le pollen de tournesol traité avec Gaucho® (3,3 $\mu g.kg^{-1}$; Schmuck *et al.*, 2001) pourrait induire des effets sublétaux sur le développement des larves d'abeilles au niveau de la colonie et en conditions de plein champ.

3.3. La toxicité sublétale chez les adultes

Comme l'exposition chronique des adultes ou celle des larves, l'intoxication sublétale par les pesticides est un sujet souvent sous-estimé dans les études écotoxicologiques chez l'abeille domestique. Pourtant, un effet sublétal peut être la cause d'effets délétères pour les individus et par conséquent pour les colonies. Par

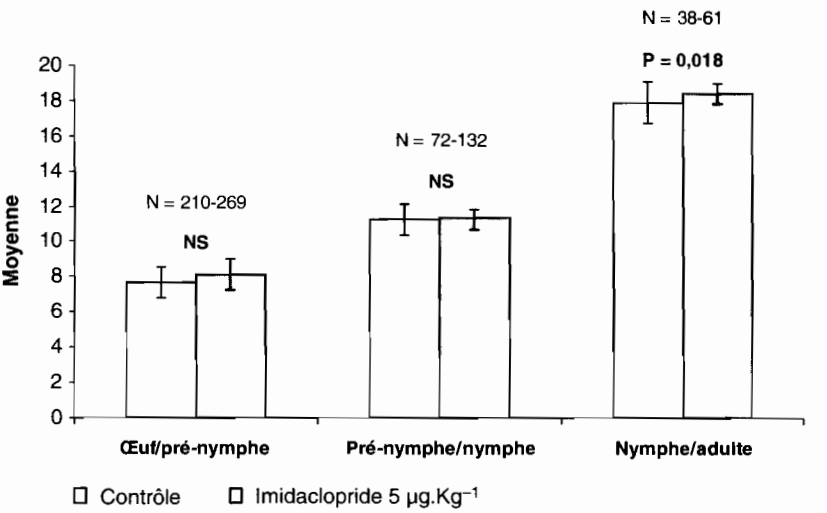


Figure 2 ■ L'impact de l'imidaclopride sur la durée de développement larvaire de l'abeille : de l'œuf à la pré-nymphe, de la pré-nymphe à la nymphe, de la nymphe à l'émergence.
Les données sont illustrées en jours moyens et les barres verticales symbolisent les écarts types. Le groupe témoin et le groupe traité ont été comparés par une analyse de variance à un facteur (ANOVA. $P < 0,05$).

exemple, les effets sublétaux de la deltaméthrine sur le vol de retour à la ruche des butineuses (Vandame *et al.*, 1995) pourraient être à l'origine des dépeuplements de colonies observés dans les années 80 (Faucon et Colin, 1983). Plus récemment, l'intoxication sublétale par l'insecticide Gaucho® a été soupçonnée d'être la cause de la perte de nombreuses colonies en France.

Les effets sublétaux des produits phytopharmaceutiques peuvent être classés comme suit :

– l'apparition d'un effet différé dans le temps par rapport au moment de l'intoxication ;

– une réduction du succès reproducteur ;

– une modification du comportement (butinage des fleurs, communication entre individus dans la ruche, retour à la ruche, apprentissage des odeurs, locomotion ; Thompson, 2003) ;

– une perturbation biochimique ;

– une altération de la physiologie (fonctionnement glandulaire ou cardiaque).

Les produits chimiques peuvent affecter le métabolisme glucidique, lipidique ou enzymatique des ouvrières (Bendahou *et al.*, 1999) ou l'intensité de ponte de la reine (Lensing, 1987). De nombreux travaux ont décrit des modifications du comportement des ouvrières au sein de la colonie et tout particulièrement un bouleversement des tâches effectuées, telles que l'alimentation ou l'operculation des cellules d'élevage de larves (Barker et Waller, 1978 ; Stoner *et al.*, 1982), l'élevage des reines (Nunamarker *et al.*, 1984), l'âge auquel les ouvrières butinent (Robinson, 1985), ainsi que le nettoyage ou la défense de la colonie (Nation *et al.*, 1986).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

3.3.1. Les effets comportementaux

Un intérêt tout particulier doit être porté sur les effets des insecticides neurotoxiques sur le comportement de butinage car (a) les butineuses sont directement exposées aux applications des pesticides sur les cultures ; (b) le comportement de butinage implique des processus neurobiologiques qui peuvent être perturbés par les composés neurotoxiques ; et (c) le comportement de butinage est une composante essentielle de l'équilibre de la population. Lorsque l'étude des effets sublétaux porte plus spécifiquement sur le comportement de butinage, certains auteurs enregistrent l'activité de butinage sur une culture mellifère (Fries et Wibran, 1987) ou sur une source alimentaire artificielle (Cox et Wilson, 1984 ; Schmuck *et al.*, 2001). La prise en compte d'un tel paramètre a notamment permis de mettre en évidence l'effet répulsif (« répulsivité ») de nombreuses formulations phytosanitaires à base de pyréthrinoïdes de synthèse (Delabie *et al.*, 1985). La répulsivité correspond à un arrêt ou à une importante diminution de l'activité de butinage dans la zone traitée et se traduit consécutivement par une réduction du risque d'exposition des butineuses au produit. D'autres paramètres comportementaux peuvent aussi être pris en compte certains permettant de prédire des altérations du butinage, tels que l'apprentissage (Guez *et al.*, 2001 ; Armengaud *et al.*, 2002 ; Decourtye et Pham-Delègue, 2002), l'activité de vol à l'entrée de la ruche (Struye *et al.*, 1994), la communication par les danses (Kirchner, 1999), l'orientation du vol de retour à la ruche (Cox et Wilson, 1984 ; Vandame *et al.*, 1995).

3.3.2. Les effets sur l'apprentissage

Dans les effets sublétaux de pesticides sur les performances d'apprentissage, nous pouvons distinguer deux types de processus analysés à l'aide de la réponse d'extension du proboscis : l'habituation (Guez *et al.*, 2001 ; Armengaud *et al.*, 2002), le conditionnement olfactif pavlovien. L'extension du proboscis (langue) est une réponse réflexe qui se produit lorsqu'une solution sucrée, tel que le nectar, se trouve en contact avec les récepteurs gustatifs placés notamment sur les antennes. L'habituation est une forme d'apprentissage simple (non associatif) se caractérisant par une extinction de la réponse comportementale lors de stimulations répétées des antennes par une solution sucrée (Braun et Bicker, 1992). Le conditionnement olfactif de l'extension du proboscis est une procédure expérimentale qui reproduit en conditions de laboratoire et sur des abeilles en contention, un apprentissage d'une odeur qui a lieu en conditions naturelles lorsqu'une butineuse visite une fleur. Des études écotoxicologiques basées sur la réponse d'extension conditionnée du proboscis (ECP) ont mis en évidence des effets sublétaux de pesticides appartenant à différentes familles chimiques : les pyréthrinoïdes, les organohalogénés, les chloronicotinyls, les phénylpyrazoles et les imidazoles (Decourtye et Pham-Delègue, 2002). Les méthodologies basées sur l'ECP présentent certains avantages en tant que tests d'écotoxicologie comportementale : variables quantifiables, contrôle des conditions d'élevage et de l'exposition, simplicité de la mise en œuvre. Cependant,

des travaux complémentaires sont nécessaires dans le but de mieux comprendre les effets mesurés par ce type de test et mieux prédire ceux qui sont observés en plein champ (Decourtye *et al.*, 2003 ; Thompson, 2003).

3.3.3. Les effets sur l'activité entrées/sorties

Outre les tests en laboratoire, le compteur électronique d'abeilles en plein champ pourrait être un outil prometteur pour l'évaluation des effets sublétaux de pesticides sur le comportement de butinage. Un compteur d'abeilles est un appareil qui est positionné à l'entrée des ruches et qui enregistre chaque passage d'une abeille et le sens de celui-ci. Cet appareil a été proposé comme un outil d'évaluation des pertes de butineuses à la suite de leur intoxication par des produits phytopharmaceutiques appliqués sur les cultures (Struye *et al.*, 1994). En effet, la capacité des compteurs à distinguer les entrées des sorties rend son utilisation intéressante dans le but de mesurer le nombre de butineuses ne regagnant pas la ruche. Malheureusement, la différence entre le nombre des sorties et celui des entrées, censée correspondre au nombre de butineuses ne regagnant pas la ruche, s'est révélée peu fiable. Malgré ce paramètre qui est non exploitable actuellement, le compteur permet un suivi constant de l'activité de vol, et serait ainsi un outil capable d'évaluer des modifications comportementales à l'échelle des colonies.

En conditions semi-naturelles, l'activité de vol des butineuses visitant des parcelles de colzas transgéniques résistants à un herbicide a été mesurée par des compteurs (Châline *et al.*, 2001). Grâce à ce même outil, la diminution de l'activité de vol d'une colonie exploitant une solution sucrée contaminée avec l'imidachlopride a été mise en évidence (Decourtye *et al.*, 2004). Par ailleurs, une méthode sous tunnels originale, qui propose d'évaluer les effets non intentionnels des pesticides systémiques utilisés en enrobage de semences ou en traitement de sol, conseille l'emploi d'un compteur électronique (Candolfi et Servajean, 2001). À présent, son emploi en tant que méthodologie d'évaluation de la toxicité comportementale en conditions de plein champ est en cours de développement. Une typologie comportementale a notamment été recherchée à l'aide de la modélisation des données acquises par le compteur (Tisseur *et al.*, 2002 ; Devillers *et al.*, 2004). À terme, l'outil « compteur/modèle » devrait permettre de détecter des modifications comportementales dues à des événements environnementaux, tels qu'un changement météorologique, la floraison d'une culture mellifère ou un traitement phytosanitaire.

Conclusion

L'utilisation de produits phytopharmaceutiques pour assurer la protection des plantes cultivées n'est pas toujours compatible avec l'activité pollinisatrice bénéfique des abeilles. Avant la commercialisation des pesticides, la protection de l'abeille domestique implique la réalisation de tests de toxicité visant à déterminer les effets non intentionnels des produits chez cet insecte. Dans la littérature comme dans le

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

cadre de la démarche réglementaire, il existe une prédominance de tests recherchant les effets létaux et aigus des pesticides chez les abeilles adultes, et donc une sous-estimation de l'exposition chronique, de l'exposition des larves et des effets sublétaux. En France, certaines de ces lacunes ont été tout particulièrement révélées lors la crise engendrée par l'utilisation des deux insecticides Gaucho® et Régent TS® sur les semences de tournesol. Afin de compenser ces lacunes, le groupe de travail « abeille » de la Commission d'étude de la toxicité des produits phytopharmaceutiques, qui a pour principale mission d'évaluer le risque écotoxicologique des pesticides chez l'abeille, doit également réviser les méthodes officielles et établir de nouveaux protocoles de tests de toxicité. Parmi les évolutions possibles de la procédure réglementaire d'évaluation de la toxicité des pesticides chez l'abeille domestique, le développement de certaines méthodologies standardisées semble prioritaire : celles qui visent à mesurer la toxicité chez les larves, la toxicité chronique, la toxicité des pesticides systémiques appliqués sur semences ou sur sol, et la toxicité sublétale. Pour la toxicité sublétale, une solution possible serait de valoriser les méthodes déjà officialisées (tunnels, cages) en leur adjoignant des protocoles d'observations comportementales quantifiables (activité de vol, de butinage, performances d'apprentissage, éthogrammes).

Outre l'amélioration du dispositif de pré-homologation des pesticides, il est nécessaire de mettre en place un réseau efficace d'alerte et de surveillance des intoxications qui soit le dispositif central des démarches éventuelles en phase de post-homologation. Le bon fonctionnement d'un tel réseau permettrait de recenser les problèmes apicoles et de confirmer ceux qui sont liés à des intoxications par des pesticides homologués.

Remerciements : certains travaux rapportés dans cet article ont bénéficié d'un financement du Ministère de l'Environnement (MATE-01133-Évaluation et réduction des risques liés à l'utilisation des pesticides).

Références bibliographiques

Armengaud C., Lambin M., Gauthier M. (2002). Effects of imidacloprid on the neuronal processes of memory in honey bees. *In* Devillers J., Pham-Delègue M.H., *Honey Bees: Estimating the Environmental Impact of Chemicals.* Taylor and Francis publ., London, 85-100.

Atkins E.L., Anderson L.D. (1954). Toxicity of pesticide dust to honey bees. *J Econ Entomol*, **47** : 969-972.

Atkins E.L., Kellum D., Atkins K.W. (1981). *Reducing pesticide hazards to honey bees. mortality prediction techniques and integrated management strategies.* Division of Agricultural Sciences, University of California, USA.

Barker R.J., Waller G.D. (1978). Sublethal effects of parathion, methyl parathion, or formulated methoprene fed to colonies of honey bees. *Environ Entomol*, **7** : 569-571.

Bendahou N., Fléché C., Bounias M. (1999). Biological and biochemical effects of chronic exposure to very low levels of dietary cypermethrin (Cymbush) on honeybee colonies (Hymenoptera: Apidae). *Ecotoxicol Environ Safe*, **44** : 147-153.

Braun G., Bicker G. (1992). Habituation of appetitive reflex in the honeybee. *J Neurophysiol*, **67** : 588-598.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Brodsgaard H., Brodsgaard C., Hansen H., Lövei G. (2003). Environmental risk assessment of transgene products using honey bee (*Apis mellifera*) larvae. *Apidologie*, **34** : 139-145.

Candolfi M., Servajean E. (2001). A bi-tunnel method developed to investigate the side-efefcts of systemic seed dressings or systemic soil treatments on honeybees, *Apis mellifera*. *In* Belzunces L.P., Pélissier C., Lewis G.B., *Hazards of pesticides to bees*. Paris, INRA Éditions, 251-257.

Châline N., Decourtye A., Marsault D., Pham-Delègue M.H., Lechner M., Van Waetermeulen X., Viollet D. (2000). Impact of novel herbicide resistant oilseed rape on honey bee colonies in semi-field conditions. *In* Belzunces L.P., Pélissier C., Lewis G.B., *Hazards of pesticides to bees*. Paris, INRA Éditions, 187-193.

Colin M.E., Belzunces L.P. (1992). Evidence of synergy between prochloraz and deltamethrin in *Apis mellifera* L.: a convenient biological approach. *Pestic Sci*, **36** : 115-119.

CST (Comité Scientifique et Technique de l'étude multifactorielle des troubles des abeilles) (2003). *Imidaclopride utilisé en enrobage de semences (Gaucho®) et troubles des abeilles*. C.S.T., Paris.

CEB (Commission des Essais Biologiques) (1996). *Méthode de laboratoire d'évaluation de la toxicité aiguë orale et de contact des produits phytopharmaceutiques chez l'abeille domestique* Apis mellifera L. *Méthode n° 95*. ANPP, Paris.

Cox R.L., Wilson W.T. (1984). Effects of permethrin on the behavior of individually tagged honey bees, *Apis mellifera* L. (*Hymenoptera: Apidae*). *Environ Entomol*, **13** : 375-378.

Czoppelt C. (1991). Evaluation of toxicity of the juvenoid phenoxycarb to honeybee larvae reared *in vitro*. *Apidologie*, **22** : 457-459.

Davis A.R., Solomon K.R., Shuel R.W. (1988). Laboratory studies of honeybee larval growth and development as affected by systemic insecticides at adult-sublethal levels. *J Apic Res*, **27** : 146-161.

Dechaume-Montcharmant F.-X., Decourtye A., Hennequet C., pham-Delègue M.H., Pons O. (2004). Statistical analysis of the honeybee survival after chronic exposure to insecticides. *Environ Toxicol Chem*, **22** : 3088-3094

Decourtye A., Pham-Delègue M.H. (2002). The proboscis extension response: assessing the sublethal effects of pesticides on the honey bee. *In* Devillers J., Pham-Delègue M.H., *Honey Bees: Estimating the Environmental Impact of Chemicals*. Taylor and Francis Publishers, London, 67-84.

Decourtye A., Lacassie E., Pham-Delègue M.H. (2003). Learning performances of honeybees (*Apis mellifera* L.) are differentially affected by imidacloprid according to the season. *Pest Manag Sci*, **59** : 269-278.

Decourtye A., Devillers J., Cluzeau S., Charreton M., Pham-Delègue M.H. (2004). Effects of imidacloprid and deltamethrin on associative learning in honeybees under semi-field and laboratory conditions. *Ecotoxicol Environ Safe*, **57** : 410-419.

Decourtye A., Devillers J., Genecque E., Lemenach K., Budzinski H., Cluzeau S., Pham-Delègue M.H. (2005).Comparative sublethal toxicity of nine pesticides on olfactory learning performances of the honeybee *Apis mellifera*. *Arch Environ Contam Toxicol*, **48** : 242-250.

Delabie J., Bos C., Fonta C., Masson C. (1985). Toxic and repellent effects of cypermethrin on the honeybee: laboratory, glasshouse and field experiments. *Pestic Sci*, **16** : 409-415.

Devillers J., Doré J.-C., Tisseur M., Cluzeau S., Maurin G. (2004). Modelling the flight activity of *Apis mellifera* at the hive entrance. *Comput Electron Agric*, **42** : 87-109.

European Commission (1996). Commission Directive 96/12/EC. *Official Journal of European Community*, **65** : 20-37.

EPPO (European and mediterranean Plant Protection Organization) (1993). Guideline on test methods for evaluating the side-effects of plant protection products on honeybees. *OEPP EPPO Bull*, **22** : 203-215.

Estesen B., Buck N., Waller G., Taylor K., Mamood A. (1992). Residual life and toxicity to honey bees (Hymenoptera: Apidae) of selected insecticides applied to cotton in Arizona. *J Econ Entomol*, **85** : 700-709.

Faucon J.-P., Colin M.-E. (1983). Bizarres disparitions. *Revue Fr Apiculture*, **422** : 411.

Fernandez Muino M.A., Sancho M.T., Simal Gandara J., Creus Vidal J.M., Huidobro J.F., Simal Lozano J. (1995). Organochloride pesticide residues in Galician (NW Spain) honey. *Apidologie*, **26** : 33-38

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Fiedler L. (1987). Assessment of chronic toxicity of selected insecticides to honeybees. *J Apic Res*, **26** : 115-122.

Fries I., Wibran K. (1987). Effects on honey-bee colonies following application of the pyrethroids cypermethrin and PP 321 in flowering oilseed rape. *Am Bee J*, **127** : 266-269.

Guez D., Suchail S., Gauthier M., Maleszka R., Belzunces L.P. (2001). Contrasting effects of imidacloprid on habituation in 7- and 8-day-old honeybees (*Apis mellifera*). *Neurobiol Learn Mem*, **76** : 183-191.

Hassan S. (1989). Testing methodology and the concept of the IOBC/WPRS working group. *In* Winborn J.P., *Pesticides and non target invertebrates*. Intercept Andover, 1-18.

Johansen C.A. (1977). Pesticides and pollinators. *Annu Rev Entomol*, **22** : 177-92.

Kearns C.A., Inouye D.W., Waser N.M. (1998). Endangered mutualisms: the conservation of plant-pollinator interactions. *Annu Rev Ecol Syst*, **29** : 83-112.

Kevan P., Plowright R. (1995). Impact of pesticides on forest pollination. *In* Armstrong J., Ives W., *Forest insect pests in Canada*. Otawa, Ontario, 607-618.

Kirchner W.H. (1999). Mad-bee-disease? Sublethal effects of Imidacloprid ("Gaucho") on the behavior of honey-bees. *Apidologie*, **30** : 422.

Lensing W. (1987). Changes in honeybee workers after feeding on sublethal doses of dimethoate. *Apidologie*, **18** : 353-355.

Louveaux J. (1984). Les traitements phytosanitaires et les insectes pollinisateurs. *In* Pesson P., Louveaux J., *Pollinisation et productions végétales*. INRA, Paris, 566-575.

MacKenzie K.E., Winston M.L. (1989). The effects of sublethal exposure to diazinon, carbaryl and resmethrin on longevity and foraging in *Apis mellifera* L. *Apidologie*, **20** : 29-40.

Malone L., Tregidga E., Todd J., Burgess E., Philip B., Markwick N., Poulton J., Christeller J., Lester M., Gatehouse H. (2002). Effects of ingestion of a biotin-binding protein on adult and larval honey bees. *Apidologie*, **33** : 447-458.

Nation J.L., Robinson F.A., Yu S.J., Bolten A.B. (1986). Influence upon honeybees of chronic exposure to very low levels of selected insecticides in their diet. *J Apic Res*, **25** : 170-177.

Nauen R., Tietjen K., Wagner K., Elbert A. (1998). Efficacy of plant metabolites of imidacloprid against *Myzus persicae* and *Aphis gossypii* (*Homoptera: Aphididae*). *Pestic Sci*, **52** : 53-57.

Naumann K., Isman M. (1996). Toxicity of a neem (*Azadirachta indica* A. Juss) insecticide to larval honey bees. *Am Bee J*, **136** : 518-520.

Nunamarker R.A., Hatvey A.J., Wilson W.T. (1984). Inability of honey bee colonies to rear queens following exposure to fenthion. *Am Bee J*, **124** : 308-309.

Oomen P.A., De Ruijter A., van der Steen J. (1992). Method for honeybee brood feeding tests with insect growth-regulating insecticides. *OEPP EPPO Bull*, **22** : 613-616.

Pham-Delègue M.H., Cluzeau S. (1998). *Effets des produits phytosanitaires sur l'abeille. Incidence du traitement des semences de tournesol par Gaucho sur les disparitions de butineuses*. Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, Paris.

Pimentel D., Wilson C., MacCullum C., Huang R., Dwen P., Flack J., Tran Q., Saltman T., Cliff B., (1997). Economic and environmental benefits of biodiversity. *Bioscience*, **47** : 747-757.

Robinson G. (1985). Effects of juvenile hormone analogue on honey bee foraging behaviour and alarm pheromone production. *J Insect Physiol*, **31** : 277-282.

Russel D., Meyer R., Bukowski J. (1998). Potential impact of microencapsulated pesticides on New Jersey apiaries. *Am Bee J*, **138** : 207-210.

Schmuck R., Schöning R., Stork A., Schramel O. (2001). Risk to honeybees (*Apis mellifera* L., *Hymenoptera*) by an imidacloprid seed dressing of sunflowers. *Pest Manag Sci*, **57** : 225-238.

Schmuck R, Stadler T, Schmidt H (2003). Field relevance of a synergistic effect observed in the laboratory between an EBI fungicide and a chloronicotinyl insecticide in the honeybee (*Apis mellifera* L, *Hymenoptera*). *Pest Manag Sci*, **59** : 279-286.

Smirle M., Winston M. (1987). Intercolony variation in pesticide detoxification by the honey bee (*Hymenoptera: Apidae*). *J Econ Entomol*, **80** : 5-8.

Stoner A., Wilson W.T., Rhodes H.A. (1982). Carbofuran: effect of long-term feeding of low doses in sucrose syrup on honey bees in standard-size field colonies. *Environ Entomol*, **11** : 53-59.

Struye M.H., Mortier H.J., Arnold G., Miniggio C., Borneck R. (1994). Microprocessor-controlled monitoring of honey bee flight activity at the hive entrance. *Apidologie*, **25** : 384-395.

Suchail S., Guez D., Belzunces L.P. (2000). Characteristics of imidacloprid toxicity in two *Apis mellifera* subspecies. *Environ Toxicol Chem*, **19** : 1901-1905.

Suchail S., Guez D., Belzunces L.P. (2001). Discrepancy between acute and chronic toxicity induced by imidacloprid and its metabolites in *Apis mellifera*. *Environ Toxicol Chem*, **20** : 2482-2486.

Taséi J. (2001). Effects of insect growth regulators on honey bees and non-*Apis* bees. A review. *Apidologie*, **32** : 527-545.

Thompson H.M. (2003). Behavioural effects of pesticides in bees – their potential for use in risk assessment. *Ecotoxicol*, **12** : 317-330.

Tisseur M., Rodriguez A., Gandrey J., Maurin G., Devillers J. (2002). *Étude sur la modélisation de l'activité des colonies d'abeilles dans le but d'estimer les modifications de leur comportement*. ACTA/DGAL, Paris.

van Leeuwen C., Bro-Rasmussen F., Feijtel T., Arndt R., Bussian B., Calamari D., Glynn P., Grandy N., Hansen B., van Hemmen J., Hurst P., King N., Koch R., Müller M., Solbé J., Speijers G., Vermeire T. (1996). Risk assessment and management of new and existing chemicals. *Environ Toxicol Pharmacol*, **2** : 243-299.

Vandame R., Meled M., Colin M.E., Belzunces L.P. (1995). Alteration of the homing-flight in the honey bee *Apis mellifera* L. exposed to sublethal dose of deltamethrin. *Environ Toxicol Chem*, **14** : 855-860.

Waller G., Erikson B., Harvey J., Martin J. (1984). Effects of dimethoate on honeybees (Hymenoptera: Apidae) when applied to flowering lemons. *J Econ Entomol*, **77** : 70-74.

Williams I.H. (1996). Aspects of bee diversity and crop pollination in the European Union. *In* Matheson A., Buchmann S.L., O'Toole C., Westrich P., Williams I.H., *The conservation of bees*. Academic press, London, 63-80.

Wimmer F. (1987). Recensement des cas de mortalité d'abeilles de 1982 à 1986. *Phytoma*, **243** : 12-14.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un delit

11

Effets adverses des produits phytosanitaires sur la santé humaine

Luc Multigner, Sylvaine Cordier,
Bernard Jégou

Depuis la fin du XX^e siècle, l'impact de l'environnement sur la santé humaine suscite un intérêt grandissant. Bien que le développement industriel s'accompagne d'une amélioration de nombreux indicateurs de santé (par exemple l'allongement de la durée de vie), il génère simultanément des craintes sur son influence négative à plus long terme sur la santé humaine. Parmi la diversité de notre environnement, l'environnement chimique est l'un de ceux qui suscitent le plus d'appréhensions. Les produits phytosanitaires sont, à tort ou à raison, des porteurs emblématiques des angoisses de la population face au risque chimique.

Les effets adverses des produits phytosanitaires sur la santé humaine constituent un vaste sujet du fait de la grande diversité des matières actives mises sur le marché. Plus de 43 000 articles scientifiques traitant de ces aspects étaient répertoriés en janvier 2004 sur la base de données *Medline*, l'une des plus importantes bases de données de bibliographie médicale. En dépit de ces nombreux travaux, les connaissances sont encore fragmentaires ou imprécises pour un grand nombre de ces produits. De plus, la diversité des caractéristiques physiques, chimiques et toxicologiques des matières actives rend difficile toute généralisation. Seuls des recoupements peuvent être réalisés lorsqu'on fait référence aux constituants d'une même famille chimique et à condition qu'ils possèdent des caractéristiques toxicologiques et toxico-cinétiques similaires.

Réaliser une revue détaillée sur l'état des connaissances des effets adverses de phytosanitaires sur la santé humaine dépasse donc largement le cadre de ce texte. Cet article s'attachera néanmoins à faire état des connaissances les plus significatives et les aspects qui constitueront vraisemblablement des enjeux au cours du XXI^e siècle.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1. *Phytosanitaires ou pesticides ?*

Le terme pesticide désigne de manière générique l'ensemble des produits destinés à lutter contre les parasites animaux ou végétaux. Cet anglicisme, issu du latin *pestis* (épidémie, fléau) et *cædere* (tuer), souligne l'intention de ces substances à lutter contre des nuisances biologiques. L'appellation phytosanitaire ou phytopharmaceutique introduit sémantiquement une dimension positive de protection des végétaux, en particulier vis-à-vis des cultures. Cependant, les mêmes matières actives employées en agriculture peuvent être également utilisées dans d'autres secteurs professionnels (entretien de la voirie, des voies ferrées, des sites industriels, des parcs et jardins) ou être destinées à un usage domestique ou médical. Ainsi, à titre d'exemple, si l'on s'intéresse aux effets non intentionnels des insecticides pyréthrinoïdes sur la santé humaine, on devra tenir compte des expositions liées à leurs usages agricoles, domestiques (anti-moustique) ou thérapeutiques (anti-poux). Le terme pesticide est couramment employé dans la littérature scientifique et nous ferons de même tout le long de ce texte.

La plupart des pesticides, qu'ils soient naturels ou de synthèse, sont des produits biologiquement actifs et donc intentionnellement toxiques pour certains organismes. Du fait de la dangerosité intrinsèque de la plupart des pesticides, le contact inopiné de ces substances avec des cibles non désignées risque d'entraîner des troubles graves pour ces dernières. L'homme constitue l'une de ces cibles involontaires du fait qu'il est l'applicateur de ces substances mais aussi parce qu'il est le consommateur de ressources alimentaires susceptibles d'être contaminées par des résidus. Ces deux contextes d'exposition aux pesticides soulignent deux risques bien différents, le premier lié à des expositions potentiellement élevées, le second lié à des expositions généralement très faibles mais répétées.

2. *Effets aigus ou précoces*

Les effets aigus ou précoces constituent les effets non intentionnels des pesticides les mieux documentés. Ils s'observent peu de temps après une exposition (heures ou jours) et font suite habituellement à de fortes expositions. Les effets aigus s'observent principalement en milieu professionnel et particulièrement parmi les applicateurs ou manipulateurs des pesticides. Ils peuvent être la conséquence de manipulations intempestives ou incorrectes, ou bien de l'insuffisance de moyens individuels ou collectifs de protection. La gravité des effets sera *grosso modo* proportionnelle à la toxicité aiguë de la matière active, habituellement évaluée par sa DL_{50} (dose létale unique conduisant à la mortalité de 50 % des animaux de laboratoire). Les symptômes dépendront du profil toxicologique de la molécule ainsi que de la voie de contact et/ou de pénétration dans l'organisme (Ecobichon, 1996). Du fait de la proximité temporelle entre l'exposition et l'effet délétère, il est

possible dans la plupart des cas d'identifier l'agent causal et d'apporter, lorsque cela est possible, le traitement approprié.

Les lésions cutanées et oculaires apparaissent comme les effets aigus les plus fréquents des pesticides (Spiewak, 2000). Du fait de leur précocité, ces manifestations constituent régulièrement le premier signe d'appel d'un contact non désiré avec ces substances. Pour un grand nombre de matières actives dont le mécanisme d'action est basé sur l'interruption du flux nerveux, les troubles neurologiques seront fréquents et parfois d'apparition subite. Ces troubles affectent aussi bien le système nerveux central que le système nerveux périphérique. Les intoxications aiguës peuvent également se manifester au niveau du système respiratoire, digestif ou circulatoire. Lorsque les capacités de détoxication de l'organisme sont saturées par de fortes expositions, l'insuffisance hépatique ou rénale s'installe mettant en péril la survie des individus.

Le nombre d'intoxications et de décès annuels imputables à l'utilisation des pesticides dans le monde est difficile à estimer. Selon l'Organisation mondiale de la santé et le Bureau international du travail (BIT), on recenserait plusieurs millions de cas d'intoxications annuels et des dizaines de milliers de décès (WHO, 1990 ; BIT, 1994). Près de 70 % de ces événements se produisent dans les pays en voie de développement dans lesquels l'activité agricole et l'usage de pesticides concernent plus de 60 % des hommes comparés à 9 % environ dans les pays développés. Cependant, le volume annuel des pesticides employés dans les pays en voie de développement ne représente que 20 % du volume mondial. Les raisons du grand nombre d'accidents liés aux pesticides dans les pays en développement sont diverses. De nombreux produits obsolètes, interdits dans les pays occidentaux du fait de leur dangerosité et/ou de leur persistance dans l'environnement, y sont couramment employés. L'approvisionnement de ces pesticides provient soit d'anciens stocks soit d'une fabrication fréquemment illégale. À cela s'ajoutent une absence de formation à l'utilisation de ces produits et l'insuffisance des moyens de protection. Dans certains cas la toxicité des produits employés est telle que même le port de protections devient inefficace à moins de porter des combinaisons étanches. Cette pratique est souvent rédhibitoire pour effectuer correctement les taches à accomplir ou incompatible avec les conditions climatiques.

Les accidents aigus existent également dans les pays développés. En France, ces accidents sont surveillés et comptabilisés par le réseau de toxicovigilance créé par la Mutuelle sociale agricole et opérationnel sur le territoire métropolitain depuis 1997 (http://www.msa.fr). Bien que limité au secteur agricole, ce réseau aide néanmoins à mieux cerner les risques lors de l'utilisation professionnelle des pesticides. Il a pu ainsi être montré que les insecticides, tout en étant moins utilisés que les fongicides ou les herbicides, sont plus fréquemment à l'origine des effets indésirables observés chez les professionnels applicateurs des pesticides. L'une des explications possibles est la plus grande toxicité intrinsèque des insecticides comparée aux herbicides ou aux fongicides.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

3. *Effets chroniques ou retardés*

Les effets chroniques ou retardés des pesticides sur la santé se manifestent soit à distance d'une exposition unique et intense, soit à la suite d'expositions de faibles intensités mais répétées dans le temps. Ces dernières sont de loin les plus fréquentes et concernent potentiellement l'ensemble de la population, qu'elle soit exposée professionnellement ou par l'environnement (air, eau, alimentation). Les effets observés pourraient résulter de l'accumulation de molécules qui s'éliminent lentement, atteignant un seuil de concentration critique au bout d'un certain temps ou bien, pour des molécules qui sont rapidement éliminées, découler de l'addition d'effets sous-cliniques et irréversibles.

Il n'existe pas à ce jour de statistiques convaincantes sur les effets sanitaires retardés imputables aux pesticides. Alors que des fractions attribuables de morbidité ou de mortalité sont calculables pour une diversité de risques chimiques (pollution atmosphérique, dioxines), aucune estimation n'a pu encore être faite concernant les pesticides. Il est vrai que les effets retardés des pesticides recouvrent une réalité de troubles hétérogènes (cancer, problèmes de reproduction, atteintes des systèmes endocrinien et nerveux) souvent mal identifiés et qui apparaissent, par définition, à distance des expositions soulevant ainsi de nombreuses incertitudes au moment d'évaluer les risques (Baldi *et al.*, 1998).

Les modèles toxicologiques couramment employés de nos jours, en particulier l'utilisation des animaux de laboratoires, apportent des éléments pertinents pour prévoir certains dangers des pesticides. Cependant, ils prédisent difficilement les effets qui pourraient être observés à long terme chez l'homme. Certaines caractéristiques physiologiques ou métaboliques qui vont conditionner la toxicité d'une molécule ne sont pas toujours extrapolables de l'animal à l'homme. De plus, les animaux de laboratoire à courte durée de vie (essentiellement rongeurs et lagomorphes) ne peuvent pas toujours renseigner utilement sur les problèmes spécifiques de santé se développant à un âge avancé chez l'homme. C'est ainsi que la plupart des connaissances sur les effets sanitaires retardés des pesticides ont été acquises par des approches épidémiologiques. Ces dernières, selon le type d'étude mis en œuvre et les moyens développés pour estimer les expositions d'une part et les effets sanitaires d'autre part, vont permettre d'apporter une contribution plus ou moins importante à la causalité de l'association étudiée (Nurminen *et al.*, 1999). Dans la majorité des études effectuées à ce jour, les expositions ont été évaluées rétrospectivement et par des mesures indirectes (Baldi *et al.*, 1999). Tenant compte de l'éloignement temporel entre le moment de l'exposition supposée et l'effet recherché, il est souvent très difficile de conclure avec précision sur l'agent causal. Les études dites prospectives (études de cohorte par exemple) permettent de contourner cette difficulté dans la mesure où les expositions sont évaluées au moment où elles se produisent et avant l'apparition des effets délétères. Cependant, cette approche est limitée du fait qu'il est souvent nécessaire d'attendre de nombreuses années avant de pouvoir conclure à d'éventuelles conséquences délétères.

Les études épidémiologiques destinées à identifier les effets retardés des pesticides ont été principalement effectuées chez des populations professionnellement exposées, en particulier les agriculteurs. Dans les années à venir, les études s'adressant à la population générale et s'intéressant en particulier aux expositions domestiques ou environnementales seront amenées à se développer. Les populations les plus vulnérables, en particulier les femmes enceintes, les nourrissons et les enfants devront faire l'objet d'une attention toute particulière. Mais tenant compte des faibles expositions, cela ne pourra se faire qu'avec des outils permettant des mesures sensibles d'expositions et tenant compte des expositions internes ou biologiques correspondantes à la fraction effectivement absorbée.

3.1. Effets sur la reproduction

La reproduction comprend l'ensemble des étapes qui vont depuis la production des gamètes conditionnant la fertilité, jusqu'à la maturité sexuelle des individus en passant par la fécondation et nidation de l'œuf puis le développement embryonnaire et fœtal. Toutes ces étapes se caractérisent par de nombreuses divisions cellulaires extrêmement sensibles aux agents environnementaux. De nombreuses observations effectuées au cours des dernières décennies du XX^{e} siècle nous ont appris que les pesticides, comme de nombreux autres xénobiotiques pouvaient être à l'origine de troubles de la reproduction chez l'homme. À ce jour, deux domaines ont été principalement explorés, la fertilité d'une part, et le développement embryonnaire et fœtal d'autre part.

3.1.1. Fertilité

Le potentiel toxique de certains pesticides sur la fonction de reproduction a été pris sérieusement en considération à la suite des conséquences dramatiques liées à l'emploi du dibromochloropropane (DBCP). Ce nématicide développé aux États-Unis à la fin des années 50, a été commercialisé dans de nombreux pays d'Amérique centrale et d'Asie du Sud-Est. Son principal domaine d'application fut la culture de la banane, et son utilisation a perduré jusqu'à la fin des années 80. Les essais de toxicité animale avant enregistrement aux États-Unis avaient clairement montré que le DBCP réduisait la production de spermatozoïdes et conduisait à l'atrophie des testicules. Malheureusement, ces informations ne furent jamais transmises aux autorités gouvernementales, et le DBCP reçut l'autorisation de commercialisation en 1964. C'est en 1977, parmi les ouvriers travaillant dans les usines de production du DBCP aux États-Unis que furent signalés les premiers cas d'infertilité (Whorton *et al.*, 1979). La mise en cause du DBCP fut immédiate et sans équivoque, entraînant peu de temps après son bannissement aux États-Unis. Néanmoins, son exportation dans les pays producteurs de banane s'est poursuivie et ce n'est que quelques années plus tard que les conséquences dramatiques sur la fertilité des ouvriers agricoles furent mises en évidence. À ce jour, ce sont plusieurs dizaines de milliers d'ouvriers agricoles de sexe masculin dont l'infertilité a été imputée, sans aucune ambiguïté, à l'utilisation du DBCP (Slutsky *et al.*, 1999).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

C'est également en 1977 qu'on a découvert les effets sur la fertilité masculine d'un insecticide organochloré, le chlordécone. Une centaine d'ouvriers fabriquant cette molécule aux États-Unis ont présenté, à divers degrés, un syndrome toxique associant des symptômes neurologiques et une atteinte de leur fertilité (Taylor, 1982). La toxicité du chlordécone semble être reliée à ses propriétés hormonales anti-œstrogènique et, à ce titre, elle est l'une des premières substances à avoir été classée comme perturbateur endocrinien. Sans toutefois égaler la gravité associée à l'emploi du DBCP ou du chlordécone, des anomalies du sperme ont été également rapportées chez des ouvriers agricoles utilisant des molécules telles que le dibromure d'éthylène (Schrader *et al.*, 1988). Ces pesticides ne sont plus utilisés, tout au moins dans les pays industrialisés.

Plus récemment, plusieurs études, réalisées en Europe et s'intéressant à la fertilité des applicateurs de pesticides, ont généré des conclusions discordantes. Ainsi, au Danemark, il a été observé chez des agriculteurs travaillant en serre une relation inverse entre le nombre de spermatozoïdes et l'intensité de l'exposition à des pesticides (Abell *et al.*, 2000a), alors qu'aucune différence de qualité du sperme n'a été observée entre un groupe d'agriculteurs « bio » (non-applicateurs de pesticides) et des agriculteurs conventionnels utilisant ces produits (Larsen *et al.*, 1999). D'autres approches, utilisant la mesure du délai nécessaire à concevoir (DNC) comme indicateur indirect de la fertilité, ont abouti également à des résultats contradictoires. Une augmentation significative du DNC a été rapportée chez les couples dont l'homme était exposé à des pesticides aux Pays-Bas (arboriculteurs) et en Italie (cultures en serre) (de Cock *et al.*, 1994 ; Petrelli et Figa-Talamanca, 2001). En revanche, aucun effet de l'exposition paternelle aux pesticides sur le DNC n'a pu être mis en évidence parmi diverses catégories d'agriculteurs danois (grandes cultures, cultures en serre) et français (viticulture en Alsace) (Thonneau *et al.*, 1999). Ces résultats divergents pourraient s'expliquer par la diversité des pesticides utilisés qui sont fonction des cultures et des conditions climatiques. De plus, l'exposition simultanée de ces populations à un nombre important de matières actives, parfois plusieurs dizaines au cours d'une saison d'épandage, rend particulièrement difficile l'établissement d'une association avec une substance donnée.

Les études réalisées auprès de populations d'hommes consultant pour infertilité, montrent de manière concordante, que l'exposition professionnelle à des pesticides constitue un facteur de risque significatif pour des caractéristiques du sperme situées en dessous des seuils considérés comme limite pour une capacité procréatrice adéquate (Bigelow *et al.*, 1998 ; Oliva *et al.*, 2001). Ces exemples montrent bien qu'il reste encore beaucoup à explorer en matière d'impact des pesticides sur la fertilité masculine, et qu'il est nécessaire d'identifier la ou les molécules qui seraient à l'origine de ces problèmes. Notons finalement que l'impact éventuel des pesticides sur la fertilité féminine a été peu étudié. Quelques études exploratoires suggèrent que l'exposition maternelle à des pesticides (sans autre précision) entraîne une augmentation du DNC (Abell *et al.*, 2000b, Greenlee *et al.*, 2003). Il est manifeste que ces résultats nécessitent confirmation.

3.1.2. Développement embryonnaire et fœtal

L'introduction des herbicides de la famille des acides phénoxyacétiques (2,4-D) et leur possible contamination par les dioxines, a entraîné, à partir des années 80, de nombreuses recherches concernant leurs implications dans l'apparition d'anomalies congénitales. La plupart de ces études n'ont pas mis significativement en évidence les effets d'une telle association. Au début des années 90, une étude américaine a rapporté une augmentation du risque d'apparition d'anomalies congénitales du tractus digestif chez des femmes résidentes dans des zones d'épandage aérien de malathion (Thomas *et al.*, 1992). À la même époque, l'utilisation d'herbicides en horticulture en Colombie a été associée de manière significative à l'apparition d'anomalies mineures telles que les taches de naissance (Restrepo *et al.*, 1990). Une étude aux États-Unis a signalé une augmentation de certaines catégories de malformations congénitales, comme les anomalies du système nerveux central ou les fentes orales, en association avec une exposition parentale aux pesticides ou à des lieux de résidence maternelle à proximité de champs cultivés sans autres précisions sur les produits employés (Shaw *et al.*, 1999). Deux autres études, l'une réalisée au sud de l'Espagne (Garcia-Rodriguez *et al.*, 1996) et l'autre au Danemark (Weidner *et al.*, 1998), ont montré une association entre l'utilisation de pesticides, en particulier par la mère, et le risque de cryptorchidie (non-descente testiculaire) mais sans précision sur les molécules utilisées.

Les expositions maternelles pré ou post-conceptionnelles peuvent être à l'origine d'issues défavorables de grossesses (avortement, retard de croissance intra-utérin, prématurité). Divers travaux suggèrent un effet de l'exposition maternelle aux pesticides sur le risque de mortalité intra-utérine et sur la diminution de la croissance fœtale, mais la portée des conclusions est limitée par de nombreux problèmes méthodologiques (Arbuckle et Sever, 1998). Toutefois, il convient de signaler deux études récentes. L'une est exploratoire et constate une augmentation modérée de risques d'avortements liés à l'exposition pré-conceptionnelle à certains herbicides (acides phénoxyacétiques, triazines, glyphosate et thiocarbamates) (Arbuckle *et al.*, 2001). L'autre, assez convaincante, montre une association significative entre prématurité et concentration sérique maternelle de dichlorodiphényléthane (DDE), l'un des métabolites du dichlorodiphényltrichloréthane (DDT), au cours de la grossesse (Longnecker *et al.*, 2001). Cette dernière étude souligne la nécessité de continuer à rechercher les risques associés aux pesticides qui persistent dans l'environnement et en particulier les organochlorés.

3.2. Effets neurologiques

Les effets neurotoxiques constituent l'une des manifestations les plus fréquentes des intoxications aiguës aux pesticides. La possibilité d'effets neurologiques retardés à la suite d'expositions chroniques et répétées a donc constitué également une voie logique d'investigation.

Certaines manifestations retardées peuvent se produire suite à un épisode d'intoxication unique et aiguë (Jamal, 1997). Il s'agit de l'apparition d'un syndrome

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

dénommé « intermédiaire » et caractérisé dans un premier temps par une paralysie des nerfs crâniens, une faiblesse musculaire proximale et une faiblesse musculaire respiratoire. Plus tard, c'est l'installation d'une poly-neuropathie. Cependant, la plupart des effets chroniques ou retardés des pesticides vont apparaître à la suite d'expositions d'intensités plus faibles mais répétées et se caractériser par des manifestations neuropsychiques et comportementales ou par des atteintes du système nerveux central à l'origine d'atteintes neuro-dégénératives (maladie de Parkinson).

3.2.1. Troubles comportementaux et psychiques

Plusieurs études suggèrent que l'exposition professionnelle à des pesticides, principalement organochlorés ou organophosphorés, est associée à une diminution progressive des capacités neuro-comportementales et à l'apparition de troubles neuro-psychologiques tels que des difficultés de concentration, troubles de la mémoire ou anxiété (Stephens *et al.*, 1995 ; van Wendel de Joode *et al.*, 2001). Une étude conduite aux États-Unis parmi plus de 700 agriculteurs a montré que l'exposition à des organophosphorés à des niveaux relativement élevés (ayant entraîné des intoxications aiguës) conduisait à l'apparition de symptômes dépressifs indépendamment d'autres facteurs de risque connus (Stallones et Beseler, 2002).

En France, une enquête épidémiologique réalisée en Gironde, a mis en évidence que l'exposition chronique aux pesticides chez des ouvriers viticoles altère leurs performances neuro-psychologiques évaluées par une batterie de tests neuro-comportementaux. Ces effets persistent lorsqu'ils sont ajustés à l'âge, au sexe, au niveau de scolarisation, à la consommation d'alcool et de tabac et aux symptômes dépressifs préexistants. Selon les auteurs, les effets seraient attribuables aux fongicides du fait qu'ils sont les pesticides les plus fréquemment employés par les viticulteurs (Baldi *et al.*, 2001).

Deux études se sont intéressées aux conséquences des expositions aux pesticides organochlorés sur le développement neurologique de l'enfant. Une étude réalisée aux États-Unis n'a pas montré de lien entre les niveaux d'expositions périnatales au DDE (principal métabolite biologiquement actif du DDT) et le développement psychomoteur des enfants à deux ans d'âge (Gladen et Rogan, 1991), alors qu'une étude récente réalisée en Espagne a montré une association significative entre exposition périnatale au DDE et un retard mental et psychomoteur mesuré à 13 mois (Ribas-Fito *et al.*, 2003).

3.2.2. Maladies neuro-dégénératives

Parmi les nombreuses maladies neuro-dégénératives, la maladie de Parkinson a fait l'objet d'un très grand nombre de travaux qui ont exploré le rôle des pesticides comme cause de la maladie. En France, d'importantes recherches épidémiologiques sont actuellement réalisées. Dans le cadre d'une cohorte prospective d'agriculteurs suivis dans la région du Sud-Ouest depuis 1992, il a été montré que l'exposition professionnelle à des pesticides entraînait une augmentation significative de l'apparition de la maladie de Parkinson (Baldi *et al.*, 2003a). Ces observations ont été

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

confirmées par une étude de type cas-témoins réalisée dans la même région (Baldi *et al.*, 2003b), et corroborent les conclusions de plusieurs études internationales (Priyadarshi *et al.*, 2000). Néanmoins, ces travaux n'ont pas permis de mettre clairement en évidence une relation dose-réponse et aucune matière active précise n'a pu être identifiée. Certaines de ces publications révèlent également que le fait d'avoir eu une activité professionnelle agricole (indépendamment de l'emploi de pesticides), ainsi que la consommation des eaux de puits, augmentent le risque de maladie de Parkinson. Est-ce que ces facteurs traduisent l'exposition aux pesticides en milieu agricole ou bien un autre facteur présent dans la vie rurale mais non encore identifié ? Même limitées, les conclusions des études épidémiologiques sont néanmoins appuyées par des données expérimentales chez l'animal qui soutiennent l'hypothèse toxique du développement de la maladie de Parkinson. Dans cette affection, les neurones dopaminergiques situés sur la voie nigro-striatale sont sélectivement détruits. Plusieurs pesticides, dont la roténone, un pesticide autorisé en agriculture biologique, mais aussi la dieldrine, le paraquat et le manèbe, induisent sélectivement une destruction des neurones dopaminergiques (Thiruchelvam *et al.*, 2000).

Bien que la maladie de Parkinson soit associée à un âge avancé, l'hypothèse que la mort progressive des neurones dopaminergiques pourrait être la conséquence d'événements initiés durant le développement intra-utérin a été récemment soulevée (Thiruchelvam *et al.*, 2002). Si cela est confirmé, les expositions maternelles périconceptionnelles à des pesticides pourraient alors constituer un risque important.

3.3. Cancer

Le cancer constitue un risque sanitaire lié aux pesticides particulièrement médiatisé. Malgré un grand nombre d'études toxicologiques et épidémiologiques, on dispose de peu de résultats soutenant une association entre pesticides et cancer. Cependant, ne pas être capable d'identifier un risque ne veut pas obligatoirement dire qu'il n'existe pas. Les origines multi-factorielles des pathologies cancéreuses ainsi que la diversité des substances cancérogènes présentes dans l'environnement, rendent les estimations des associations très incertaines et probablement les sous-estiment lorsqu'elles existent. Ici encore, les populations agricoles professionnellement exposées aux pesticides ont fait l'objet du plus grand nombre d'études en matière d'association de ces produits avec des manifestations cancéreuses. Plus récemment, un intérêt croissant a été porté sur l'apparition de cancers chez l'enfant à la suite d'expositions domestiques. Parmi les diverses familles chimiques de pesticides, les organochlorés ont fait l'objet de nombreuses recherches dans ce domaine et nous évoquerons, à titre d'illustration, le cas du DDT qui suscite encore de nos jours de nombreux débats.

Le DDT est la molécule la plus emblématique parmi les insecticides organochlorés qui se sont développés à partir de la Seconde Guerre mondiale. Le DDT, en dépit de sa contribution substantielle à la protection de la santé des populations *via* la lutte antimoustique et au contrôle de nombreuses maladies transmissibles, a été stigmatisé par Carson (1962) dans son ouvrage (*Silent Spring*) en soulignant

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

les dangers qu'ils pourraient entraîner à long terme sur l'environnement en général, et sur la santé de l'homme en particulier, du fait de sa persistance dans l'environnement.

Outre les aspects de type « perturbateur endocrinien » qui seront évoqués plus loin, le DDT, et dans une moindre mesure les autres pesticides organochlorés, ont suscité de vives inquiétudes concernant leur potentiel cancérogène. Sur la base d'observations chez l'animal plusieurs études épidémiologiques ont montré que les expositions humaines au DDT étaient associées à une augmentation de risque de certains cancers tels que celui du pancréas, du sein et des tissus hématopoïétiques (lymphomes et leucémies) (Jaga et Brosius, 1999). Le cancer du sein, de par sa fréquence et de par son hormono-dépendance, a fait l'objet de la majorité des études. Toutefois, la plupart des études épidémiologiques conduites depuis le milieu des années 90 n'ont pas confirmé les observations antérieures associant l'existence de cancer du sein à la présence d'insecticides organochlorés, soit dans le tissu mammaire, soit dans le sérum sanguin. Les résultats des études conduites dans des populations d'origine différente (Europe, Amérique du Nord, Amérique latine) ne concordent pas. Alors que les études conduites en Europe ou en Amérique du Nord ne mettent pas en évidence le rôle du DDT, les populations de pays ayant eu des utilisations plus récentes montrent des risques accrus de cancer du sein (Snedeker, 2001). Une des explications serait la différence d'activité œstrogénique des différents métabolites du DDT retrouvée lors d'expositions par voie alimentaire (ce qui est le cas des pays développés) ou résultant d'usages agricoles (pays en voie de développement).

3.3.1. Exposition professionnelle aux pesticides et cancer

Au plan international, la plupart des publications montrent que les agriculteurs des pays développés présentent une espérance de vie plutôt supérieure à la moyenne du fait d'une sous-mortalité par maladies cardiovasculaires et par cancer, en particulier les plus fréquents (poumon, vessie, colon). Cette sous-mortalité serait associée à une plus faible consommation de tabac et à une alimentation plus équilibrée. Cependant, certains types de cancers semblent présenter une incidence plus élevée dans le monde agricole (Blair *et al.*, 1985 ; Rautiainen et Reynolds, 2002). Il s'agit en général de cancers peu fréquents voire rares tels que les cancers des lèvres, du cerveau, la plupart des cancers du système hématopoïétique (leucémies, myélomes, lymphomes), le mélanome cutané et les sarcomes des tissus mous. Les cancers de la prostate et de l'estomac, cancers nettement plus fréquents, ont été également évoqués. Divers facteurs ont été avancés pour expliquer l'augmentation de ces cancers dans les populations agricoles. Il s'agit principalement de l'exposition accrue au soleil, de certaines caractéristiques liées à l'alimentation, du contact avec des agents infectieux propres au bétail, des poussières et des fumées provenant des machines agricoles et bien évidemment l'emploi de pesticides. Ces agents pourraient être impliqués dans l'apparition de certaines tumeurs par le biais d'une diminution des défenses immunitaires (Blair et Zahm, 1995).

Des études de corrélation géographique (ou écologique) ont suggéré des associations possibles entre expositions aux pesticides et risque de cancer estimé par la morbidité ou la mortalité. Mais compte tenu des limites inhérentes à ce type d'enquête, les résultats ne peuvent à eux seuls, et en absence d'un minimum de plausibilité biologique, fournir les preuves d'une association. De très nombreuses études « cas-témoins » ont exploré les liens entre cancer et exposition professionnelle aux pesticides mais peu de conclusions définitives en sont ressorties. Une association significative a été retrouvée fréquemment pour certaines localisations tumorales, en particulier les lymphomes non hodgkiniens (Zahm et Blair, 1992). Des résultats contradictoires ont été publiés concernant les autres cancers hématopoïétiques (leucémies, myélomes), le cancer de la prostate et les sarcomes des tissus mous. La plupart de ces travaux se caractérisent par des insuffisances dans la mesure des expositions et les publications mettant en cause certaines classes spécifiques de produits sont rares. Quelques études se sont intéressées à la mortalité par cancer parmi les ouvriers fabriquant des pesticides. On ne retrouve qu'une association inconstante, préférentiellement dans des fabriques d'herbicides de type acide phénoxyacétique, ce qui laisse supposer un rôle des dioxines contaminantes (Flesch-Janys *et al.*, 1995). Une étude réalisée chez des ouvriers fabricant des herbicides de la famille des triazines n'a montré aucune association avec la survenue de cancer de la prostate (MacLennan *et al.*, 2002). Signalons une étude récente et bien conduite auprès d'une cohorte prospective de plus de 55 000 applicateurs de pesticides aux États-Unis. Parmi 45 pesticides fréquemment employés, il est apparu que l'utilisation professionnelle de pesticides organochlorés était associée à une augmentation du risque d'apparition du cancer de la prostate indépendamment de tout autre risque connu en particulier d'antécédent de prédisposition familiale (Alavanja *et al.*, 2003).

3.3.2. Cancer chez les enfants

Un accroissement du risque de cancer a été observé chez des enfants exposés à des pesticides avant la naissance ou pendant l'enfance. L'exposition peut provenir du travail agricole des parents ou de contaminations domestiques de l'habitat ou de l'alimentation. L'exposition des enfants à des pesticides a été le plus souvent associée aux tumeurs cérébrales et aux leucémies (plus rarement à des tumeurs germinales, des sarcomes ou des néphroblastomes) avec des valeurs d'accroissement du risque souvent supérieures à celles observées dans le cadre d'expositions professionnelles à des pesticides (Zahm et Ward, 1997). Pour ne mentionner que quelques études récentes, une association a été retrouvée entre l'apparition de lymphomes non hodgkiniens chez l'enfant et l'utilisation par les parents de pesticides, dans un cadre domestique ou professionnel, au moment de la conception, sans, toutefois, qu'aucun produit ne puisse être impliqué (Buckley *et al.*, 2000). Des résultats similaires, et concernant un risque accru soit de cancer de tous types soit de leucémie chez l'enfant, ont été publiés en Allemagne (Meinert *et al.*, 2000) et aux États-Unis (Ma *et al.*, 2002).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Malgré cela, il n'existe pas de consensus sur l'existence d'une augmentation de risque de cancer en raison des incertitudes liées au manque de données expérimentales sur les mécanismes biologiques sous-jacents mais aussi, et surtout, à l'imprécision dans la détermination des expositions aux pesticides. Ces études, dont le degré d'exposition est évalué à partir de l'interrogatoire des parents, sont généralement entachées d'un biais de mémorisation. En effet, les parents des enfants atteints sont plus prompts à reconnaître un contact avec des pesticides avant ou pendant la grossesse que les parents des enfants en bonne santé (Schuz *et al.*, 2003).

3.4. Perturbateurs endocriniens

Depuis la publication de quelques articles précurseurs dans les années 70 montrant les effets œstrogénique du DDT ou encore une féminisation d'embryons de mouettes par le DDT, il est apparu de nombreuses publications sur l'importance des risques sanitaires attribuables à des substances possédant des caractéristiques hormonales. Ces substances ont été regroupées sous le terme générique de « perturbateurs endocriniens » mais aussi de « xéno-hormones », « xéno-œstrogènes » ou « hormones environnementales ». Un perturbateur endocrinien peut donc être défini comme une substance exogène à l'organisme qui interfère sur la synthèse, l'excrétion, le transport, les liaisons, l'action ou l'élimination d'hormones naturelles. Celles-ci régulent, entre autre, l'homéostasie des milieux intérieurs et des fonctions telles que celle de la reproduction (Colborn *et al.*, 1993 ; Colborn, 1998).

L'hypothèse qu'il existe un lien entre l'exposition à des substances possédant la capacité d'imiter l'action des hormones endogènes, et des effets délétères sur la santé, a suscité beaucoup d'intérêt au cours des dernières années. De façon plus précise, on discute, surtout à l'heure actuelle, de la possibilité qu'une exposition, en particulier *in utero*, à ces substances, puisse être à l'origine :

- d'atteintes à la fonction de reproduction ;
- de malformations de l'appareil génital masculin ;
- de la diminution du nombre de spermatozoïdes ;
- de cancers hormonaux-dépendant (sein, prostate) ou de la sphère génitale (testicule) ;
- de modifications du comportement sexuel ainsi que des effets adverses sur le système immunitaire, nerveux et la fonction thyroïdienne (Sharpe et Skakkebaek, 1993 ; Toppari *et al.*, 1996).

Les effets nocifs des perturbateurs endocriniens sur la reproduction pourraient s'exercer au cours du développement de l'appareil génital pendant la vie fœtale en affectant la cascade normale d'expression génique impliquée dans la différentiation des gonades et les mécanismes de régulation endocrinienne gonadiques. De même, des phénomènes d'imprégnation (« *imprinting* ») à des moments critiques du développement pourraient favoriser l'apparition ultérieure de pathologies tumorales.

La plausibilité biologique de l'action délétère des perturbateurs endocriniens provient essentiellement de l'observation d'incidents liés à l'administration de

diéthylstilbestrol (DES) à des femmes enceintes. Cette molécule, qui n'est pas un pesticide mais un œstrogène de synthèse, était destinée à prévenir les fausses couches. Le DES a été à l'origine d'un nombre important de cancers du vagin, de malformations utérines et d'infertilité chez les filles des femmes traitées, ainsi que d'une diversité d'anomalies du développement de l'appareil génital et d'une faible production de spermatozoïdes chez les garçons.

Les perturbateurs endocriniens englobent une gamme très large et diversifiée de molécules comprenant des substances plastiques, des déchets industriels, des métaux lourds mais aussi des pesticides. Parmi ces derniers, outre le DDT et son métabolite le DDE, qui s'est révélé être un antagoniste des androgènes, de nombreuses autres matières actives sont concernées telles que le chlordécone (antagoniste des œstrogènes), le chlordane, la dieldrine, l'endosulfan, le toxaphène ou la vinchlozoline. Il n'existe pas de liste consensuelle communément admise par la communauté scientifique internationale des substances classées comme perturbateurs endocriniens. Cependant, de nombreuses listes ont été publiées par des institutions gouvernementales ou des organisations non gouvernementales. L'Union européenne a proposé une liste de substances candidates classées par ordre de priorité en terme d'évaluation (BKH, 2000).

À ce jour les perturbateurs endocriniens ont été identifiés sur la base d'une large variété de tests *in vivo* chez l'animal (test utérotrophique par exemple) ou *in vitro* en utilisant des lignées cellulaires ou des levures exprimant des récepteurs d'hormones stéroïdiennes. Face à l'absence notoire de standardisation, l'OCDE (Organisation du commerce et du développement économique) a mis en place des procédures de normalisation afin d'harmoniser au plan international les procédures de détection et de caractérisation des substances chimiques pouvant entraîner une perturbation hormonale.

Les expositions à des substances de type perturbateur endocrinien peuvent se produire dans un cadre professionnel mais également par des voies environnementales. Certains perturbateurs endocriniens sont particulièrement persistants dans l'environnement du fait de leur faible dégradation biotique et abiotique. D'autres présentent un caractère lipophile facilitant ainsi leur bio-accumulation et bio-amplification dans la chaîne alimentaire. Toutes ces propriétés concourent à ce que l'Homme puisse se trouver exposé à ces substances mêmes lorsqu'elles ne sont plus employées depuis longtemps.

Sur le plan épidémiologique, il n'existe pas encore d'études convaincantes, et encore moins de preuves irréfutables, que l'exposition à des pesticides de type perturbateurs endocriniens pourraient être à l'origine de désordres de la reproduction chez l'homme. L'existence de relations doses-effets non linéaires pour des substances à caractère hormonal, la multiplicité de substances de ce type auxquelles les populations sont exposées, et la possibilité de synergie ou d'antagoniste entre ces molécules, rendent particulièrement difficile la démonstration d'une association causale. Cependant, compte tenu de l'augmentation du nombre des programmes de recherche sur ce thème dans le monde, nous devrions voir apparaître des progrès

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

significatifs dans les années à venir et de nouvelles méthodes permettant d'évaluer les risques encourus par les populations.

Conclusion

Les pesticides représentent de par leurs propriétés intrinsèques une catégorie de substances susceptibles d'être dangereuses pour l'homme en cas de contact inopiné. Un nombre important d'intoxications aiguës se produisent annuellement chez les applicateurs de par le monde, en particulier dans les pays en développement. L'utilisation de molécules hautement toxiques ainsi que les mauvaises conditions d'emploi liées à des manipulations ou à des moyens de protection inappropriés sont à l'origine de ces incidents. L'Organisation mondiale de la santé préconise vivement la suppression des pesticides à toxicité aiguë élevée comme l'une des mesures de réduction des risques.

Les effets toxiques à long terme des pesticides sont une préoccupation croissante en particulier dans les pays développés. En dépit de nombreuses lacunes existantes à ce jour, des certitudes ont été acquises concernant les effets retardés de quelques pesticides sur la santé. C'est le cas exemplaire de l'usage du DBCP et de ses conséquences sur la fertilité masculine. Des suspicions assez cohérentes, mais qui demandent confirmation, existent quant aux conséquences que certains produits pourraient avoir sur le système nerveux et dans l'apparition de troubles de type parkinsonien. Quant aux pathologies cancéreuses induites par des pesticides, il n'existe actuellement que de faibles faisceaux de présomptions. Cependant, les difficultés inhérentes aux études destinées à affirmer ou infirmer de telles associations, ne doivent pas laisser croire qu'il n'y a pas d'effets parce qu'on ne peut pas conclure.

D'une manière générale, qu'il s'agisse des effets à court ou à plus long terme, les populations en contact professionnel avec des pesticides sont les premières concernées. Toutefois, c'est l'ensemble de la population générale qui pourrait être « à risque » du fait de faibles expositions environnementales, mais répétées dans le temps ou à des moments critiques de la vie. Cette hypothèse constitue un nouveau terrain d'étude rendu plausible par la découverte des perturbateurs endocriniens. Une attention devra être portée dorénavant aux groupes particulièrement vulnérables tels que les femmes enceintes, les nourrissons et les enfants.

La recherche des effets adverses des pesticides sur la santé doit s'intensifier aussi bien sur le plan épidémiologique que toxicologique. Elle exige des méthodes rigoureuses et standardisées d'évaluation des expositions d'une part et des effets biologiques ou sanitaires d'autre part. L'étude des facteurs individuels de susceptibilité génétique à l'action des xénobiotiques permettra à l'avenir de définir des groupes humains particulièrement sensibles. D'ici là, le principe de précaution incite à privilégier l'usage de substances à courte durée de vie, peu rémanentes dans l'environnement et de faible toxicité aiguë.

Références bibliographiques

Abell A., Ernst E., Bonde J.P. (2000a). Semen quality and sexual hormones in greenhouse workers. *Scand J Work Environ Health*, **26** : 492-500.

Abell A., Juul S., Bonde J.P. (200b). Time to pregnancy among female greenhouse workers. *Scand J Work Environ Health*, **26** : 131-136.

Alavanja M.C., Samanic C., Dosemeci M., Lubin J., Tarone R., Lynch C.F., Knott C., Thomas K., Hoppin J.A., Barker J., Coble J., Sandler D.P., Blair A. (2003). Use of agricultural pesticides and prostate cancer risk in the Agricultural Health Study cohort. *Am J Epidemiol*, **157** : 800-814.

Arbuckle T.E., Sever L.E. (1998). Pesticide exposures and fetal death: a review of the epidemiologic literature. *Crit Rev Toxicol*, **28** : 229-270.

Arbuckle T.E., Lin Z., Mery L.S. (2001). An exploratory analysis of the effect of pesticide exposure on the risk of spontaneous abortion in an Ontario farm population. *Environ Health Perspect.*, **109** : 851-857.

Baldi I., Mohammed-Brahim B., Brochard P., Dartigues J.F., Salamon R. Delayed health effects of pesticides: review of current epidemiological knowledge (1998). *Rev Epidemiol Santé Publique*, **46** : 134-142.

Baldi I., Brochard P., Mohammed-Brahim B., Rolland P., Salamon R. (1999). Retrospective estimation methods of pesticide occupational exposure. *Rev Epidemiol Santé Publique*, **47** : 165-174.

Baldi I., Filleul L., Mohammed-Brahim B., Fabrigoule C., Dartigues J.F., Schwall S., Drevet J.P., Salamon R, Brochard P (2001). Neuropsychologic effects of long-term exposure to pesticides: results from the French Phytoner study. *Environ Health Perspect*, **109** : 839-844.

Baldi I., Lebailly P., Mohammed-Brahim B., Letenneur L., Dartigues J.F., Brochard P. (2003a). Neurodegenerative diseases and exposure to pesticides in the elderly *Am J Epidemiol*, **157** : 409-414.

Baldi I., Cantagrel A., Lebailly P., Tison F., Dubroca B., Chrysostome V., Dartigues J.F., Brochard P. (2003b). Association between Parkinson's disease and exposure to pesticides in southwestern France. *Neuroepidemiology*, **22** : 305-310.

Bigelow P.L., Jarrell J., Young M.R., Keefe T.J., Love E.J. (1998). Association of semen quality and occupational factors: comparison of case-control analysis and analysis of continuous variables. *Fertil Steril*, **69** : 11-18.

BIT (1994). Les produits chimiques dans le milieu de travail. *Le travail dans le monde*. Bureau International du Travail, Genève.

BKH (2000). *Towards the establishment of a priority list of substances for further evaluation of their role in endocrine disruption – preparation of a candidate list of substances as a basis for priority-setting*. BKH Report. European Commission.

Blair A., Malker H., Cantor K.P., Burmeister L., Wiklund K. (1985). Cancer among farmers. A review. *Scand J Work Environ Health*, **11** : 397-407.

Blair A., Zahm S.H. (1995). Agricultural exposures and cancer. *Environ Health Perspect*, **103**, Suppl 8 : 205-208.

Buckley J.D., Meadows A.T., Kadin M.E., Le Beau M.M., Siegel S., Robison L.L. (2000). Pesticide exposures in children with non-Hodgkin lymphoma *Cancer*, **89** : 2315-2321.

Carson R. (1962). *Silent Spring*. Houghton-Mifflin Co, Boston.

Colborn T., Von Saal F.S., Soto A.M. (1993) Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environ Health Perspect*, **101** : 378-384.

Colborn T. (1998) Endocrine disruption from environmental toxicants. *In* Rom W.N., *Environmental and Occupational Medicine*. Lippincott-Raven, Philadelphia, 807-816.

de Cock J., Westveer K., Heederik D., te Velde E., van Kooij R. (1994). Time to pregnancy and occupational exposure to pesticides in fruit growers in The Netherlands. *Occup Environ Med*, **51** : 693-699.

Ecobichon DJ (1996). Toxic effects of pesticides. *In* Klaasen CD. *Casarett & Douglas Toxicology*. McGraw Hill, New York, 643-689.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Flesch-Janys D., Berger J., Gurn P., Manz A., Nagel S., Waltsgott H., Dwyer J.H. (1995). Exposure to polychlorinated dioxins and furans (PCDD/F) and mortality in a cohort of workers from a herbicide-producing plant in Hamburg, Federal Republic of Germany *Am J Epidemiol*, **142** : 1165-1175.

Garcia-Rodriguez J., Garcia-Martin M., Nogueras-Ocana M., de Dios Luna-del-Castillo J., Espigares Garcia M., Olea N., Lardelli-Claret P. (1996). Exposure to pesticides and cryptorchidism: geographical evidence of a possible association. *Environ Health Perspect*, **104** : 1090-1095.

Gladen B.C., Rogan W.J. (1991). Effects of perinatal polychlorinated biphenyls and dichlorodiphenyl dichloroethene on later development. *J Pediatr*, **119** : 58-63.

Greenlee A.R., Arbuckle T.E., Chyou PH. Risk factors for female infertility in an agricultural region (2003). *Epidemiology*, **14** : 429-436.

Jaga K., Brosius D. (1999). Pesticide exposure: human cancers on the horizon. *Rev Environ Health*, **14** : 39-50.

Jamal G.A. (1997). Neurological syndromes of organophosphorus compounds. *Adverse Drug React Toxicol Rev*, **16** : 133-170.

Larsen S.B., Spano M., Giwercman A., Bonde J.P. (1999). Semen quality and sex hormones among organic and traditional Danish farmers. *Occup Environ Med*, **56** : 139-144.

Longnecker M.P., Klebanoff M.A., Zhou H., Brock J.W. (2001). Association between maternal serum concentration of the DDT metabolite DDE and preterm and small-for-gestational-age babies at birth. *Lancet*, **358** : 110-114.

Ma X., Buffler P.A., Gunier R.B., Dahl G., Smith M.T., Reinier K., Reynolds P. (2002). Critical windows of exposure to household pesticides and risk of childhood leukaemia. *Environ Health Perspect*, **110** : 955-960.

MacLennan P.A., Delzell E., Sathiakumar N., Myers S.L., Cheng H., Grizzle W., Chen V.W., Wu X.C. (2002). Cancer incidence among triazine herbicide manufacturing workers. *J Occup Environ Med*, **44** : 1048-1058.

Meinert R., Schuz J., Kaletsch U., Kaatsch P., Michaelis J. (2000). Leukemia and non-Hodgkin's lymphoma in childhood and exposure to pesticides: results of a register-based case-control study in Germany. *Am J Epidemiol*, **151** : 639-646.

Nurminen M., Nurminen T., Corvalan C.F. (1999). Methodologic issues in epidemiologic risk assessment. *Epidemiology*, **10** : 585-593.

Oliva A., Spira A., Multigner L. (2001). Contribution of environmental factors to the risk of male infertility. *Hum Reprod*, **16** : 1768-1776.

Petrelli G., Figa-Talamanca I. (2001). Reduction in fertility in male greenhouse workers exposed to pesticides. *Eur J Epidemiol*, **17** : 675-677.

Priyadarshi A., Khuder S.A., Schaub E.A, Shrivastava S. (2000). A meta-analysis of Parkinson's disease and exposure to pesticides. *Neurotoxicology*, **21** : 435-440.

Rautiainen R.H., Reynolds S.J. (2002). Mortality and morbidity in agriculture in the United States *J Agric Saf Health*, **8** : 259-276.

Restrepo M., Munoz N., Day N., Parra J.E., Hernandez C., Blettner M., Giraldo A. (1990). Birth defects among children born to a population occupationally exposed to pesticides in Colombia. *Scand J Work Environ Health*, **16** : 239-246.

Ribas-Fito N., Cardo E., Sala M., Eulalia de Muga M., Mazon C., Verdu A., Kogevinas M., Grimalt J.O., Sunyer J. (2003). Breastfeeding, exposure to organochlorine compounds, and neurodevelopment in infants. *Pediatrics*, **111** : 580-585.

Schrader S.M., Turner T.W., Ratcliffe J.M. (1988). The effects of ethylene dibromide on semen quality: a comparison of short-term and chronic exposure. *Reprod Toxicol*, **2** : 191-198.

Schuz J., Spector L.G., Ross J.A. (2003). Bias in studies of parental self-reported occupational exposure and childhood cancer. *Am J Epidemiol.*, **158** : 710-716.

Sharpe R.M., Skakkebaek N.E. (1993). Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract? *Lancet*, **341** : 1392-1395.

Shaw G.M., Wasserman C.R., O'Malley C.D., Nelson V., Jackson R.J. (1999). Maternal pesticide exposure from multiple sources and selected congenital anomalies. *Epidemiology*, **10** : 60-66.

Slutsky M., Levin J.L., Levy B.S. (1999). Azoospermia and oligospermia among a large cohort of DBCP applicators in 12 countries. *Int J Occup Environ Health*, **5** : 116-122.

Snedeker S.M. (2001). Pesticides and breast cancer risk: a review of DDT, DDE, and dieldrin. *Environ Health Perspect*, **109** Suppl 1 : 35-47.

Spiewak R. (2000). Pesticides as a cause of occupational skin diseases in farmers. *Ann Agric Environ Med*, **8** : 1-5.

Stallones L., Beseler C. (2002). Pesticide poisoning and depressive symptoms among farm residents. *Ann Epidemiol*, **12** : 389-394.

Stephens R., Spurgeon A., Calvert I.A., Beach J., Levy L.S., Berry H., Harrington J.M. (1995). Neuropsychological effects of long-term exposure to organophosphates in sheep dip. *Lancet*, **345** : 1135-1139.

Taylor J.R. (1982). Neurological manifestations in humans exposed to chlordecone and follow-up results. *Neurotoxicology*, **3** : 9-16.

Thiruchelvam M., Richfield E.K., Baggs R.B., Tank A.W., Cory-Slechta D.A. (2000). The nigrostriatal dopaminergic system as a preferential target of repeated exposures to combined paraquat and maneb: implications for Parkinson's disease. *J Neurosci*, **20** : 9207-9214.

Thiruchelvam M., Richfield E.K., Goodman B.M., Baggs R.B., Cory-Slechta D.A. (2002). Developmental exposure to the pesticides paraquat and maneb and the Parkinson's disease phenotype. *Neurotoxicology*, **23** : 621-633.

Thomas D.C., Petitti D.B., Goldhaber M., Swan S.H., Rappaport E.B., Hertz-Picciotto I. (1992). Reproductive outcomes in relation to malathion spraying in the San Francisco Bay Area, 1981-1982. *Epidemiology*, **3** : 32-39.

Thonneau P., Abell A., Larsen S.B., Bonde J.P., Joffe M., Clavert A., Ducot B., Multigner L., Danscher G. (1999). Effects of pesticide exposure on time to pregnancy: results of a multicenter study in France and Denmark. *Am J Epidemiol*, **150** : 157-163.

Toppari J., Larsen J.C., Christiansen P., Giwercman A., Grandjean P., Guillette L.J. Jr, Jegou B., Jensen T.K., Jouannet P., Keiding N., Leffers H., McLachlan J.A., Meyer O., Muller J., Rajpert-De Meyts E., Scheike T., Sharpe R., Sumpter J., Skakkebaek N.E. (1996). Male reproductive health and environmental xenoestrogens. *Environ Health Perspect*, **104**, Suppl 4 : 741-803.

Van Wendel de Joode B., Wesseling C., Kromhout H., Monge P., Garcia M., Mergler D. (2001). Chronic nervous-system effects of long-term occupational exposure to DDT *Lancet*, **357** : 1014-1016.

Weidner I.S., Moller H., Jensen T.K., Skakkebaek N.E. (1998). Cryptorchidism and hypospadias in sons of gardeners and farmers. *Environ Health Perspect*, **106** : 793-796.

WHO (1990). *The public health impact of pesticides used in agriculture.* World Health Organization, Genève.

Whorton D., Milby T.H., Krauss R.M., Stubbs H.A. (1979). Testicular function in DBCP exposed pesticide workers. *J Occup Med*, **21** : 161-166.

Zahm S.H., Blair A. (1992). Pesticides and non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer Res*, **52**, Suppl 19 : 5485s-5488s.

Zahm S.H., Ward M.H. Pesticides and childhood cancer (1998). *Environ Health Perspect*, **106** Suppl 3 : 893-908.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Section 3

Contrôle et surveillance

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

12

L'analyse des résidus de pesticides : Pourquoi ? Comment ?

Alfred Copin

La sécurité alimentaire à laquelle les pouvoirs publics et les consommateurs attachent une importance sans cesse croissante révèle toute l'importance de l'analyse de résidus de pesticides appliquée à l'ensemble des denrées d'origine animale ou végétale à l'état frais ou transformées. Ainsi, l'estimation du risque de toxicité lié aux résidus de pesticides, basée sur la comparaison entre la dose journalière acceptable (DJA) et l'apport journalier maximum théorique (AJMT) ou l'apport journalier estimé (AJE), fait appel aux limites maxima de résidus (LMR) définies par le *Codex Alimentarius* (anonyme, 2000a) et par les directives européennes (anonyme, 1996a ; anonyme, 1996b ; *cf.* chapitre 46). La fixation de ces LMR tout comme leur contrôle, demandent le recours à l'analyse des résidus de pesticides suivant les procédures en conformité avec les directives de l'Organisation de coopération et de développement économique (OCDE) sur les bonnes pratiques de laboratoire ou BPL (anonyme, 2004a) ou la norme ISO 17025 relative à l'accréditation des laboratoires (anonyme, 2004b).

De même, l'analyse des résidus dans l'environnement permet d'évaluer leur rémanence, leur persistance d'action et leur bio-accumulation éventuelle (Copin *et al.*, 1996). Elle aide ainsi l'écotoxicologue à juger de leurs effets sur les organismes non ciblés.

Enfin, les matières premières qui entrent dans les préparations utilisées en phytothérapie doivent se conformer aux exigences des pharmacopées quant à leur teneur en résidus de pesticides.

En vue de répondre à ces objectifs, il importe donc, dans ce chapitre, d'exposer comment les principes de l'analyse chimique s'appliquent à cette classe d'analytes (les pesticides) dans des matrices aussi diverses que les sols ainsi que les produits végétaux ou animaux à l'état frais ou après transformation plus ou moins poussée sous forme de denrées alimentaires.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1. *Définitions biochimique et légale du résidu*

Dès sa formation, le dépôt de pesticides tend à diminuer sous les effets conjugués de l'environnement et des caractéristiques du substrat (végétal, sol). À moins d'être appliqué sur un végétal arrivé à son stade de développement ultime (traitement post-récolte), l'augmentation de la surface et de la masse du végétal est responsable d'une première dilution de la substance active. Les phénomènes de transport à partir du sol ou de la plante (lessivage, volatilisation) concourent, aussi, à la décroissance de ce dépôt.

Si un certain nombre de produits restent à la surface du végétal (produits de contact), d'autres y pénètrent (produits translaminaires). Certains peuvent même se redistribuer (produits systémiques ou télétoxiques) à l'intérieur de celui-ci. Les systèmes enzymatiques de la plante comme ceux de la biomasse tellurique peuvent altérer la structure de la molécule initiale et aussi participer par métabolisation à la diminution de sa concentration. La photolyse et l'hydrolyse sont les deux principaux processus physicochimiques responsables de la dégradation de la substance active. Avant d'atteindre des molécules ou combinaisons simples ou naturelles telles le dioxyde de carbone CO_2, l'ion ammonium NH_4^+, l'acide acétique CH_3COOH, les transformations induites par métabolisation ou dégradation provoquent l'apparition de molécules dont la polarité est accrue par rapport à la molécule initiale. En conséquence, leur solubilité mais surtout leur réactivité à l'égard de macromolécules biologiques (les protéines et les glucides) sont renforcées. Ces phénomènes conduisent à la formation de résidus conjugués et liés. Ces deux formes correspondent à un blocage du produit de transformation par une composante biologique naturelle. La forme liée se distingue de la forme conjuguée par une immobilisation totale et irréversible. Ce métabolite perd sa propre individualité. Son évolution correspond à celle de la structure dans laquelle il est incorporé. Sous la forme conjuguée, au contraire, le métabolite peut être récupéré (figure 1).

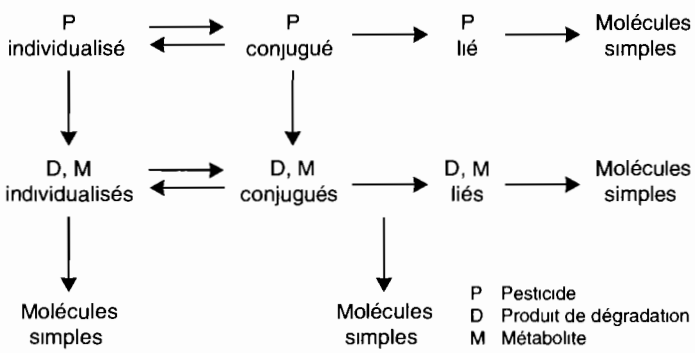


Figure 1 ■ Relations entre le pesticide, ses produits de dégradations et les métabolites.
(Résidu biochimique : TOUT : les molécules simples ;
Résidu légal : molécule à propriété pharmacodynamique.)

À l'exception des molécules simples ou naturelles, toutes les entités qui dérivent des pesticides doivent être considérées comme un résidu au sens biochimique du terme. Par contre, la définition légale retenue par le *Codex alimentarius* (anonyme, 2000b) et les directives européennes est plus restreinte. Elle se limite à la molécule initiale, aux substances dérivées spécifiques comme les produits de dégradation, les métabolites et les impuretés qui présentent une certaine importance toxicologique.

L'ensemble de ces considérations explique que les résidus que l'analyste doit déceler et quantifier ne dépassent pas la fraction de $mg.kg^{-1}$ d'échantillon (ppm) et dans certains cas, le $\mu g.kg^{-1}$ (ppb).

2. *Analyse chimique des résidus de pesticides*

Quels que soient la matrice et l'analyte à déterminer, toute analyse chimique comprend un certain nombre d'étapes obligées :

- le choix de la méthode ;
- la prise d'échantillon et son transfert au laboratoire ;
- le conditionnement de l'échantillon en vue de son analyse ;
- l'extraction ;
- la purification de l'extrait ;
- la détermination instrumentale qualitative (identification) ou quantitative (dosage) ;
- l'évaluation des performances de la méthode analytique retenue.

2.1. Le choix de la méthode d'analyse

L'analyste a intérêt à porter son choix sur une méthode normalisée éditée par une organisation internationale telle la Commission du *Codex alimentarius* (anonyme, 2000b). Dans ce cas, la méthode est déjà validée et son application au problème à résoudre est limitée à la vérification du pourcentage de récupération de l'analyte et à la fidélité de la méthode. Dans le cas contraire, une validation complète s'impose. L'ensemble des critères à considérer sont alors (anonyme, 2000b ; anonyme, 2000c) :

- le pourcentage de récupération de l'analyte de la matrice à étudier ;
- la fidélité de la méthode dans des conditions de répétabilité et de reproductibilité ;
- la limite de détection (LOD) et de quantification (LOQ) de la méthode ;
- sa spécificité qui prouve l'absence d'interférences ou d'effet de la matrice sur le résultat ;
- sa robustesse qui envisage l'influence de la modification quantitative d'un paramètre d'analyse sur le pourcentage de récupération et la fidélité.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Cette validation porte autant sur les méthodes individuelles que sur celles de multidétection.

2.1.1. Les méthodes individuelles

Chacune d'elles est consacrée à un pesticide déterminé dans un ou des substrats individualisés, par exemple le chlorsulfuron (herbicide sulfonylurée) en céréales en vert, ou dans la paille ou encore dans les grains (Thier et Kirchkoff, 1992).

2.1.2. Les méthodes de multidétection

Elles visent à quantifier en un seul schéma analytique tous les pesticides susceptibles d'être retrouvés dans une production animale ou végétale (par exemple tous les insecticides organochlorés dans une matière grasse). Dans d'autres cas, elles s'adressent à tous les pesticides appartenant à une même famille chimique, comme les insecticides organophosphorés ou méthylcarbamates (Thier et Kirchkoff, 1992).

2.2. La prise d'échantillon et son transfert au laboratoire

2.2.1. Constitution de l'échantillon

L'échantillon représente le résultat de l'opération par laquelle une fraction de la population est isolée en vue de l'analyse. Il doit donc en posséder, idéalement, toutes les caractéristiques.

Les modalités pratiques de l'échantillonnage dépendent des objectifs recherchés :

– la conformité à une LMR dans le cadre des enquêtes de surveillance des produits agricoles commercialisés ;
– l'établissement d'une LMR en vue de la préparation d'un dossier d'homologation d'une substance active et de sa formulation ;
– l'évaluation du temps de demi-disparition (DT_{50}) d'un pesticide.

Le *Codex alimentarius* (anonyme, 2000b) précise le nombre de prélèvements à effectuer dans la population à échantillonner en fonction de sa masse, mais aussi la quantité minimale à transférer au laboratoire en fonction des caractéristiques morphologiques de la matrice.

L'échantillonnage d'un sol s'effectue par carottage à une profondeur définie préalablement jusqu'à l'obtention d'une masse de l'ordre du kg.

2.2.2. Le transfert au laboratoire

L'échantillon ainsi constitué est transmis au laboratoire en évitant les pertes de substance active et d'humidité. Dans la mesure du possible, le délai entre l'échantillonnage et sa réception au laboratoire ne doit pas excéder 36 heures, pour autant que la substance active et la matrice soient stables. Dès qu'une de ces conditions n'est pas respectée, l'échantillon doit voyager à l'état congelé.

2.3. Le conditionnement de l'échantillon en vue de son analyse

Sur la base des instructions reprises dans le *Codex alimentarius* (anonyme, 2000b), il y a lieu d'isoler la portion de la production végétale ou animale à laquelle s'applique l'analyse. Ainsi, dans le groupe de légumes racines ou des tubercules (carottes, radis, pommes de terre), le collet est à éliminer. De plus, la partie retenue est, éventuellement, débarrassée de la terre par lavage à l'eau froide. Les PCB sont analysés dans la matière grasse extraite du beurre.

Les opérations d'homogénéisation de l'échantillon dépendent d'abord de sa teneur en matière sèche. Les sols et végétaux à teneur élevée en matières sèches peuvent être broyés sans grande difficulté. L'homogénéisation et la réduction éventuelle de la masse sont effectuées par la méthode du quartage. Cette opération peut être programmée après un stockage en chambre froide (+ 4 °C) pour autant que la stabilité de la substance active soit assurée. Dans le cas contraire, les échantillons sont conservés au congélateur à une température inférieure à -20 °C. Ils peuvent aussi être lyophilisés et gardés dans cet état si la tension de vapeur (Tv) de l'analyte est suffisamment basse (Tv inférieur à 1,3 mPa) pour éviter toute perte au cours de l'opération. Le caractère plus ou moins pénétrant de la substance active et de ses métabolites est aussi à prendre en compte.

Le dosage de résidus de surface (le soufre, les dithiocarbamates, les herbicides biscarbamates, les organophosphorés tels le dichlorvos et le malathion) ne nécessite qu'un découpage grossier du végétal avant d'être soumis à l'extraction. Des appareils de type « hachoir » industriel conviennent parfaitement à cette opération. Au contraire, dans le cas de la détermination de résidus télétoxiques (l'aldicarbe, l'imidachlopride, l'azoxystrobine, le difénoconazole, le glyphosate), la désintégration de l'échantillon doit être poussée en vue de permettre le contact entre le solvant et le plus grand nombre de cellules. Cette opération est assurée par des broyeurs mélangeurs de marque Ultra Turrax (Allemagne), Sorvall Omni-Mixer (États-Unis), Büchi (Suisse), Waring Blendor (États-Unis).

2.4. L'extraction

Cette opération vise à isoler l'analyte (dans ce cas, le pesticide) de sa matrice (sol, produit d'origine végétale ou animale à l'état naturel ou transformé). Il existe différentes techniques qui sont soumises à plusieurs impératifs :

– un pourcentage de récupération de l'analyte aussi élevé que possible et reproductible ;

– une sélectivité poussée afin de limiter l'étape de purification de l'extrait ;

– le recours, dans toute la mesure du possible, à des solvants qui ne génèrent pas d'effluents toxiques tels les solvants pétroliers ou chlorés ;

– une traçabilité des opérations favorisée par l'adoption de techniques automatisées.

On se reportera à la liste des sigles en début d'ouvrage pour la signification des différents acronymes utilisés au cours de la description des techniques.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

2.4.1. Extraction solide/liquide classique

L'agitation et la macération d'une quantité d'échantillon (50 à 100 g) en présence du double en volume d'un solvant ou d'un mélange de solvants sont toujours recommandées dans les méthodes officielles d'analyse (Thier et Kirchkoff, 1992). L'efficacité de l'opération dépend principalement des propriétés du solvant telles que son pouvoir de diffusion dans la masse de l'échantillon, sa force de désorption de l'analyte des composés végétaux et son pouvoir de solubilisation de l'analyte.

Parmi les solvants les plus fréquemment rencontrés, il y a lieu de citer : le méthanol, l'acétone, l'acétate d'éthyle, l'acétonitrile, le dichlorométhane, le toluène et l'hexane ou des mélanges binaires de ceux-ci, en proportions variables comme méthanol/toluène ou acétone/hexane, ou dichlorométhane.

Par contre, le temps de contact entre phases solide et liquide semble moins déterminant. En fin d'opération, il y a lieu de séparer par filtration ou centrifugation le solvant de la matrice.

Il est fait appel aux techniques semi-continues (appareil Soxhlet) chaque fois qu'une des propriétés du solvant constitue un facteur limitant.

Quelles que soient les améliorations technologiques apportées (Soxtec HT de Tecator, Suède ; SoxTherm de Gerhardt, Allemagne) cette technique d'extraction manque souvent de sélectivité et rend donc plus complexe l'étape de purification de l'extrait. De plus, elle se prête difficilement à l'automatisation et le volume de solvant utilisé constitue un handicap supplémentaire. En outre, elle est toujours consommatrice de temps puisqu'elle ne se réalise qu'à la pression atmosphérique et à la température ambiante ou proche de celle-ci.

2.4.2. Extraction au moyen d'un solvant sous pression (PLE) ou extraction accélérée par solvant (ASE)

L'échantillon réduit à une granulométrie inférieure au mm est placé dans une cellule d'extraction. Il est, alors, mis en contact avec un solvant dont la température est comprise entre 80 et 200 °C sous une pression de 10 à 20 MPa qui le maintient à l'état liquide. L'efficacité de la technique repose sur la température élevée du solvant. Celle-ci s'accompagne, en effet, d'une diminution de sa viscosité et de sa tension interfaciale qui facilite sa diffusion à l'intérieur des pores de la matrice solide. Ce phénomène est renforcé par la pression à laquelle il est soumis. Enfin, la solubilité des analytes croît avec la température. Néanmoins, les échantillons dont la teneur en eau est élevée doivent être séchés par ajout d'un sel inerte anhydre (Na_2SO_4, $MgSO_4$) ou de célite si le solvant n'est pas polaire tel l'hexane ou le toluène (Björklund *et al.*, 2000).

La firme Dionex (Salt Lake City, États-Unis) commercialise l'ASE® 200. Il peut être équipé de différentes cellules dont la contenance atteint 30 g. Cet appareil travaille essentiellement en mode statique. Après quelques minutes de contact (5 à 20 min), le solvant est recueilli et des rinçages du substrat sont programmés.

Les applications les plus fréquemment citées dans la littérature se rapportent aux insecticides organochlorés et aux polychlorobiphényles (PCB) dans des matrices aussi diverses que les sols et les sédiments (Fisher *et al.*, 1997 ; Schantz *et al.*, 1997) mais aussi dans la poudre de lait, l'alimentation pour le bétail (Mueller *et al.*, 2001) et dans la chair des moules (Schantz *et al.*, 1997). Cette technique est aussi utilisée avec succès pour extraire 19 insecticides organochlorés de produits alimentaires (farine, jus d'orange) ou de végétaux tels que les choux ou le raisin (Obana *et al.*, 1997).

Si les avantages les plus marquants de l'extraction au moyen d'un solvant sous pression résident dans la rapidité de l'opération (durée généralement inférieure à 30 min pour un cycle complet), le volume limité de solvant (inférieur à 60 mL) et l'automatisation poussée (jusqu'à 24 échantillons), le prix de l'appareillage a empêché jusqu'à présent son extension à la majorité des laboratoires de routine.

2.4.3. Extraction assistée par micro-ondes (MAE)

Les micro-ondes se caractérisent dans le spectre électromagnétique par des longueurs d'onde (λ) comprises entre 1 mm et 1 m (de fréquences exprimées en Hertz (Hz), entre 300 GHz et 300 MHz). Dans ses applications au four à micro-ondes, les fréquences retenues se situent autour de 2,4 GHz, et correspondent à une énergie exprimée en Joule (J) de l'ordre de 0,9 $J.M^{-1}$.

La transformation de l'énergie électromagnétique en énergie calorifique fait appel au mécanisme de conductivité ionique provoquée par la résistance du milieu aux mouvements des ions sollicités par le champ électrique alternatif mais aussi à la rotation des dipôles des molécules polaires qui s'alignent sur le même champ électrique alternatif.

Les collisions des molécules entre elles conduisent, alors, à une augmentation de la température du milieu (Letellier et Budzinski, 1999).

La puissance maximum des fours à micro-ondes commercialisés par CEM Corporation (Mathews, États-Unis) ou Milestone Corporation (River Beach, États-Unis) atteint des valeurs de 1 000 W. Ils acceptent plusieurs échantillons à la fois dans des récipients fermés et perméables aux micro-ondes. L'augmentation de pression (jusqu'à 5 Atm) permet de porter la température du milieu liquide entre 100 et 140 °C. Au contraire, les systèmes ouverts de Prolabo (Soxwave, Fontenay-sous-Bois, France) sont chauffés séquentiellement par un train d'ondes focalisées sur l'échantillon. Leur puissance maximum est limitée à 300 W et la température ne dépasse pas le point d'ébullition du solvant (Dean *et al.*, 1999).

Le principe de cette technique réclame l'usage de solvants polaires tels le méthanol, l'acétone ou l'eau, éventuellement tamponnée lorsque l'analyte présente une certaine réaction acide ou alcaline. Ils sont utilisés pour l'extraction des sols de l'imazéthapyre (herbicide imidazolinone) par Stout *et al.* (1996), de la métribuzine (herbicide triazinone) et de ses métabolites par Papadakis et Papadopoulou-Morkidou (2002).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Des mélanges de solvants tels l'hexane/méthanol ou acétone ou dichlorométhane s'imposent lorsque la solubilité de l'analyte n'est pas jugée suffisante dans le solvant polaire. C'est le cas de l'extraction des insecticides organochlorés à partir de sols ou de sédiments marins (Pastor *et al.*, 1997) et des herbicides triazines (Shen et Kee Lee, 2003).

Le manque de sélectivité de cette technique la rend difficilement applicable aux productions animales et végétales à haute teneur en eau (viande, légumes, fruits). Elle a néanmoins été utilisée avec succès pour l'extraction du propiconazole à partir d'échantillons d'un matériel ligneux (Armstrong, 1999).

Malgré un prix élevé dû en partie au système de sécurité nécessaire pour pallier les surpressions éventuelles et son domaine d'application limité, la réduction du volume d'extractif (20 à 30 mL) et de la durée de l'opération (5 à 20 min) constituent les avantages indéniables de cette technique.

2.4.4. Extraction au moyen d'un fluide à l'état supercritique (SFE)

Un fluide dans cet état (température et pression au-dessus de ses valeurs critiques T_c et P_c) présente des propriétés intermédiaires entre les états gazeux et liquide. Il est donc caractérisé par un pouvoir de diffusion à l'intérieur d'un solide semblable aux gaz. Mais son pouvoir de dissolution, qui dépend de sa densité, l'apparente au liquide.

Toute augmentation de la pression de ce fluide supercritique pour une température constante s'accompagne d'un accroissement de la solubilité de l'analyte. Si elle facilite la désorption d'un analyte thermiquement stable de la matrice qui le retient, une augmentation de température de ce même fluide, maintenu à pression constante, ne diminue pas nécessairement le rendement de l'extraction (Camel, 1998 ; Buldini *et al.*, 2002). Un choix judicieux de ces deux paramètres et leur contrôle influencent donc la sélectivité de l'opération.

Pour des raisons de sécurité, d'approvisionnement, d'obtention avec un degré de pureté suffisant et de coût, le fluide supercritique le plus souvent employé reste le CO_2 (Tc = 31,1 °C et Pc = 7,38 MPa). Il est utilisé pour l'extraction des insecticides organochlorés et PCB à partir de sols et de sédiments (van der Velde *et al.*, 1992) mais aussi à partir de végétaux (Zuin *et al.*, 2003).

L'élimination de l'eau des végétaux à l'état frais avant l'extraction par le fluide supercritique est assurée par le mélange de la matière végétale avec du Na_2SO_4 ou $MgSO_4$ anhydres (Pearce *et al.*, 1997). L'extraction à partir de sols ou de matière végétale de composés plus polaires, tels les insecticides organophosphorés et le pyrimicarbe (insecticide carbamate) (Koinecke *et al.*, 1997), des herbicides de la famille des triazines, des urées substituées et des sulfonylurées (Zhou *et al.*, 1997) ou de fongicides benzimidazole comme le carbendazime, le benomyl et le thiophanate (Anastassiades et Schawck, 1998), ne peut être quantitative qu'en augmentant le pouvoir de dissolution du fluide supercritique. À cet effet, un co-solvant polaire

tel que le méthanol (CH_3OH), l'éthanol (CH_3-CH_2OH) ou l'acétonitrile (CH_3CN) lui est ajouté.

Les appareils commercialisés sous les marques ISCO (Lincoln, États-Unis), JAKSO (Tokyo, Japon), SUPEREX (Duisberg, Allemagne) travaillent en mode statique ou dynamique. Dans le premier cas, le fluide supercritique remplit la cellule d'extraction et reste en contact avec la matrice pendant le temps déterminé par l'analyste. Dans le deuxième cas, le fluide supercritique traverse d'une façon continue la cellule d'extraction. Quel que soit le mode retenu, l'ensemble (fluide + composés extraits) est enfin entraîné hors de la cellule d'extraction et poussé à travers une fuite calibrée. Celle-ci permet le retour à la pression atmosphérique et l'évaporation du CO_2. Les solutés, quant à eux, sont recueillis suivant le cas, dans un solvant ou encore sont retenus sur un support inerte tel le florisil ou une silice greffée au C_{18}.

Au lieu de travailler en discontinu, ces appareils peuvent être couplés au moyen d'une interface, soit à un chromatographe en phase gazeuse, liquide à haute performance ou en fluide supercritique (Camel, 1998).

La rapidité de la manipulation (durée inférieure à 60 min pour la totalité du cycle), une sélectivité souvent très poussée contrôlée par la densité du fluide supercritique l'obtention d'extraits concentrés, et la possibilité d'automatisation constituent les principaux avantages de cette technique.

Néanmoins, le nombre de paramètres à contrôler et le manque de connaissance de la solubilité des pesticides dans le fluide supercritique ainsi que des interactions de celui-ci avec les sites sur lesquels sont retenus les analytes rendent la mise au point de cette technique parfois laborieuse.

2.4.5. Autres techniques

Quelques techniques, sans être d'une portée aussi générale que celles qui ont été détaillées dans les paragraphes précédents peuvent, néanmoins, présenter un certain intérêt dans la problématique de l'extraction des résidus de pesticides. Ainsi, Sanchez-Brunete *et al.* (2002) recourent au phénomène de cavitation acoustique généré par le passage d'ultrasons (35 kHz de fréquence et 150 W de puissance) à travers l'acétate d'éthyle pour extraire, à partir de sols, des fongicides appartenant à des familles chimiques différentes tels que le triadiméfon et le cyproconazole (triazole), la procymidone (dicarboximide), le pyrazophos (phosphorothiolate), le dichlofluanide (phénylsulfamide) et le chlorothalonil (benzodicarbonitrile). Ils insistent, cependant, sur la nécessité d'une teneur suffisante en eau de l'échantillon (10 %) pour que l'extraction conserve son caractère quantitatif.

La micro-extraction en phase solide (SPME), qui ne fait pas nécessairement appel à un solvant organique, est appliquée aux denrées alimentaires et aux boissons. Zambonin *et al.* (2002) font usage d'un film de polycarbonate de 85 µm d'épaisseur recouvrant une fibre de silice fondue pour extraire des fongicides triazoles à partir d'un homogénéisat de fraises ou de vin. L'association de l'analyse en espace

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

de tête (*head space*) et de la SPME convient pour la récupération des insecticides organophosphorés à partir de fruits (fraises et cerises) (Lambropoulou et Albanis, 2003). Pour que les performances de cette technique soient identiques à l'extraction classique, le mélange de fruits et d'eau doit être agité à 70 °C dans une enceinte fermée. Les insecticides transférés dans la phase vapeur sont retenus dans un film apolaire de polydiméthylsiloxane de 100 µm d'épaisseur.

La technique d'extraction en phase solide (SPE) couramment mise en œuvre pour extraire les pesticides des eaux peut être adaptée pour les boissons, jus de fruits ou le vin.

Enfin, l'extraction peut porter sur une molécule dérivée du pesticide lorsque sa récupération est plus aisée que celle de la molécule initiale. Ainsi, les fongicides dithiocarbamates (manèbe, ferbame) peu solubles dans les solvants usuels sont décomposés quantitativement à chaud par un acide concentré en CS_2. Celui-ci est entraîné par N_2 pour être dosé après sa transformation en un produit coloré. Des herbicides de la famille des phénylurées substituées (diuron, isoproturon), le propanil (anilide), des carbamates (prophame, chloprophame), des fongicides tels l'iprodione et la vinchlozoline sont hydrolysés à chaud par de l'hydroxyde de sodium en anilines diversement substituées. Ces molécules sont isolées du milieu réactionnel par entraînement à la vapeur d'eau. Dans ce cas, l'analyse porte sur les molécules initiales mais aussi sur un certain nombre de métabolites libres ou conjugués qui présentent une importance toxicologique et écotoxicologique.

2.5. La purification de l'extrait

L'étape de purification vise à éliminer ou du moins réduire suffisamment la concentration de toute substance co-extraite dont le comportement au cours de la détermination instrumentale perturbe ou se confond avec celui de l'analyte. Une interférence trouve, donc, autant son origine dans le manque de sélectivité de la technique d'extraction que de la technique instrumentale. Son élimination ou sa réduction passe par une répartition différente de celle de l'analyte entre deux phases distinctes qui, par la suite, sont récupérées séparément.

2.5.1. L'extraction liquide-liquide

Elle se fonde sur le phénomène physicochimique par lequel un soluté se répartit, à l'équilibre et pour une température donnée, entre deux phases liquides non miscibles suivant un rapport constant défini comme coefficient de partage (équation 1).

$$\alpha = \frac{[A]_{\varphi_1}}{[A]_{\varphi_2}} \qquad \text{éq. 1}$$

où : α : coefficient de partage de la molécule A entre les phases φ_1 et φ_2

$[A]_{\varphi_1}$ et $[A]_{\varphi_2}$: concentration, à l'équilibre, de la molécule A respectivement dans les phases φ_1 et φ_2.

Les paires de solvants retenues doivent présenter des polarités distinctes (par exemple eau/hexane, toluène ou chloroforme ; acétonitrile/hexane). Pour limiter le nombre de répétitions de l'opération qui se déroule en mode discontinu (ampoules à décanter), la différence des coefficients de partage de l'analyte et de(s) interférence(s) doit être significative (Cabras *et al.*, 1997). Outre la durée des opérations qu'imposent les agitations et soutirages successifs (Pylypiw, 1993), l'extraction liquide/liquide manque souvent d'efficacité. Elle est alors associée ou remplacée par une chromatographie (*cf.* 2.5.2.).

2.5.2. La chromatographie

Elle correspond à un procédé dynamique de séparation qui met en œuvre une phase immobile en contact permanent avec une phase mobile. La phase immobile est contenue dans une colonne en tête de laquelle est déposée la solution à purifier. La phase mobile assure l'élution fractionnée des divers composés de la solution (analyte et interférence(s)) sur base d'une différence de leur comportement au niveau de l'adsorption, du partage, de l'échange d'ions ou de l'exclusion moléculaire (figure 2).

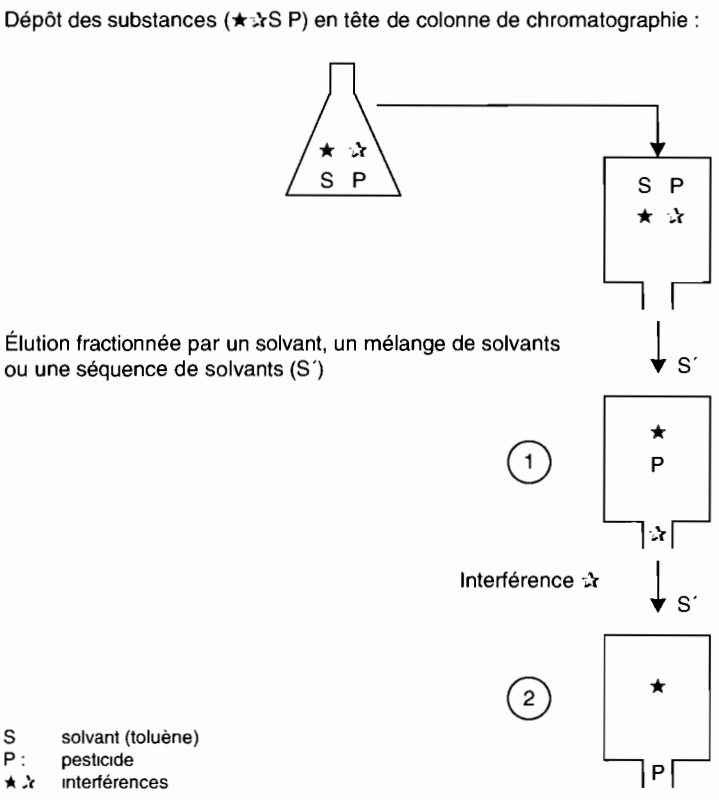


Figure 2 ■ Principe de la purification d'un extrait par chromatographie sur colonne.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

La purification par adsorption est assurée par un gel de silice (Columé *et al.*, 2001), le florisil (Sannino, 1998) et aussi l'alumine.

Des silices greffées par des groupements apolaires C_8 mais surtout C_{18} (Columé *et al.*, 1999) sont utilisées lorsque le partage doit être favorisé.

Suivant que la charge de la molécule à retenir ou à éliminer est positive ou négative, il est fait aussi appel à des résines échangeuses d'ions. Après une première purification par extraction liquide/liquide, Pardue (1995) isole au moyen d'une colonne échangeuse de cations des herbicides triazines (atrazine, atraton, propazine, terbutryne) et leurs principaux métabolites des substances co-extraites des céréales, de légumes (céleri), de fruits (pommes) et de l'ensilage.

Enfin, la perméation sur gel de dextrane ou de polystyrène permet de séparer les molécules suivant leur masse moléculaire. Les macromolécules naturelles (par exemple les lipides) sont éluées avant l'analyte (Sannino, 1998).

Outre la miniaturisation des colonnes commerciales moins consommatrices de solvant, cette technique peut être facilement automatisée (Columé *et al.*, 2001).

L'utilisation des réactions anticorps-antigènes (dans lesquelles le pesticide est l'antigène), comme dans le cas de l'extraction des pesticides des eaux, présente un intérêt croissant dans la problématique de la purification des végétaux et des sols (Delaunay-Bertoncini *et al.*, 2001).

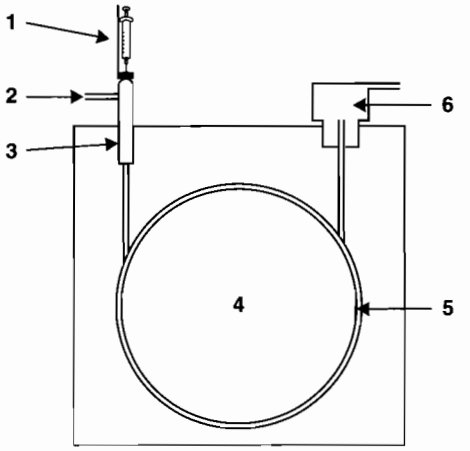
Enfin, le couplage, en ligne, de techniques chromatographiques entre elles ou encore à la spectrométrie de masse doit être considéré comme l'intégration d'une technique de purification (la chromatographie) à une technique de détermination instrumentale (le détecteur du deuxième système chromatographique ou le spectromètre de masse (*cf.* 2.6.1. et 2.6.2.).

2.6. La détermination instrumentale

Elle doit pouvoir assurer en même temps l'identification de l'analyte et son dosage dans des conditions où sa concentration reste faible malgré les procédures d'enrichissement appliquées aux étapes précédentes (*cf.* 2.4. et 2.5.). L'analyste privilégie, donc, les techniques qui, au niveau de la sélectivité et des limites de quantification, sont les plus performantes.

2.6.1. La chromatographie en phase gazeuse capillaire

La chromatographie en phase gazeuse capillaire (CPG[2]) se caractérise, d'abord, par la nature des phases en présence. La phase mobile est constituée d'un gaz (H_2, N_2, He). Pour tirer avantage du maximum du pouvoir de résolution de la technique (sa sélectivité), la phase stationnaire liquide d'une épaisseur constante entre 0,1 et 1,5 µm est retenue chimiquement sur la paroi interne d'un tube capillaire (0,1 à 5 mm de diamètre interne) d'une longueur de 15 à 50 m. Le mélange à analyser, solubilisé dans un solvant volatil et compatible avec la nature de la phase immobile et du détecteur, est totalement vaporisé dans la chambre d'injection (figure 3).



1. solution à analyser
2. arrivée du gaz vecteur
3. injecteur en tête de colonne (mais peut être remplacé par un injecteur vaporisant avec ou sans dérivation de flux)
4. four du chromatographe
5. colonne capillaire
6. détecteur ou système de couplage en ligne avec le SM

Figure 3 ■ Schéma simplifié d'un chromatographe en phase gazeuse capillaire.

L'ensemble (solvant et solutés) est entraîné par le gaz vecteur à travers la colonne capillaire. À ce niveau, la résolution du mélange en ses diverses composantes est obtenue par la différence de leur coefficient de partage entre les deux phases.

À la sortie de la colonne, un détecteur met en évidence les produits séparés sous forme de pics caractérisés par leur temps de rétention (T_R) et leur surface (figure 4).

Le T_R d'un composé (temps écoulé entre l'injection et son apparition au détecteur au maximum du pic) et le degré de sélectivité du détecteur constituent les bases d'une analyse qualitative.

Le dosage se fonde sur la comparaison de l'aire du pic de l'analyte à ceux d'une gamme de ses concentrations connues qui l'entoure (droite d'étalonnage).

Commercialisé depuis 1970, le détecteur à capture d'électrons (ECD) reste toujours d'actualité pour l'analyse des insecticides pyréthrinoïdes, des insecticides et fongicides organochlorés, d'insecticides organophosphorés substitués par des groupements halogénés et/ou nitrés, des herbicides dinitroanilines, des phénylurées chlorées, des chloroacétamides et des carbamates (Tadeo *et al.*, 2000 ; Columé *et al.*, 2001).

Outre sa sélectivité à l'égard des groupements électrophiles (halogénés et nitrés), il permet d'accéder, dans ses développements récents (modes pulsés), à des concentrations de l'ordre du picogramme injecté. Sa réponse, linéaire pour une gamme de concentrations d'au moins 10^3 est suffisante pour l'analyse de résidus. Ainsi,

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

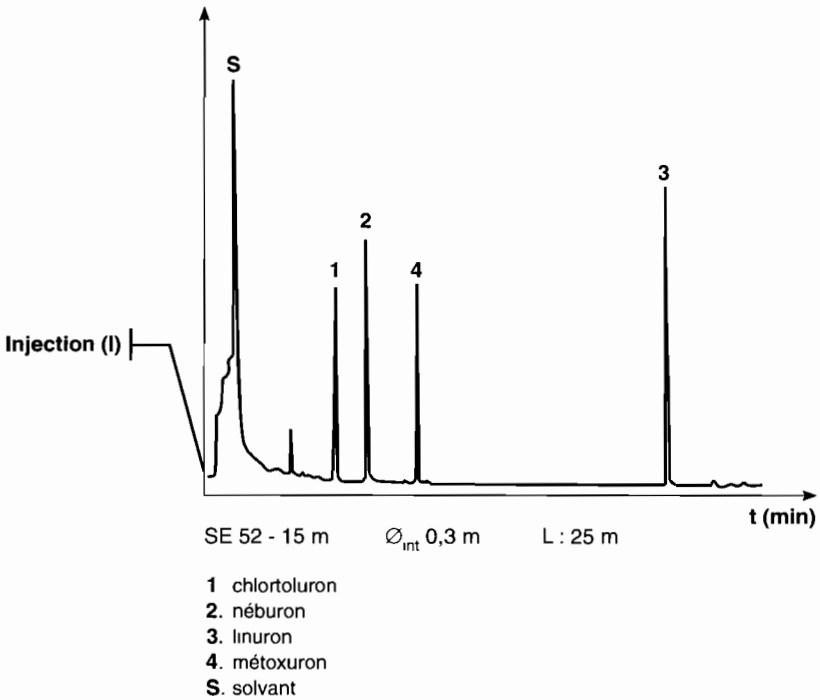


Figure 4 ■ Représentation graphique de la séparation chromatographique d'un mélange d'herbicides.

l'aldrine, la dieldrine (insecticides organochlorés), le malathion (insecticide organophosphoré) et le chlorothalonil (fongicide chloré) sont retrouvés dans des plantes médicinales à des teneurs comprises entre 0,02 et 0,2 $mg.kg^{-1}$ avec une fidélité du résultat exprimée en coefficient de variation (CV) qui n'excède pas les 10 % (Zuin *et al.*, 2003).

La sélectivité particulière et la sensibilité accrue à l'égard de certains hétéroatomes (principalement N et P) des détecteurs thermo-ioniques dont le sel alcalin est ionisé par une flamme ou par chauffage électrique (AFID, NPD, TID, et FASD) sont mises à profit pour la détermination des insecticides organophosphorés (Cabras *et al.*, 1997) et carbamates, des herbicides triazines, phénylurées, anilidés, carbamates et des fongicides triazoles (Tadeo *et al.*, 2000). Bien qu'une quantité minimum de 50 picogrammes soit nécessaire pour être mise quantitativement en évidence, la sélectivité de ce détecteur permet, néanmoins, d'atteindre des limites de quantification assez proches de l'ECD tout en assurant une répétabilité en accord avec les exigences européennes (Obana *et al.*, 1997 ; Lentza-Rizos *et al.*, 2001).

Dans des flammes alimentées dans des conditions particulières en oxygène et hydrogène, la combustion de pesticides contenant du phosphore ou du soufre comme hétéroatomes conduit à l'apparition des espèces HPO/S_2 dans un état électronique excité (HPO^*/S_2^*). Lors de leur relaxation vers leur état électronique fondamental, l'énergie est restituée au milieu sous forme électromagnétique (à

392 nm pour S_2 et 526 nm pour HPO). La sélectivité de la détermination est assurée par la présence de filtres interférentiels intercalés entre la flamme et le tube photomultiplicateur d'électrons qui mesure l'intensité de l'émission. Si la linéarité de la réponse du détecteur est assurée pour les organophosphorés dans une gamme de concentrations de 10^3, de nombreuses exceptions apparaissent dans le cas des organosoufrés. De plus, les quantités minimales détectées sont difficilement inférieures au ng injecté. Néanmoins, ce détecteur complète utilement le détecteur thermoionique N/P pour les organophosphorés ou organoazotés dont la molécule contient aussi l'hétéroatome S (Pylypiw, 1993 ; Zuin *et al.*, 2003).

Lors de l'analyse d'échantillons environnementaux pour lesquels il n'existe pas de véritables blancos (échantillons certifiés non-traités), il peut être hasardeux de se baser sur le T_R d'un composé obtenu au moyen d'un détecteur sélectif pour en assurer l'identification. Par contre, le couplage au CPG^2 d'un spectromètre de masse (SM) utilisé comme détecteur spécifique peut lever toute ambiguïté sur la nature du produit isolé au moyen du chromatographe. La sortie de la colonne capillaire est directement connectée à la chambre d'ionisation du spectromètre de masse. Dans celle-ci, les différentes substances éluées de la colonne sont, à l'état vapeur, ionisées par impact électronique (EI) ou par réaction chimique (CI). Après focalisation et accélération, les différents fragments sont séparés dans l'analyseur constitué d'un filtre quadripolaire, d'un secteur magnétique ou d'une trappe d'ions, sur base du rapport de leur masse (m) à leur charge (z). Ils sont ensuite détectés et leur intensité mesurée par un multiplicateur d'électrons.

Dans le cas de l'analyse de traces, les LOD et le LOQ les plus basses sont atteintes par la mesure des intensités d'un nombre limité d'ions présélectionnés caractéristiques du composé à identifier (Zambonin *et al.*, 2002 ; Sanchez-Brunete *et al.*, 2002 ; Lambropoulou et Albanis, 2003). Pour les mêmes raisons, des analystes préfèrent l'ionisation chimique à l'impact électronique (Soleas *et al.*, 2000). L'énergie engagée lors des collisions du réactant et des composés élués limite leur fragmentation et favorise la présence de l'ion pseudo-moléculaire ou d'un de ses adduits.

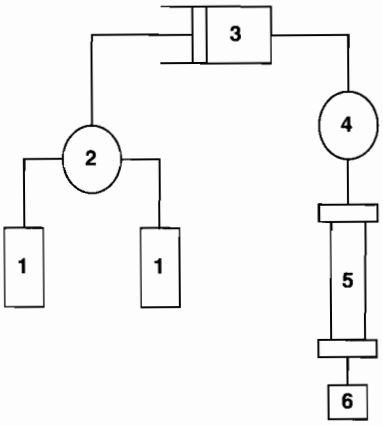
L'analyte est parfois transformé par réaction chimique (acylation, estérification, sylilation) pour le rendre compatible avec la CPG^2. Celle-ci vise à augmenter sa volatilité et sa stabilité tout en limitant son adsorption dans le système chromatographique (Tadeo *et al.*, 2000).

2.6.2. La chromatographie liquide à haute performance (CLHP)

La CLHP se différentie de la CPG^2 par la nature des phases en présence et aussi par les phénomènes physicochimiques qui président à la séparation des constituants du mélange (figure 5).

La phase mobile est constituée d'un liquide dont la composition peut être constante pendant toute l'élution (CLHP isocratique) ou au contraire varier suivant une programmation pré-établie (CLHP de gradient). Sa vitesse est contrôlée et assure des débits de 0,5 à 5 $mL.min^{-1}$ sous des pressions maximales de l'ordre de 30MP.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit



1. réservoirs de solvants permettant le travail en isocratique ou en gradient
2. chambre de mélange des solvants
3. système de mise en pression du solvant et son système d'atténuation des impulsions
4. système d'injection
5. colonne et sa pré-colonne
6. détecteur ou système de couplage en ligne avec le SM

Figure 5 ■ Schéma simplifié d'un chromatographe liquide à haute performance.

La phase stationnaire, sous forme de microparticules solides (généralement 5 ou 10 µm), est contenue dans une colonne en acier inoxydable (longueur 10 à 50 cm et de diamètre interne de 4 à 10 mm) capable de supporter des pressions auxquelles la phase liquide la soumet.

Les produits à séparer, en solution, injectés en tête du système sont entraînés par la phase mobile à travers la colonne. La nature des interactions réciproques entre les phases et les solutés (partage, échange, adsorption et dans une moindre mesure le pairage d'ions) assure l'élution fractionnée de chacun des constituants du mélange.

Les microparticules de silice sur lesquelles ont été greffés des groupements apolaires (octyls – C_8 ou octadécyls – C_{18}) favorisent le partage en phase inverse. Des solutés peu polaires (analytes et interférences) dissous dans un mélange de solvants dont la composante polaire est importante (acétonitrile/H_2O, 25/75, V/V) sont retenus en tête de colonne. Leur élution fractionnée est atteinte par l'application d'un gradient qui porte, par paliers successifs en 90 min, la composition du mélange de ces solvants à la proportion 90/10, V/V. En recourant à ces conditions de chromatographie, Otero *et al.* (2003) séparent 14 fongicides susceptibles d'être présents dans les raisins de vignobles espagnols. Sannino (1998) recherche les résidus de 9 herbicides phénylurées dans des légumes (carottes, pommes de terre) avec un gradient d'élution qui fait passer la composition du mélange en proportion 50/50, V/V d'eau et d'une phase organique composée de méthanol et d'acétonitrile (85/15, V/V) à 75 % de la phase organique et de 25 % d'eau en 30 min.

La chromatographie échangeuse d'ions est parfaitement adaptée pour la séparation des pesticides ionisés ou ionisables des molécules qui ne le sont pas. Wigfield et Lanouette (1991) se servent des propriétés amphotères du glyphosate et de son métabolite (l'acide aminométhylphosphonique ou l'AMPA) pour modifier leur charge électrique en fonction du pH de l'extrait. Ils peuvent, ainsi, éliminer les matières co-extraites par passage à travers de colonnes échangeuses de cations et d'anions en série.

Les groupements silanols de la silice ou les groupements polaires greffés sur celle-ci (diols, cyanopropyls) interviennent dans la chromatographie d'adsorption. Ainsi, les différences des coefficients d'adsorption entre le pesticide et les substances co-extraites assurent la purification des extraits de fruits et de légumes dans lesquels 24 insecticides N-méthylcarbamates sont recherchés (De Kock et Hiemstra, 1992).

À la sortie de la colonne, les composés mis en évidence par un détecteur sont caractérisés comme en CPG[2] par leur T_R et leur surface.

En analyse de résidus de pesticides, la spectrophotométrie d'absorption moléculaire dans l'ultraviolet (UV) constitue le mode de détection le plus courant. Au lieu d'isoler par un monochromateur la λ caractéristique de l'analyte (Sannino, 1998), il est possible d'enregistrer son spectre au moyen d'une barrette de diodes. La sélectivité de la détection est ainsi augmentée sans atteindre, néanmoins, un niveau comparable à la CPG[2] (Otero *et al.*, 2003). Les LOQ qui dépendent de l'efficacité de la purification de l'extrait peuvent atteindre des valeurs comprises entre 0,01 et 0,03 $mg.kg^{-1}$ dans le cas des herbicides phénylurées (Sannino, 1998).

Elles se situent, par contre, entre 0,02 et 0,6 $mg.kg^{-1}$ lors de la détermination des N-méthylcarbamates (Otero *et al.*, 2003). Le couplage de deux colonnes de chromatographie (chromatographie multidimentionnelle) permet de pousser la purification des extraits et ainsi d'abaisser d'une façon significative les LOD et les LOQ. Suivant la position des connexions d'une vanne à six voies intercallée entre les deux colonnes, il est possible de diriger l'éluat de la première colonne (colonne de concentration) vers un flacon de récupération des solvants ou au contraire d'en isoler une fraction dont le T_R correspond à l'analyte pour la transférer en tête de la deuxième colonne (colonne analytique). Les conditions de chromatographie (phases stationnaire et mobile) appliquées à cette fraction dans la deuxième colonne complètent l'isolement de l'analyte (Zhou *et al.*, 1996). Après ce transfert, la vanne à six voies reprend sa position normale. La colonne de concentration continue à être alimentée par un éluant pour éliminer les substances co-extraites dont le T_R est supérieur à celui de l'analyte.

Bien que son usage soit plus limité et le prix de l'appareillage élevé, la spectrofluorimétrie présente des avantages indéniables au niveau de la sélectivité et des LOQ lors de l'analyse d'insecticides N-méthylcarbamates et de leurs métabolites ainsi que du glyphosate et de son dérivé l'AMPA. En sortie de colonne, ils sont transformés en amine aliphatique primaire (méthylamine ou glycine suivant le cas) qui, par réaction avec l'ortho-phtalaldéhyde (OPA) et le dimercaptopropanol, fournit

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

un composé fluorescent. Celui-ci est quantifié par la mesure de l'intensité de son émission à 455 nm après avoir été excité à 340 nm. Dans leurs applications à l'analyse des N-méthylcarbamates aux fruits et légumes, De Kock et Hiemstra (1992) atteignent des LOQ de 0,05 mg à 0,5 mg.kg^{-1}. Par contre, Wigfield et Lanouette (1991) ne parviennent pas à descendre en dessous de 0,2 mg kg^{-1} tant pour le glyphosate que pour l'AMPA.

Comme l'expliquent Pico *et al.* (2000), l'apparition d'interfaces telles que la vaporisation thermique (TS) ou encore des interfaces opérant l'ionisation à la pression atmosphérique (API) telles que l'« *electrospray* », l'« *ionspray* » ou l'ionisation chimique (APCI) ont rendu opérationnel le couplage de la SM exigeant une pression réduite à la CLHP travaillant avec une phase liquide. La tendance que présentent ces interfaces à favoriser l'ion pseudo-moléculaire est mise à profit lors d'études de dosage. Ainsi, des LOQ aussi basses que 1 à 10 µg.kg^{-1} sont rapportées par ces mêmes auteurs lors du dosage d'insecticides carbamates dans des fruits ou des légumes. Par contre, l'identification d'un analyte qui exige la reconnaissance de 3 ou 4 fragments caractéristiques en plus de l'ion pseudo-moléculaire demande une fragmentation plus poussée. Celle-ci peut être obtenue par des modifications de l'interface ou encore par un second SM qui confirme l'identité de l'ion pseudo-moléculaire.

2.6.3. Les autres techniques

Si le CO_2 supercritique s'est révélé intéressant pour l'extraction des pesticides de nombreuses matrices environnementales, son succès en tant que phase mobile en chromatographie reste très limité.

L'oxydation du luminol en ion aminophtalate par le peroxyde d'hydrogène en milieu alcalin s'accompagne d'une émission de photons (la chémiluminescence). Cette réaction lorsqu'elle est catalysée par des métaux (Co^{2+}, Fe^{3+}) ou par certaines molécules organiques (par exemple, des insecticides organophosphorés) peut être mise à profit pour doser l'oxydant (H_2O_2) mais aussi le catalyseur. Des essais prometteurs de dosage de plusieurs organophosphorés (le dichlorvos, l'isocarbophos et le méthylparathion) dans des végétaux sont rapportés par Huang *et al.* (2002) après une CLHP qui sépare les interférences des différents analytes.

Parmi les techniques les plus récentes, il faut citer la place grandissante prise par l'électrophorèse capillaire (EC). La séparation des espèces ionisées ou ionisables dans une solution tamponnée contenue dans un capillaire en silice (diamètre intérieur de l'ordre de 70 µm et de longueur comprise entre 50 et 150 cm) se base sur leur vitesse de migration dans un champ électrique auquel elles sont soumises. En solution, à un pH proche ou supérieur à leur pKa, les formes anioniques des sulfonylurées sont analysées dans des extraits de sol avec des performances (LOQ, répétabilité et pourcentage de récupération) assez comparables à la CLHP lorsqu'elles sont quantifiées au moyen d'un détecteur UV (Menne *et al.*, 1999). Par contre, l'électrophorèse capillaire micellaire susceptible de séparer des substances non chargées électriquement n'a, jusqu'à présent, fait l'objet d'aucune application pour la recherche de pesticides dans des productions végétales ou animales.

Quel que soit le mode de détermination de la liaison anticorps (Ac) antigène (Ag) des immunoessais (test Elisa : *enzyme linked immuno sorbent assay*, FIA : *fluorescence immunoassay* ou CLIA : *chemiluminescence immunoassay*), ceux-ci se fondent sur la compétition entre la forme naturelle du pesticide et sa forme modifiée pour une quantité limitante d'anticorps. Un certain nombre d'anticorps dirigés contre des substances actives telles que l'atrazine, le carbofuran, la procymidone, sont déjà commercialisés sous forme de « kits » prêts à l'emploi par des firmes telles que Dexil Corporation (États-Unis), Strategic Diagnostic Inc. (États-Unis), Omnicrom Environmental Diagnostic (États-Unis) ou leurs représentants en Europe. D'autres anticorps restent la propriété et à l'usage exclusif de leurs concepteurs. L'absence de réactions croisées significatives entre l'anticorps et des structures moléculaires similaires à celle de l'analyte rend sa reconnaissance spécifique. Elle autorise, donc, son utilisation comme moyen de dosage (Casino *et al.*, 2001). Le remplacement des anticorps polyclonaux par des anticorps monoclonaux renforce le degré de sélectivité du test et accroît, par conséquent, ses possibilités d'application au dosage d'un analyte (Liégeois *et al.*, 1992). La présence de réactions croisées est, par contre, mise à profit chaque fois que les techniques immunochimiques visent à isoler d'un extrait un ensemble de pesticides portant un même groupement fonctionnel reconnu par le même anticorps (épitope) tels que les chlorotriazines ou les phénylurées. Elles sont, alors, complétées par une méthode de détermination quantitative telle que la CPG[2] ou la CLHP (Lawrence *et al.*, 1996).

Outre le manque d'anticorps disponibles et leur faible stabilité en présence de solvants organiques concentrés (dénaturation de la protéine), les performances des tests immunoenzymatiques peuvent être influencées par la composition des extraits (force ionique, pH, protéines). Par contre, la rapidité de la détermination surtout dans les milieux aqueux (jus de fruits et lait) et les limites de quantification qu'elles permettent d'atteindre (de l'ordre du $\mu g.kg^{-1}$), les rendent très utiles comme méthodes de criblage ou comme techniques de purification complémentaires aux techniques physicochimiques (Delaunay-Bertoncini *et al.*, 2001).

Après s'être imposés dans le domaine médical, les biocapteurs font leur apparition dans le contrôle de qualité en industries agroalimentaires ainsi que dans l'environnement. Ils sont constitués d'une composante biologique (une enzyme, un anticorps, un organite cellulaire) immobilisée sur un transducteur. Celui-ci a pour mission de convertir le résultat de l'interaction analyte/biomolécule en une grandeur électrique quantifiable. Il fait appel aux techniques électrochimiques (potentiométrie, coulométrie) optiques d'analyse (chémiluminescence, fluorescence) ou piézoélectriques (Krämer, 1996).

Les biocapteurs basés sur la mesure de l'inhibition de l'activité de cholinestérases font actuellement l'objet des développements les plus importants. Les recherches portent sur la comparaison des performances de diverses enzymes (acétylcholinestérase, butyrylcholinestérase, en fonction de leur origine et de leur mode d'immobilisation) ainsi que celles des différents transducteurs et de leur stabilité au cours du temps (Ivanov *et al.*, 2000 ; Menar *et al.* ; 2003).

© Lavoisier - La photocopie non autorisée est un délit

Les limites de quantification atteintes par les biocapteurs, leur sélectivité potentielle à l'égard d'une famille déterminée de pesticides ainsi que la facilité de les introduire dans une chaîne de mesure automatisée constituent des avantages indéniables qui les rendent aptes à participer d'une façon efficace à la surveillance de l'environnement ou au criblage de la teneur en pesticides des productions agricoles. Néanmoins, cette technique ne pourra prétendre à ce statut qu'après avoir été soumise à un programme de validation de ses performances dans le cadre de la méthode analytique dans laquelle elle aura été introduite.

2.7. Évaluation des performances des méthodes analytiques

Sauf dans de rares cas où la stabilité de la matrice et de l'analyte est assurée (cas des polychlorobiphényles ou des insecticides organochlorés dans les sols ou la poudre de lait), l'analyste ne dispose pas de matériaux de référence certifiés par une instance officielle telle que le « *Community Bureau of Reference* » CBR (de l'UE) ou le *National Institute of Science and Technology* – NIST (des États-Unis) pour valider une nouvelle méthode d'analyse ou plus simplement juger de son niveau d'expertise. La participation à des tests circulaires prévus dans le cadre de l'accréditation suivant la norme 17025 constitue une solution partielle à cette question. Par contre, ces tests ne sont pas organisés au niveau des BPL. Dans la grande majorité des cas, la validation portera sur des échantillons non traités (blancos) supplémentés par des quantités connues et variables de(s) l'analyte(s).

L'apport au sol de la quantité requise de pesticides dans un faible volume de solvant (inférieur à 1 % v/m) est considéré comme réaliste. L'extraction ne peut, néanmoins, être envisagée qu'après un temps de contact de quelques heures qui favorise son adsorption sur des colloïdes tout en évitant les pertes par volatilisation ou par métabolisation. Il est d'usage courant de supplémenter le blanco d'origine végétale ou animale au moment de son extraction.

Les exigences auxquelles doivent répondre les critères énoncés en 2.1 sont largement documentées par le *Codex Alimentarius* (anonyme, 2000b) et l'Union européenne (UE) (anonyme, 2000c).

Ainsi, la justesse s'apprécie par le pourcentage de récupération de l'analyte dans sa matrice qui doit être compris entre 70 et 110 %. Sa détermination s'opère au niveau de la LOQ et à 10 fois cette valeur ou de la LMR si elle est supérieure à la LOQ. La valeur des blancos, quant à eux, doit rester inférieure à 30 % de cette LOQ. La fidélité (répétabilité et reproductibilité) correspond au coefficient de variation des résultats obtenus lors de la détermination de la justesse. Il ne doit pas excéder les 20 %. Si la LOQ est considérée comme la plus faible concentration dont la justesse et la fidélité satisfont les valeurs citées précédemment, de nombreux laboratoires adoptent des paramètres statistiques plus sévères pour quantifier ce critère (Caporal-Gautier *et al.*, 1992).

Perspectives et conclusion

Les tendances lourdes qui affectent actuellement la phytopharmacie continueront à influencer durablement l'ensemble des acteurs de la profession. Parmi celles-ci, il faut citer la volonté affirmée de l'UE de réviser l'ensemble des substances actives autorisées sur le marché européen pour au plus tard juillet 2008. Sur les 850 pesticides répertoriés au début de cette évaluation (1993), plus de 350 d'entre eux sont, en 2003, déjà abandonnés. Si le retrait n'est pas applicable aux pays tiers et bien qu'elle ait prévu des dérogations, l'UE imposera pour la totalité des exportations sur son territoire une teneur en pesticides nulle (inférieure à LOQ). Dans le même temps, l'UE s'est engagée dans un vaste programme d'harmonisation des LMR admises dans les produits agricoles vendus en Europe. Ce programme implique aussi un travail analytique considérable pour qu'elles ne soient pas fixées à la LOQ de la méthode analytique. L'application du référentiel européen tel que l'Eurepgap ou le *British Retail Consortium* (du Royaume-Uni) ainsi que la charte *Perfect* (Belgique, région wallonne) ou les exigences de l'Agriculture Raisonnée (France) qui visent à accroître la sécurité alimentaire du consommateur ne restent pas sans effet sur les pratiques phytosanitaires.

Au niveau agronomique, l'extension de la lutte intégrée concourra aussi à modifier la nature et l'importance des résidus à la récolte (Copin *et al.*, 2001). Par ailleurs, une connaissance accrue des mécanismes biologiques a permis la commercialisation des substances actives dont l'efficacité est atteinte avec des doses de quelques dizaines de $g.ha^{-1}$ (les herbicides sulfonylurées) ou parfois de quelques $g.ha^{-1}$ (les insecticides pyréthrinoïdes), pour lesquels les résidus à la récolte dépassent à peine quelques $\mu g.kg^{-1}$.

Pour répondre aux diverses contraintes liées au contrôle de la conformité d'une production agricole aux LMR, l'analyste se doit de développer des méthodes de multidétection. Elles seront consacrées autant à l'identification des analytes qu'à leurs dosages avec des valeurs de LOQ inférieures aux LMR fixées. En absence de celles-ci, la LOQ tient lieu de LMR et sa valeur, pour respecter le principe de précaution, doit être obtenue aux limites d'utilisation de la méthode. Dans ces conditions, les techniques couplées telles que la CPG^2-SM ou la CHLP-SM constituent des outils indispensables pour satisfaire ces deux exigences. Elles doivent de plus être intégrées à une chaîne d'analyse dans laquelle la phase d'extraction ne constitue pas le facteur limitant. À cet égard, l'AES ou la SFE peuvent constituer une réponse à cette question pour autant que des efforts d'adaptation de ces techniques aux différents couples matrice/pesticides soient consentis par le laboratoire.

À côté des méthodes physicochimiques dont le degré d'informatisation et d'automatisation ira en grandissant, il y aurait lieu de tenir compte des développements futurs des méthodes immunobiologiques et des biocapteurs. Ils pourront servir, à faible coût, au criblage d'un grand nombre d'échantillons. Les méthodes physicochimiques ne seraient réservées qu'aux extraits dont les résultats approcheraient ou dépasseraient la valeur de la LMR. Enfin, il faut être conscient que les impli-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

cations juridiques et financières des résultats de ces contrôles de LMR impliquent une reconnaissance formelle au niveau international de l'expertise du laboratoire. Celle-ci est assurée par l'accréditation suivant la norme ISO 17025.

La constitution des dossiers d'homologation des substances actives nouvelles ou en cours de réévaluation nécessite des études qui établissent le plus exactement possible leur LMR ainsi que leurs schémas de métabolisation et leurs comportements dans l'environnement. Dans ce cas, l'analyste privilégiera les méthodes individuelles. Elles aborderont en même temps les aspects d'identification et de dosage avec les mêmes techniques que celles qui ont été proposées lors des méthodes de multidétection. Cependant, les résultats de telles études ne seront pris en compte par les autorités compétentes que pour autant qu'elles sont issues de laboratoires reconnus, travaillant en conformité avec les directives de l'OCDE sur les bonnes pratiques de laboratoire.

Références bibliographiques

Anastassiades M., Schwack W. (1998). Analysis of benomyl, thiophanate methyl and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in fruits and vegetables after supercritical fluid extraction. *J Chromatogr A*, **825** : 45-54.

Anonyme (1996a). Teneurs maximales autorisées sur et dans les fruits et légumes. Annexe II de la directive 76/895/CEE du 23.10.76, modifiée par la directive 96-32/CE du 21.05.96 (J.O. du 18.06.96, L 144/12-34).

Anonyme (1996b). Teneurs maximales autorisées de résidus sur et dans les céréales et les denrées alimentaires d'origine animale. Annexe de la directive 86/362/CEE du 24.07.86 modifiée par la directive 96/33/CE du 21.05.96 (J.O. du 18.06.96 L 134/35-38).

Anonyme (2000a). *Codex alimentarius*. Résidus de pesticides dans les denrées alimentaires – Limites maximales de résidus. Vol. 2b, éd. FAO/OMS, Rome.

Anonyme (2000b). *Codex alimentarius*. Vol. 2A, Part 1., Pesticides residues in food methods of analysis and sampling. Ed. FAO/OMS, Rome.

Anonyme (2000c). Guidance document on residue analytical methods. European Commission D.G. Health and Consumer Protection, SANCO/825/00 rev. 6, 1-16.

Anonyme (2004a). http://www.oecd.org.chs

Anonyme (2004b). Comité français d'accréditation. http://www.cofrac.fr

Armstrong S.D. (1999). *Microwave-assisted extraction for the isolation of trace systemic fungicides from woody plant material*. Doctor of Philosophy in chemistry, Blacksburg Virginia, USA.

Björklund F., Nilsson T., Böwadt S. (2000). Pressurised liquid extraction of persistent pollutants in environmental analysis. *Trends in Anal Chem*, **19** : 434-444.

Buldini P.L., Ricci L., Sharma J.L. (2002). Recent applications of sample preparation techniques in food analysis. *J Chromatogr A*, **978** : 47-70.

Cabras P., Angioni A., Melis M., Minelli E., Pirisi F. (1997). Simplified multiresidue method for the determination of organophosphorus insecticides in olives oil. *J of Chromatogr A*, **761** : 327-331.

Camel V. (1998). Supercritical fluid extraction as a useful method for pesticides determination. *Analusis*, **26** : 99-111.

Caporal-Gautier J., Nivet J.-M., Algranti P., Guilloteau M., Histe M., Lalier M., N'Guyen-Huu J.-J., Russotto R. (1992). Guide de validation analytique – Rapport d'une commission SFSTP – I. Méthodologie. *S.T.P. Pharma Pratiques*, **2** : 205-226.

Casino P., Morais S., Purechades R., Maquieira A. (2001). Evaluation for the determination of chloracetanilides in water and soils. *Environ Sci Technol*, **35** : 4111-4119.

Columé A., Cardenas S., Gallego M., Valcareel M. (1999). Semiautomatic method for the screening and determination of 23 organochlorine pesticides in horticultural samples by gas chromatography with electron capture detection. *J Chromatogr A*, **849** : 235-243.

Columé A., Cardenas S., Gallego M., Valcareel M. (2001). Multiresidue screening of pesticides in fruits using an automatic solid-phase extraction system. *J Agric Food Chem*, **49** : 1109-1116.

Copin A., Honnay J.-P., Maraite H., Deleu R. et Rouchaud J. (1996). *Bilan et gestion des effets secondaires de la lutte phytosanitaire*. Institut pour l'Encouragement de la Recherche Scientifique dans l'Industrie et l'Agriculture (IRSIA), Bruxelles (Belgique).

Copin A., Latteur G., Deleu R., Mahaut T. et Schiffers B. (2001). *Évaluation du risque de toxicité de pesticides vis-à-vis de trois insectes auxiliaires* (Adalia bipunctata, Aphidius rhopalosiphi et Episyrphus balteatus) *par le dosage chimique des résidus*. Ministère des Classes Moyennes et de l'Agriculture, Administration Recherche et Développement – DG6, Bruxelles (Belgique).

Dean R., Fitzpatrick L., Heslot C. (1999). Microwave-assisted solvent extraction in organic analysis. *In* Handley A., *Extraction methods in organic analysis*, CRC Press, Sheffield, 166-193.

De Kock A., Hiemstra M. (1992). Optimization, automation and validation of solid-phase extraction clean-up and on-line liquid chromatographic determination of N-methylcarbamate pesticides in fruits and vegetables. *J AOAC INT*, **75** : 1063-1072.

Delaunay-Bertoncini., Pichon V., Hennion M.-C. (2001). Immunoextraction: a highly selective method for sample preparation. *LC.GC Europe*, March, 162-172.

Fisher J., Scarlett M., Stott A. (1997). Accelerated solvent extraction. An evaluation for screening of soils for selected U.S. EPA semivolatile organic priority pollutants. *Environ Sci Technol*, **31** : 1120-1127.

Huang G., Ouyang J., Bayens W., Yang Y., Tao C. (2002). High performance liquid chromatographic assay of dichlorvos, isocarbophos and methylparathion from plant leaves using chemiluminescence detection. *Anal Chim Acta*, **474** : 21-29.

Ivanov A., Evtugyn A., Gyuresányi R., Tóth K., Budinkov (2000). Comparative investigation of electrochimical cholinesterase biosensor for pesticide determination. *Anal Chim Acta*, **404** : 55-65.

Koinecke A., Kreuzig R., Bahadir M. (1997). Effects of modifiers and adsorbents and eluents in supercritical fluid extraction of selected pesticides in soil. *J Chromatogr A*, **786** : 155-161.

Krämer P. (1996). Biosensors for measuring pesticide residues in the environment. *J AOAC INT*, **79** : 1245-1252.

Lambropoulou D., Albanis T. (2003). Headspace solid-phase microextraction in combination with gas chromatography-mass spectrometry for the rapid screening of organophosphorus insecticides residues in strawberries and cherries. *J Chromatogr A*, **993** : 197-203.

Lawrence J., Ménard C., Henniou M.-C., Pichon V., Le Goffic F., Durand N. (1996). Evaluation of immunoaffinity chromatography as a replacement for organic solvent clean-up of plants extracts for the determination of triazines herbicides by liquid chromatography. *J Chromatogr A*, **752** : 147-154.

Lentza-Rizos Ch., Avramides E.J., Chéraso F. (2001). Low-temperature clean-up method for the determination of organophosphorus insecticides in olive oil. *J Chromatogr A*, **912** : 135-142.

Letellier M., Budzinski H. (1999). Microwave assisted extraction of organic compounds. *Analusis*, **27** : 259-271.

Liégeois E., Dehon J., de Brabant B., Perry P., Portetelle D., Copin A. (1992). Elisa test, a new method to detect and quantify isoproturon in soil. *The Science of Total Environ*, **123/124** : 17-28.

Menne H., Janowitz K., Bergu B. (1999). Comparaison of capillary electrophoresis and liquid chromatography for determination of sulfonylurea herbicides in soil. *J AOAC INT*, **82** : 1534-1541.

Mežnar K., Pihlar B., Pogaènik L., Franko M. (2003). Optimised calibration procedure for bioanalytical determination of organophosphate pesticides in apple juices by immobilised Ache. *Acta Chim Slov*, **50** : 383-394.

Mueller A., Björklund E., von Holst C. (2001). On line clean-up of pressurized liquids extracts for the determiniation of polyclorinated biphenyls in feeding stuffs and food matrices using gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A*, **925** : 207-2001.

Obana H., Kikuchi K., Okhihashi M., Hori S. (1997). Determination of organophosphorous pesticides in foods using an accelerated solvent extraction system. *Analyst*, **122** : 217-220.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Otero R., Grande C., Gandara S. (2003). Multiresidue method for fourteen fungicides in white grapes by liquid-liquid and solid-phase extraction followed by liquid chromatography-diode array detection. *J Chromatogr A*, **992** : 121-131.

Papadakis E., Papadopoulou-Mourkidou E. (2002). Determination of metribuzin and major conversion products in soils by microwave assisted water extraction followed by liquid chromatography analysis of extracts. *J Chromatogr A*, **962** : 9-20.

Pastor A., Vasquez E., Ciscar R., Guardia M. (1997). Efficiency of the microwave-assisted extraction of hydrocarbons and pesticides from sediments. *Anal Chim Acta*, **344** : 241-249.

Pardue J. (1995). Multiresidue method for chromatographic determination of traizine herbicides and their metabolites in raw agricultural products. *J AOAC INT*, **78** : 856-858.

Pearce K.L., Trenerry V.C., Were S. (1997). Supercritical fluid extraction of pesticide residues from strawberries. *J Agri Food Chem*, **45** : 153-157.

Pico Y., Font G., Moltó J.C., Mañes J. (2000). Pesticide residue determination in fruit and vegetables by liquid chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A*, **882** : 153-173.

Pylypiw J. (1993). Rapid gas chromatographic method for the multiresidue screening of fruits and vegetables for organochlorine and organopohosphate pesticides. *J AOAC INT*, **76** : 1369-1373.

Sanchez-Brunete C., Miguel E., Tadeo J.L. (2002). Multiresidue analysis of fungicides in soil by sonication-assisted extraction in small columns and gas chromatography. *J Chromatogr A*, **976** : 319-327.

Sannino A. (1998). Determination of phenylurea herbicide residues in vegetables by liquid chromatography after gel permeation chromatography and florisil cartridge clean-up. *J AOAC INT*, **81** : 1048-1053.

Schantz M., Nichols J., Wise S. (1997). Evaluation of pressurized fluid extraction for the extraction or environmental matrix reference materials. *Anal Chem*, **69** : 4210-4219.

Shen S., Kee Lee H. (2003). Determination of triazines in soils by microwave-assisted extraction followed by solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A*, **985** : 167-174.

Soleas G., Yan J., Hom K., Goldberg D. (2000). Multiresidue analysis of seventeen pesticides in wine by gas chromatography with mass-selective detection. *J Chromatogr A*, **882** : 205-212.

Stout S., da Cunha A., Allardice D. (1996). Microwave-assisted extraction coupled with gas chromatography/electron capture negative chemical ionization mass spectrometry for simplified determination of imidazolinone herbicides in soil at the ppb level. *Anal Chem*, **68** : 653-658.

Tadeo L., Sanchez-Brunete C., Pérez A., Fernandez D. (2000). Analysis of herbicide residues in cererals, fruits and vegetables. *J Chromatogr A*, **882** :175-194.

Thier H.P., Kirchkoff J. (1992). *Manual of pesticide residue analysis*. Vol. II, Ed. VDH, Weinheim.

van der Velde E.G., de Haan W., Lienu A.K.D. (1992). Supercritical fluid extraction of polychlorbiphenyls and pesticides from soil : Comparison with other extraction methods. *J Chromatogr A*, **626** : 135-143.

Wigfield J., Lanouette M. (1991). Residue analysis of glyphosate an its principal metabolite in certain cereals, oilseeds and pulses by liquid chromatography and post-column fluorescence detection. *J AOAC INT*, **74** : 842-847.

Zambonin C.G., Cilenti A., Palmisono (2002). Solid phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry for rapid screening of triazoles residues in wine and strawberries. *J Chromatogr A*, **967** : 255-260.

Zhou M., Bramble F., Devine T., Norwood G. (1996). Determination of bensulfuron methyl in rice and crayfish by liquid chromatography with column and eluant switching system and UV detection. *J AOAC INT*, **79** : 791-796.

Zhou M., Trubey R., Keil Z., Spark D. (1997). Study of the effects of environmental variables and supercritical fluid extraction parameters on the extractability of pesticide residues from soil using multivariate optimization scheme. *Environ Sci Technol*, **31** : 1934-1939.

Zuin V.G., Yariwake J.H., Bicchi C. (2003). Fast supercritical fluid extraction and high-resolution chromatography with electron capture and flame photometric detection for multiresidue screening of organochlorine and organophosphorus pesticides in Brazil's medicinal plants. *J Chromatogr A*, **985** : 159-166.

13

Les bio-indicateurs : outils de surveillance des pesticides dans les milieux naturels

Frances R. Pick

L'utilisation de pesticides en agriculture et en foresterie, ainsi qu'en milieu urbain, comporte des risques de contamination des milieux naturels. Dans la plupart des pays industrialisés, les pesticides sont répandus dans les eaux comme dans l'atmosphère. Aux États-Unis, plus de 90 % des eaux de surface et environ 50 % des eaux souterraines contiennent au moins un, et le plus souvent, plusieurs pesticides (USGS, 1999). Ces chiffres sont du même ordre en France (IFEN, 2003). Plusieurs pesticides ont potentiellement des effets négatifs sur les organismes non-cibles lorsque les concentrations sont élevées, ou lors d'expositions prolongées. Des études récentes montrent le lien direct entre la présence de certains pesticides et leurs effets négatifs sur les organismes non-cibles en milieux agricoles (Hayes *et al.*, 2002 ; Anderson *et al.*, 2003) ainsi que dans des régions éloignées des sites d'épandage (Simms *et al.*, 2000). Dans le cas de la santé humaine, les risques que font encourir ces composés suscitent de vives controverses. Les pesticides, utilisés à des fins paysagères ou horticoles, sont de plus en plus abandonnés par les municipalités, notamment sous la pression du public. Parallèlement, le secteur de l'agriculture biologique prend de plus en plus d'ampleur, même si on note le développement :

– de pesticides plus sélectifs et moins toxiques que ceux de la première génération comme les pesticides organochlorés ;

– des systèmes de plus en plus sophistiqués d'évaluation des risques (environnement et santé humaine) avant même l'homologation (Kapustka *et al.*, 1996).

Bien qu'il existe des milliers de composés avec des effets biologiques très différents en fonction de la nature de leurs cibles principales : animales, végétales, ou microbiennes, les pesticides sont considérés ici de façon générale. Même s'ils ont été interdits dans la plupart des pays industriels depuis quelques décennies,

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un vol

les pesticides organochlorés doivent encore être pris en considération pour plusieurs raisons. En premier lieu, ils sont toujours présents dans la faune et la flore car leurs taux de dégradation sont faibles, et les sédiments et sols en constituent des réservoirs à long terme (Gill *et al.*, 2003). De ce fait, ils continuent à exercer des effets négatifs, en particulier sur les organismes en haut des chaînes trophiques (Bowerman *et al.*, 2003). Ils sont aussi utilisés dans plusieurs pays en développement à cause de leurs faibles coûts et de leur facilité d'emploi. Enfin, les pesticides les plus volatils peuvent être transportés par voie aérienne loin des sites d'épandage, et la contamination est devenue planétaire (Biddleman *et al.*, 1993). Par ailleurs, il est important d'inclure, dans le risque pesticide, les adjuvants ou ingrédients qui ne font pas partie des composés actifs dans les formulations, mais qui ne sont pas toujours aussi inertes qu'on le dit (Everett et Dickerson, 2003 ; Stark et Walthall, 2003).

Les systèmes d'évaluation des risques n'éliminent pas la nécessité d'effectuer des analyses de pesticides au niveau de l'environnement et l'étude de leurs effets *in situ*. De nombreuses raisons scientifiques et sociales incitent à faire le suivi environnemental des pesticides :

– les interactions possibles de ces composés dans l'environnement sont difficiles à prédire, bien que les connaissances progressent à ce niveau, en particulier les relations structure-activité des molécules (QSAR, *quantitative structure-activity relationships*, Walker *et al.*, 2003) ;

– les effets additifs, synergiques, antagonistes et cumulatifs des pesticides dans l'environnement sont peu connus et peu étudiés *in situ* (Sobiech et Henry, 2003) ;

– les effets à long terme des expositions chroniques et les changements des espèces dans les systèmes naturels sont difficiles, voire impossibles, à prévoir ;

– face aux changements climatiques, les mécanismes de sensibilité et de tolérance des espèces peuvent être modifiés.

Une des méthodes d'évaluation de ces effets met en jeu des organismes biologiques.

Ce chapitre sera consacré à l'utilisation d'organismes, notamment les plantes et micro-organismes, qui sont employés (ou seraient potentiellement utiles) dans la surveillance des pesticides et leurs impacts dans l'environnement. Il met l'accent sur les études *in situ* et particulièrement sur les réponses biologiques qui peuvent faire l'objet de surveillance à long terme. Les divers tests écotoxicologiques qui utilisent les organismes en laboratoire ou mettent en évidence des effets biologiques intrinsèques des pesticides sont un sujet vaste et plusieurs travaux de synthèse dans ces domaines existent déjà, ainsi que des protocoles détaillés (OECD, 1993 ; ASTM, 2000 ; Johnston, 2001 ; Coats et Yamamoto, 2003). Le recensement des analyses de pesticides dans les milieux naturels fait l'objet de nombreuses études au niveau mondial publiées régulièrement dans des périodiques écotoxicologiques (*Ecotoxicology, Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, Environment International, Environmental Pollution, Environmental Toxicology and Chemistry*).

1. *Surveillance chimique et surveillance biologique des milieux naturels*

1.1. Avantages comparés

La majorité des règlements relatifs au contrôle de la pollution dans l'environnement sont basés sur des critères chimiques qui visent, de façon générale, à protéger toutes les espèces y compris l'espèce humaine. Les normes établies l'ont été, notamment, sur la base de tests de toxicité effectués en laboratoire chez des espèces types (l'algue verte, *Selenastrum capricornutum* ; la plante aquatique, *Lemna spp.* ; la puce d'eau, *Daphnia spp.* ; la truite, *Onchorynchus mykiss* ; le ver de terre, *Eisenia andrei*). Ces espèces sont considérées comme représentatives des écosystèmes affectés : aussi sont-elles utilisées dans le développement et l'homologation de nouveaux pesticides.

La surveillance de l'environnement se base aujourd'hui surtout sur les analyses chimiques : niveau des concentrations des contaminants dans l'eau (USGS, 1999 ; IFEN, 2003), et dans les sédiments, ainsi que dans l'atmosphère et les pluies (Chan *et al.*, 2003). Alors que la réglementation pour l'eau potable concerne plusieurs pesticides, celle destinée à protéger la vie aquatique ne prend en considération qu'un petit sous-groupe de polluants ; mais elle est en général plus stricte.

Toutefois, l'analyse chimique des milieux est souvent confrontée à des problèmes d'ordre technique et d'échantillonnage, et surtout elle ne prend pas en considération de manière directe la toxicité qui se manifeste sur la faune et la flore.

Parmi les difficultés rencontrées :

– le contaminant peut être à la limite de sa détection (pour le mercure Hg de l'ordre du $ng.L^{-1}$, le méthylmercure CH_3Hg^+ du $pg.L^{-1}$, les dioxines du $fg.L^{-1}$, l'atrazine du $ng.L^{-1}$) ;

– l'analyse nécessite un équipement spécialisé et coûteux, et des manipulateurs expérimentés ;

– pour certains contaminants, notamment les métaux, la concentration de la fraction disponible aux organismes peut être difficile à cerner à cause des multiples interactions avec d'autres composés dans le milieu naturel, par exemple avec la matière organique (Graff *et al.*, 2003) ;

– de la même manière, il n'est pas toujours possible de faire une analyse exhaustive de tous les polluants, et d'en doser certains d'entre eux dans tous leurs compartiments abiotiques.

D'autres arguments sont à prendre en compte. L'exposition au polluant peut être de courte durée et de ce fait, le xénobiotique est non détectable lors de l'échantillonnage. Les pesticides d'utilisation saisonnière ne sont souvent détectés qu'après les pluies. L'utilisation de membranes semi-perméables et d'instruments passifs (*passive sampling devices*) *in situ* permet de résoudre, jusqu'à un certain point, ces problèmes de détection et d'échantillonnage (Yuska *et al.*, 2003).

Au final, les analyses chimiques peuvent être en fait plus coûteuses que la surveillance biologique (*biomonitoring*).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Cette dernière utilise, de façon générale, des organismes témoins pour évaluer le degré de contamination du milieu. Implicitement, elle détermine les effets sur les organismes, et identifie les sources de toxicité. Elle peut être une solution pour pallier les limites des méthodes chimiques. En effet, les êtres vivants peuvent intégrer des contaminants pendant une période d'exposition et l'analyse de ces organismes mesure la disponibilité réelle des polluants pour la biomasse. La majorité des polluants est d'ailleurs à des concentrations bien supérieures dans les organismes (bio-amplification des substances persistantes) et, dans certains cas, les effets toxicologiques de certains contaminants peuvent être détectés *in situ*.

Cependant, les programmes de surveillance à long terme qui utilisent des organismes sont plutôt rares. Un programme existe avec succès depuis plusieurs années : celui de la surveillance par les moules prises comme indicateur global de la contamination du milieu marin aux États-Unis (*Mussel Watch*, Chase *et al.*, 2001), et en Europe (Solé *et al.*, 1994). Les protocoles standardisés permettent d'effectuer des comparaisons entre continents (Beliaff *et al.*, 1998). Ce type de programme a aussi le mérite d'être assez facilement compréhensible du grand public. Au Canada, le suivi des poissons d'eau douce de lacs dans lesquels se pratique la pêche de loisir se poursuit depuis plus de vingt ans. Les concentrations de PCB (polychlorobiphényles), de mercure et de certains pesticides dans le « poisson-gibier » (*cf.* 3.) des lacs et cours d'eau sont analysées et consignées dans un rapport annuel concernant la santé publique en Ontario (MOE, 2003). Le taux de contamination par des xénobiotiques des œufs de goélands fait l'objet d'une surveillance régulière dans les Grands Lacs, à la suite de déformations observées chez les nouveaux-nés et les adultes dans les années 70.

Que ce soit dans les organismes ou dans l'eau ou les sédiments, pour la grande majorité des pesticides, les données ne sont pas suffisantes pour évaluer les différences ou les changements dans le temps et l'espace. Pour les effets biotiques des pesticides dans les milieux agricoles, il existe actuellement peu de suivis biologiques *in situ* en Amérique du Nord (Sobiech et Henry, 2003), et encore moins dans les pays en développement (Castillo *et al.*, 1997).

1.2. Surveillance biologique : quelques définitions

La surveillance biologique peut en principe se faire à tous les niveaux de l'organisation biologique : les communautés, les espèces, le niveau cellulaire et moléculaire. Le premier signe d'un effet anthropique sur les systèmes naturels s'illustre par le changement des espèces ou par les disparitions locales des espèces. C'est la conclusion à laquelle Schindler (1987) a abouti à la suite d'expériences sur les effets de divers polluants dans des écosystèmes lacustres. La structure d'un écosystème est affectée dans son fonctionnement : quelques espèces disparaissent et leur place est occupée par d'autres, à cause, sans doute, de la redondance fonctionnelle qui existe dans les systèmes naturels (Lévêque, 2001). La biodiversité diminue (ou à l'inverse augmente s'il y a invasion d'espèces exotiques). Cette modification de la diversité affecte éventuellement le fonctionnement de l'écosystème. Les espèces

qui répondent négativement au stress sont parfois nommées « espèces sentinelles » en référence aux canaris, transportés dans les mines qui servaient à avertir les travailleurs d'augmentations dangereuses de la concentration en monoxyde de carbone.

L'utilisation d'espèces sentinelles pour la surveillance biologique pose plusieurs problèmes :

– il n'est pas possible d'identifier une espèce qui soit sensible à tous les contaminants. Le choix d'une espèce sentinelle requiert une connaissance approfondie de l'écologie de la faune et de la flore de la région cible, ce qui n'est pas toujours possible dans certaines régions moins bien étudiées, en particulier des pays en développement ;

– il se peut que toutes les espèces sensibles aient déjà disparu du système sans qu'on s'en soit aperçu. Il ne reste plus dans ce cas que des espèces pollutolérantes.

Plusieurs définitions correspondent au terme « bio-indicateur », utilisé dans la littérature consacrée à l'écotoxicologie. Le sens le plus large est celui énoncé par McCarty et Munkittrick (1996) : « *Les bio-indicateurs sont toute variation induite de façon anthropique sur des composantes ou processus biochimiques, physiologiques ou écologiques. Cette variation est corrélée statistiquement ou par une relation de cause à effet semi-quantitative à des effets biologiques sur un ou plusieurs niveaux d'organisation biologique (organisme, population, communauté ou écosystème)* ». Cette définition comprend donc les indices biotiques développés en premier lieu pour déterminer la qualité de l'eau à partir de communautés de poissons (Karr, 1981).

Un sens plus restreint de bio-indicateur, et peut-être celui le plus souvent retenu, est celui d'un organisme spécifique (ou groupe d'organismes), qui répond directement à un polluant ou à un stress anthropique (Whitfield, 2001). La réponse au polluant peut se mesurer chez l'organisme de plusieurs façons : survie, fécondité, déformités, tumeurs, etc. Dans le cas des organismes bio-indicateurs « accumulatifs », il existe une relation simple entre la teneur de la substance polluante dans l'organisme et sa concentration dans l'environnement. Ce type de bio-indicateur prend souvent le nom de « biomoniteur » : il s'agit d'espèces relativement tolérantes au contaminant (Weinstein et Davidson, 2003).

Une relation peut être établie avec d'autres variables biologiques, par exemple des polluants qui ne sont pas assimilés de façon importante mais dont l'exposition exerce un effet nuisible. Généralement, les organismes bio-indicateurs sont typiques d'un milieu naturel. Il faut cependant connaître préalablement l'état dans lequel se trouve le bio-indicateur en l'absence de polluant. La définition de la réponse normale s'établit généralement par l'échantillonnage du bio-indicateur dans des sites de référence non contaminés. Ces sites de référence peuvent être difficiles à identifier mais cette approche est cruciale pour certaines méthodes de surveillance biologique (Reynoldson *et al.*, 1997 ; Handy *et al.*, 2003). Par conséquent, il est parfois nécessaire et indispensable d'utiliser des organismes témoins transplantés sur le terrain. Ces organismes détecteurs sont appelés « bio-indicateurs actifs » par rapport aux « bio-indicateurs passifs » que sont les espèces vivant *in situ* (Spellenberg, 1994).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Ils permettent de contrôler les différents effets du contaminant sur différentes espèces (ou écotypes) et de déterminer un même point de départ ou « un même bruit de fond » pour tous les sites ou périodes d'exposition.

Enfin, les « biomarqueurs » présentent des réponses physiologiques, biochimiques ou génétiques aux contaminants. Ils s'avèrent souvent beaucoup plus sensibles et donnent des réponses plus précises que ceux observés au niveau des populations et des communautés d'espèces. Ils donnent un premier signal de problèmes potentiels et sont considérés comme des outils très prometteurs pour la surveillance biologique (Lagadic *et al.*, 1997 ; Vasseur et Cossu-Leguille ; 2003, Handy *et al.* ; 2003). Un journal périodique récent leur est entièrement consacré (*Biomarkers*).

De façon générale, le choix d'un bio-indicateur, au sens large du terme, que ce soit un biomarqueur, un organisme, ou encore un indice de diversité ou de tolérance, débute avec l'identification du problème environnemental, ses causes (connues ou supposées), et les « valeurs » environnementales à protéger. À partir des recommandations développées pour les lichens par Nimis *et al.* (2002), les critères de sélection suivants sont proposés pour guider ce choix. Un bio-indicateur doit :

– être corrélé avec des changements du polluant en question ;
– être lié de façon non ambiguë à un résultat ou une exposition ;
– intégrer les effets sur un intervalle de temps qui peut être déterminé avec précision ;
– être utilisable pour la surveillance régionale ;
– avoir une variabilité naturelle faible ;
– être relié à la structure et au fonctionnement d'écosystèmes considérés ;
– pouvoir être mesuré avec une erreur d'analyse faible et stable ;
– avoir une base de données « historiques » ou des données permettant le développement d'une banque de données ;
– être moins coûteux qu'un système de surveillance chimique en terme de personnel qualifié et équipement ;
– pouvoir être entreposé et conservé à long terme afin de permettre ainsi la répétition des analyses ou la réalisation de nouvelles analyses (dans le cas de contaminants difficiles à mesurer dans le passé ou nouvellement découverts). Cette conservation a aussi pour but d'établir des normes analytiques et d'harmoniser les résultats entre laboratoires.

Bien qu'il existe beaucoup de bio-indicateurs proposés, peu ont été testés pour tous ces critères. Le lien quantitatif avec l'exposition au polluant est peut-être la caractéristique la plus importante mais souvent la moins bien établie.

2. *Plantes et micro-organismes bio-indicateurs*

Les plantes offrent plusieurs avantages comme bio-indicateurs. La grande diversité des espèces végétales permet un choix judicieux d'une ou de plusieurs espèces

indigènes, typiques de la région ou de l'écosystème en question. Elles doivent être répandues ou abondantes. Au contraire de la plupart des espèces animales, les plantes sont sédentaires et de ce fait reflètent les conditions spécifiques de leurs sites, et ce à plusieurs intervalles de temps. En effet, les plantes n'ont pas un système excrétoire très développé et en plus ont tendance à confiner le contaminant dans un compartiment particulier (Hopkins, 2003). Parmi les avantages des plantes par rapport aux animaux figure le manque de distinction physiologique entre les sexes et leur croissance indéterminée. Par ailleurs, les plantes puisent leurs nutriments de tous les milieux. En conséquence, elles peuvent permettre de déterminer l'origine du polluant, qu'il provienne de l'atmosphère, du sol ou de l'eau. Par exemple, l'absorption ou assimilation du mercure par les racines, s'avère limitée en milieu terrestre, alors que les concentrations mesurées dans les aiguilles ou les feuilles reflètent les concentrations atmosphériques en Hg et sont aussi fonction de la longueur des saisons (Fleck *et al.*, 1999). La capacité de certaines plantes à accumuler ou à détoxiquer directement ou indirectement les polluants par l'intermédiaire des micro-organismes, pousse à les utiliser pour restaurer des sites contaminés, notamment par des pesticides (Arthur *et al.*, 2000 ; Schulz *et al.*, 2003). Enfin, le public est moins perturbé par l'expérimentation sur les plantes que par celle sur les animaux.

Malgré ces multiples avantages, beaucoup moins d'études de surveillance biologique ont été menées sur les plantes que sur les animaux (invertébrés, poissons, oiseaux). Les algues et les lichens sont une exception : les lichens sont depuis longtemps utilisés comme moniteurs de la pollution atmosphérique (Nimis *et al.*, 2002), et les algues comme moniteurs de la pollution aquatique (Whitton et Rott, 1996). Les plantes terrestres, en tant que bio-indicateurs de la pollution atmosphérique, ont fait l'objet de nombreuses études récentes (Skelly, 2003). Mais dans le contexte des pesticides, beaucoup de travail reste à accomplir (Boutin et Rogers, 2000).

2.1. Lichens, champignons et autres micro-organismes

Les lichens ont sans doute l'histoire la plus longue comme indicateur de surveillance biologique et ont été étudiés en détail (Nimis *et al.*, 2002) :

- les espèces sentinelles pour les gaz SO_2 et Nox (oxydes d'azote) ;
- les indices basés sur des groupes d'espèces ou de communautés ;
- les espèces bio-accumulatrices de métaux, d'éléments radioactifs, HAP (hydrocarbures aromatiques polycycliques) et organochlorés dans l'atmosphère.

Les protocoles développés pour les lichens peuvent servir d'exemples pour d'autres surveillances biologiques. Des études comparatives ont été effectuées et il a été constaté (Migaszewski *et al.*, 2002) que les lichens (*Hypogymnia physoides*) semblent bio-accumuler plus de HAP (entre 1 000 et 2 000 $ng.g^{-1}$ de naphtalène ou pyrène) que les bryophytes (*Hyloconium splendens, Hypnum cupressiforme*) ou les aiguilles de pin (*Pinus sylvestris*). La corrélation observée entre la mortalité causée par le cancer du poumon et la biodiversité des lichens dans le nord de l'Italie

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

(Cislaghi et Nimis, 1997) suggère que les lichens peuvent aussi servir de bio-indicateurs pour la santé humaine. Cependant, les impacts des pesticides qui circulent dans l'atmosphère, à l'exception des pesticides organochlorés, n'ont pas été étudiés dans les lichens, ni même leurs effets spécifiques, sur la photosynthèse ou la chlorophylle. Dans certains sites agricoles des Pays-Bas, des études ont été réalisées sur des arbres aux bords des routes pour détecter les effets de l'ammoniac provenant du bétail (Nimis *et al.*, 2002). Il serait également intéressant d'utiliser des lichens transplantés, comme cela se fait déjà dans des endroits où la flore en lichens est appauvrie (Nimis *et al.*, 2002).

Les champignons, à cause de leur intérêt alimentaire, ont aussi fait l'objet de recherches comme biomoniteurs, surtout pour les métaux et les éléments radioactifs. L'étude de Falandysz *et al.* (2002), réalisée avec des champignons forestiers, souligne l'intérêt qu'il y a à examiner une large gamme d'espèces dans la recherche de bio-indicateurs : parmi les treize espèces considérées, seules deux espèces étaient des biomoniteurs pour le mercure dans les sols. Une corrélation positive et significative entre les concentrations de mercure des carpophores de *Suillus luteus* et *Amanita muscaria* et celle des sols a été observée. Toutefois, une espèce présentait une corrélation négative. Par contre, peu d'études semblent avoir examiné la sensibilité des champignons vis-à-vis des pesticides ou même leur capacité de bio-accumulation des pesticides organochlorés.

Il est possible de démontrer en laboratoire des effets négatifs de pesticides sur des micro-organismes des sols et de l'eau. À partir de ces observations, un test toxicologique standard est utilisé depuis au moins une quinzaine d'années ; il est basé sur l'inhibition de la bioluminescence produite par la bactérie, *Photobacterium phosphoreum*. Le test est commercialisé sous le nom de Microtox® (Microbics Corporation, 1994). À cause de sa simplicité et de sa fiabilité, ce test est utilisé pour estimer la toxicité relative des pesticides dans les sols contaminés (Ruiz *et al.*, 1997). De la même manière, le bio-essai d'Ames, qui utilise la bactérie *Salmonella typhimurium* pour évaluer le potentiel mutagénique et cancérigène de substances dans l'environnement, continue à être utilisé (Pérez *et al.*, 2003). Cependant, même dans des expériences contrôlées de terrain, il s'avère très difficile de montrer des effets négatifs des traitements phytosanitaires sur les micro-organismes *in situ*. Cette difficulté est notamment le résultat de la grande diversité microbienne et de la capacité d'adaptation aux composés organiques de synthèse qu'ils dégradent aisément. Ainsi, Ahtiainen *et al.* (2003) ont examiné les effets de plusieurs traitements phytosanitaires (incluant différents herbicides, fongicides et insecticides) sur l'orge dans un sol non traité pendant sept ans. Bien que les effets négatifs de certaines formulations des mêmes pesticides aient été constatés en laboratoire sur deux espèces bactériennes du sol, ils n'ont pas trouvé d'effets négatifs significatifs sur le terrain. Toutefois, les variables dépendantes mesurées étaient parmi les moins sensibles : elles étaient liées au fonctionnement du sol (activités reliées au métabolisme du carbone et de l'azote) plutôt qu'à la structure biologique du sol. Les conditions spécifiques du sol en question (contenu élevé en argile et en matière organique) ont peut-être minimisé la biodisponibilité des pesticides.

Bien des facteurs contribuent à modifier la flore microbienne des sols : la perte de la matière organique, résultat de certaines pratiques agricoles, peut avoir des effets tout aussi négatifs que l'utilisation des pesticides. Par ailleurs, d'autres organismes comme les vers de terre (Booth *et al.*, 2001), les collemboles ou les Coléoptères sont potentiellement, d'un point de vue pratique, de bien meilleurs bio-indicateurs des pesticides dans les sols que les micro-organismes (Goulet, 2003).

2.2. Algues

Les algues associées au périphyton sont couramment utilisées comme biomoniteurs *in situ* pour l'étude de l'état de santé des cours d'eau et des zones humides (Whitton et Rott, 1996 ; Fore, 2003 ; Simonyi-Poirier *et al.*, 2003). Ainsi, une dominance plus forte d'algues vertes filamenteuses est un bio-indicateur d'eutrophisation des cours d'eau de l'est du Canada (Chételat *et al.*, 1999). Les indices basés sur les diatomées, en particulier, ont été développés pour évaluer la qualité de l'eau, en Europe et en Amérique du Nord, mais cette démarche est générale et ne concerne pas spécifiquement les pesticides. Il se peut d'ailleurs que la composition en diatomées dans les milieux agricoles reflète davantage les apports élevés en nutriments pour la fertilisation des sols. Pour Winter et Duthie (2000), ces nutriments, plutôt que les pesticides, seraient responsables des changements observés. Des expériences contrôlées sur le terrain (cours d'eau artificiels ou mésocosmes) sont nécessaires pour développer un indice sensible aux pesticides prédominants. Cependant, il n'est pas certain qu'un indice biotique puisse être vraiment mis en pratique : il faut en effet une grande expérience en taxinomie des algues, ce qui limite leur emploi pour une méthode de surveillance de routine.

Les herbicides ont certainement des effets sur les communautés d'algues *in situ* (Caux et Kent, 1995 ; Schneider *et al.*, 1995 ; Leboulanger *et al.*, 2001). Il est reconnu que la sensibilité des algues et des plantes aquatiques aux pesticides varie considérablement d'une espèce à l'autre (Wang et Freemark, 1995 ; Fairchild *et al.*, 1997). Par exemple, pour l'atrazine, le paramètre CE_{50} $\mu g.L^{-1}$ peut varier de trois ordres de grandeur entre les espèces, allant de 8 à 1 500 (Huggins *et al.*, 1994). Par ailleurs, une espèce d'algue uniformément sensible à tous les herbicides ne peut pas être identifiée. Ainsi, dans les expériences de Leboulanger *et al.* (2001), la composition taxinomique en algues planctoniques était différente pour les traitements d'atrazine et de nicosulfuron. Ce dernier est un herbicide qui va sans doute remplacer l'atrazine dont l'usage est maintenant interdit dans la plupart des pays industrialisés. Ces deux pesticides ont un effet significatif sur la composition des algues à de faibles concentrations (10 $\mu g.L^{-1}$).

Comme pour les bactéries, l'immense diversité des espèces d'algues et leur grande capacité d'adaptation créent des difficultés pour trouver un organisme indicateur témoin pour les pesticides, ou spécifique des herbicides. Cependant, plusieurs études ont montré tout l'intérêt d'utiliser des bio-essais d'algues pour examiner la toxicité des ruissellements en zones agricoles (Caux et Kent, 1995 ; Baun *et al.*, 1998 ; Okamura *et al.*, 2002). Okamura *et al.* (2002) ont combiné des

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

tests classiques normalisés et basés sur l'inhibition de la croissance des algues (*Selenastrum capricornutum*) avec des analyses chimiques des eaux pour identifier, de façon assez convaincante, l'herbicide à l'origine de la toxicité des eaux provenant de champs agricoles aux alentours du lac Biwa au Japon. Les tests avec des algues sont souvent plus sensibles que d'autres tests classiques sur daphnée (*Daphnia*) pour détecter la toxicité des eaux agricoles (Baun *et al.*, 1998), mais la pertinence de ces tests dépend des concentrations d'herbicides employées. Ces études qui combinent les expériences toxicologiques avec des analyses chimiques *in situ*, et développent de surcroît des analyses écologiques pour déterminer les effets au niveau des communautés naturelles, semblent en fait plutôt rares (Anderson *et al.*, 2003).

2.3. Plantes aquatiques

Les plantes aquatiques sont potentiellement d'excellents bio-indicateurs de pesticides, en particulier d'herbicides. Il est bien connu que les macrophytes du milieu aquatique peuvent bio-accumuler les métaux et les composés organochlorés. Les bryophytes, comme *Fontinalis antipyretica* bio-accumulent les métaux dissous dans l'eau et peuvent être utilisées comme biomoniteurs actifs (Ah Peng *et al.*, 2003). Certaines plantes aquatiques semblent être aussi des bio-indicateurs des PCB dans les sédiments (Richard *et al.*, 1997). Dans le fleuve St-Laurent, les concentrations d'organochlorés dans les sédiments varient dans le secteur de Cornwall entre 40 et 4 897 $ng.g^{-1}$ de PCB. Cette variation est le résultat d'anciennes sources de pollution ponctuelles (industries) et elle explique de façon significative la variation en PCB observée dans les plantes. La bioconcentration observée chez ces plantes est indépendante du contenu en lipides (Richard *et al.*, 1997). Toutefois, une normalisation du contenu en PCB en fonction de la concentration en lipides est le plus souvent nécessaire pour permettre des comparaisons de contamination chez les animaux tels que les poissons ou les invertébrés.

La plante aquatique *Lemna* fait partie des tests toxicologiques standards pour lesquels des protocoles sont bien développés (ASTM, 2000 ; ISO, 2001). C'est une plante qui pourrait être utilisée davantage comme biomoniteur actif pour la surveillance des herbicides dans l'environnement. Gardner et Grue (1996) décrivent des tests toxicologiques de terrain avec *Lemna* placée dans des cages expérimentales dans des milieux humides sujets à des épandages d'herbicides Rodeo® (glyphosate) et Garlon® (triclopyr), pour contrôler la plante invasive *Lythrum salicaria*. Seuls les effets de Rodeo® (10 à 100 $\mu g.L^{-1}$ d'eau) sur la croissance de *Lemna* ont été détectés *in situ*. Les animaux témoins (*Daphnia*, *Onchorynchus mykiss*) n'ont pas été affectés dans les mésocosmes traités. Ces résultats ne sont pas surprenants puisque le glyphosate est un herbicide systémique à large spectre. Ce protocole pourrait être utilisé dans un contexte de surveillance.

Comme les herbicides sont parmi les pesticides les plus répandus en Amérique du Nord (USGS, 1999) ainsi qu'en Europe, des tests des eaux de surface avec *Lemna* seraient certainement mieux adaptés que les tests avec des animaux. Cependant,

une comparaison effectuée avec l'algue verte *Selenastrum capricornutum* utilisée couramment dans plusieurs tests de toxicité suggère que la sensibilité de *Lemna* à plusieurs pesticides n'est pas forcément plus grande (Fairchild *et al.*, 1997). *Lemma* appartient aux monocotylées, et elle serait un mauvais bio-indicateur pour les herbicides de type acide phénolique ou benzoïque qui ciblent plutôt les plantes dicotylées. La myriophylle (*Myriophyllum spp.*), appartenant aux dicotylédones, est plus sensible à ces herbicides (Roshon *et al.*, 1999). Les variables les plus fiables (du point de vue statistique, toxicologique ainsi qu'écologique) semblent être la longueur de la tige, le nombre ou la longueur des racines (Hanson *et al.*, 2003).

La principale difficulté d'une surveillance avec les plantes aquatiques comme bio-indicateurs passifs réside en ce que bien des cours d'eau dans les sites agricoles ont perdu cette flore, soit à cause de l'eutrophisation des eaux, soit à cause de changements physiques (canalisation). La concentration des algues en suspension est souvent très elevée dans ces cours d'eau et l'abondance des macrophytes souvent restreinte aux zones de faible courant et de bonne transparence. Des biomoniteurs actifs (*Lemna, Fontinalis, Myriophyllum*) sont peut-être une solution pour une surveillance biologique de ces endroits.

2.4. Plantes terrestres

Les plantes terrestres ont surtout été utilisées comme biomoniteurs de polluants atmosphériques, notamment de l'ozone. Les symptômes foliaires sont la mesure la plus courante d'effets *in situ*. Un exemple intéressant parmi les rares études pour quantifier la relation entre l'exposition à l'ozone et la réponse végétale *in situ* est l'étude de Yuska *et al.* (2003) en Pennsylvanie. Après deux années de mesures sur quinze sites boisés, elle constate que les symptômes foliaires des effets de l'ozone chez le cerisier noir (*Prunus serotina*) sont fonction de la concentration cumulée de l'ozone et de l'humidité du sol. Les études sur les pesticides sont plus rares. Cependant, dans le milieu terrestre, les plantes non-cibles peuvent être affectées par les pesticides, soit directement par l'érosion et le ruissellement provenant de champs agricoles, soit par le dépôt de pesticides atmosphériques locaux ou plus lointains (Boutin et Rogers, 2000).

Une étude réalisée avec des plantes cultivées comme bio-indicateurs actifs d'herbicides (Felsot *et al.*, 1996) souligne que des symptômes foliaires tels que les chloroses, typiquement associées aux expositions à la sulfonylurée, sont observées surtout au printemps et non pendant la période d'application maximale de cet herbicide dans la région. Ce résultat suggère que les effets causés par les herbicides ont parfois une origine plus lointaine qu'un épandage dans les champs avoisinants. La limite de cette étude réside dans l'absence de dosage des concentrations atmosphériques des herbicides, ce qui ne permet pas d'établir un lien quantitatif avec le bio-indicateur végétal.

Par ailleurs, il existe de nombreuses études qui utilisent les aiguilles de pin comme biomoniteurs des concentrations atmosphériques de contaminants orga-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

niques, dont les pesticides organochlorés (Jensen *et al.* ; 1992, Holoubek *et al.*, 2000). Le pin (*Pinus sylvestris*), répandu en Europe et en Amérique du Nord, possède des feuilles persistantes riches en cire qui favorisent la séquestration des organochlorés. Les mousses comme *Hypnum cupresiforme* peuvent aussi bioaccumuler des concentrations plus élevées de polluants mais leur distribution écologique est plus limitée (Holoubek *et al.*, 2000). Un autre avantage des arbres pour la phytosurveillance est leur longévité : un individu de l'espèce *Pinus sylvestris* peut être suivi sur plusieurs années. Cependant, le suivi de pesticides avec le pin en région agricole n'a pas été suffisamment exploré et mérite des études plus spécifiques.

En Amérique du Nord, plusieurs études ont examiné l'effet d'herbicides utilisés en foresterie (glyphosate, triclopyr et hexazinone) sur des espèces indigènes herbacées des bois parce que ces plantes sont récoltées tout particulièrement comme aliment ou phyto-médicament par les communautés autochtones (Segawa *et al.*, 1997 ; Ando *et al.*, 2003). Des résidus de nombreux herbicides ont été retrouvés fréquemment dans les forêts traitées. Parmi ces herbicides, l'hexazinone a la demi-vie la plus longue : 19 semaines. À cause de sa haute solubilité et faible adsorption dans les sols, qui ont pour conséquence une importante mobilité, elle peut avoir des effets négatifs sur les systèmes aquatiques des cours d'eau en forêt (Schneider *et al.*, 1995).

D'autres études sur les résidus de pesticides dans les plantes terrestres ont été réalisées dans le contexte de sources ponctuelles de pollution. Pour la plupart des pesticides examinés par Jiries *et al.* (2002), les facteurs de bioconcentration entre le contenu des sols ou des eaux usées étaient de 1 (ou bien plus) chez certaines plantes indigènes. Seule la dieldrine, présente dans les compartiments abiotiques, ne se retrouvait pas chez les plantes.

De façon générale très peu d'espèces de plantes indigènes terrestres ont été étudiées, même en laboratoire, pour leur sensibilité envers les pesticides, même pour un herbicide très utilisé comme le glyphosate (Blackburn et Boutin, 2003). Mais il est intéressant de noter que dans une étude faite à partir des banques de données toxicologiques disponibles, les plantes cultivées n'étaient pas plus tolérantes que les quelques plantes indigènes testées pour les herbicides (Boutin et Rogers, 2000). Comme il n'y a pas une espèce plus sensible qu'une autre pour tous les contaminants, il s'avérera nécessaire, selon les mélanges de pesticides dans le milieu, d'utiliser une gamme d'espèces de plantes pour la biosurveillance des pesticides.

2.5. Biomarqueurs chez les végétaux

Pour ce qui est des biomarqueurs, on fait le plus souvent référence au monde animal et la plupart des revues de synthèse récentes ne mentionnent pas les plantes (Lagadic *et al.*, 1997 ; Handy *et al.*, 2003 ; Vasseur et Cossu-Leguille, 2003). Parmi les bio-indicateurs de pesticides, les symptômes foliaires anatomiques et physiolo-

giques sont les variables les mieux étudiées. Les études sur les effets génotoxiques des contaminants chez les plantes sont toutefois plus rares (Citterio *et al.*, 2002).

La fluorescence émise en photosynthèse par les plantes aquatiques est très sensible à l'exposition aux herbicides, ainsi qu'à certains autres pesticides (Krugh et Miles, 1996) et aux HAP (Marwood *et al.*, 2003). Le test n'est pas très spécifique mais il offre l'avantage d'être rapide et sensible par rapport aux tests conventionnels d'inhibition de la biomasse et peut se pratiquer *in vivo*. Cependant, davantage d'expériences de terrain sont nécessaires pour déterminer si ce test peut être utilisé en surveillance biologique.

Des biomarqueurs de stress associés avec les mécanismes de défense, notamment les concentrations en antioxydants ou l'induction de protéines spécifiques, sont également étudiés chez les plantes. Une augmentation en glutathion ou des changements en acide ascorbique sont observés chez *Lemna* après une exposition à des fongicides (cuivre et folpel) ainsi qu'à l'herbicide diuron (Teisseire et Vernet, 2000). Une comparaison de ces effets avec les résultats obtenus par fluorescence serait intéressante à effectuer car ce dernier test fluorimétrique est plus rapide à réaliser que les analyses d'antioxydants et ne nécessite pas la récolte de plantes.

3. *Animaux bio-indicateurs*

Bien des études ont été consacrées à l'emploi d'animaux comme bio-indicateurs de contamination des milieux naturels. Comme il a été mentionné précédemment, des programmes de surveillance du milieu marin avec les moules sont les mieux établis et développés dans plusieurs pays. Il ne semble pas exister de programme équivalent centré sur les pesticides dans les systèmes agricoles. Cependant, la surveillance avec les moules est possible dans les eaux douces (Smolders *et al.*, 2002), et la même approche pourrait être mise en place pour le suivi de certains pesticides. Toutefois, le mauvais état écologique de la plupart des cours d'eau en milieu agricole nécessitera sans doute l'utilisation de bio-indicateurs actifs (moules en cages).

L'utilisation de l'abeille (*Apis mellifera*) comme bio-indicateur actif des pesticides, surtout des insecticides, est l'exemple le plus proche (*cf.* chapitre 10). L'importance de cet insecte pour la pollinisation et une connaissance approfondie de sa biologie constituent des raisons de choix pour le retenir comme organisme témoin en écotoxicologie terrestre (Villa *et al.*, 2000). Il est en effet possible de faire le suivi de colonies d'abeilles, dont le territoire est connu, et de déterminer les taux de mortalité associés à des expositions directes ou indirectes par l'ingestion de pollen contenant des pesticides (Porrini *et al.*, 1998 ; Villa *et al.*, 2000). Il est également possible d'examiner la bio-accumulation de certains pesticides dans les tissus de l'abeille pour établir le lien direct avec l'exposition. Le comportement de la colonie est un indicateur encore plus sensible de l'exposition aux pesticides (Thompson, 2003). La biosurveillance utilisant les abeilles se présente comme

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

une voie d'avenir. Il reste cependant à standardiser les protocoles et à établir des réseaux permanents de biosurveillance.

Dans le milieu aquatique où les pesticides aboutissent *in fine*, les animaux ont été examinés de façon détaillée. Les invertébrés des cours d'eau sont considérés comme d'excellents indicateurs de la santé générale d'un système. Mais, comme pour les algues ou les invertébrés, les indices à ce jour ne sont pas nécessairement axés sur les pesticides Des bio-essais *in situ* avec des invertébrés peuvent donner des informations plus spécifiques. Les amphipodes (*Gammarus, Paramelita*) sont assez sensibles aux organophosphates et autres pesticides. Plusieurs protocoles basés sur la survie des amphipodes ou des biomarqueurs physiologiques ont été développés pour le contexte agricole. Les amphipodes ont l'avantage d'être souvent plus sensibles que *Daphnia* et moins affectés que d'autres invertébrés témoins (*Hyalella*) par la turbidité qui est souvent présente dans les cours d'eau en milieu agricole (Schulz, 2003). La bio-accumulation de pesticides peut aussi se mesurer chez les amphipodes utilisés comme biomoniteurs passifs ou actifs (Arts *et al.*, 1996).

L'intérêt suscité par les amphibiens comme bio-indicateurs est dû en partie au déclin de certaines de leurs populations dans le monde (Venturino *et al.*, 2003). Les pesticides seraient une des causes possibles de ce déclin car beaucoup d'espèces y sont sensibles. Le suivi des populations d'amphibiens ainsi que l'étude de malformations ou difformités dans les populations naturelles ou en cages (Harris *et al.*, 2001) pourraient être utilisés dans les sites agricoles. Cependant, ces altérations morphologiques ou celles liées au développement sont des réponses moins spécifiques aux pesticides. Par contre, plusieurs biomarqueurs, comme l'activité de cholinestérases et les concentrations en composés antioxydants, sont assez spécifiques pour les pesticides organophosphates et carbamates (Venturino *et al.*, 2003). Toutefois, comparée avec celle des mammifères et celle des poissons, l'induction des enzymes P450 semble moins importante chez les amphibiens. De façon générale, Adams (2001) considère les acétylcholinestérases comme des biomarqueurs de l'activité agricole. Certaines fonctions hormonales pourraient aussi être des biomarqueurs d'une exposition aux herbicides (atrazine) (Goulet et Hontela, 2003) mais elles n'ont pas été validées sur le terrain.

Les poissons sont peut-être les animaux les mieux étudiés comme biomarqueurs d'exposition à la contamination aquatique. Dans les régions agricoles, aucun poisson ne semble avoir été identifié comme bio-indicateur, mais les petites espèces, plus abondantes et mieux distribuées, seraient un meilleur choix que les poissons de grande taille plus couramment analysés pour les contaminants (Lazorchak *et al.*, 2003). Comme il a été mentionné précédemment (*cf.* 1.), le suivi des contaminants dans les populations de poisson régulièrement pêché (« poisson-gibier ») peut informer sur l'incidence des pesticides dans les milieux et sur les risques pour la santé humaine (MOE, 2003). Ces banques de données pourraient être mieux exploitées pour comparer le degré de contamination des régions agricoles en fonction des apports en pesticides. Une surveillance des cours d'eaux aux États-Unis indique que le rapport œstrogène/testostérone chez les carpes (*Cyprinus carpio*) est relié

à la concentration totale des pesticides dans l'eau (USGS, 1999). De fait, plusieurs pesticides présentent un effet œstrogène (atrazine, lindane, carbofuranes, dieldrine). Ce rapport hormonal peut indiquer des anomalies dans le système endocrinien. Il serait intéressant d'utiliser un indice similaire en Europe car la carpe y est répandue dans les cours d'eau des régions agricoles.

Les oiseaux sont plus difficiles à échantillonner que d'autres organismes, bien qu'ils soient très sensibles à un empoisonnement provoqué par des expositions primaires ou secondaires. On estime que plusieurs millions d'oiseaux meurent chaque année dans le *Corn Belt* américain à la suite d'intoxications par les pesticides (USGS, 1999). L'exposition aux PCB et aux pesticides organochlorés pose particulièrement problème pour les oiseaux rapaces et piscivores qui sont en haut des chaînes trophiques (Donaldson *et al.*, 1999). La santé des populations des grands oiseaux rapaces est considérée comme un indicateur général de l'état de santé des Grands Lacs nord-américains. Par ailleurs, dans un contexte de santé publique, le gibier à plumes (canards, oies) est parfois analysé pour déterminer le niveau des contaminants organochlorés (Mateo *et al.*, 1998). Il existe, depuis quelque temps, d'importants réseaux de surveillance des populations d'oiseaux dans plusieurs pays (Peakall, 2000). Ces réseaux pourraient être davantage impliqués par le recueil des données ou utilisés pour réaliser des analyses et effectuer un suivi toxicologique. L'analyse de données sur les populations d'oiseaux au Royaume-Uni montre qu'on observe depuis les années 70 un déclin significatif des espèces typiques des paysages agricoles par rapport aux espèces de la forêt. Ainsi, le déclin de la perdrix grise est fortement lié, mais de façon indirecte, à l'usage de pesticides (Peakall, 2000).

Conclusion : prescriptions en surveillance biologique et perspectives

Les pesticides sont nécessaires dans le maintien, voire l'augmentation, des rendements agricoles requis pour nourrir la planète (Stephenson, 2003). Il est tout aussi clair que le choix et la gestion de ces pesticides doivent être suivis de près, même si les risques théoriques, ainsi que ceux établis en laboratoire, sont connus et minimisés. Comme il est souvent difficile de prévoir tant les effets écologiques qu'écotoxicologiques, la surveillance biologique du milieu est tout aussi nécessaire que la surveillance chimique. Il est crucial, pour préserver la biodiversité naturelle de la planète, de s'assurer que ces pesticides, directement ou indirectement, ne nuisent pas à la santé humaine. À ce jour, la surveillance des contaminants se fait par voie chimique et très peu de programmes à long terme sont basés sur les bio-indicateurs, tout particulièrement pour les pesticides. De nombreux chercheurs et universitaires travaillent sur les divers effets des pesticides dans l'environnement, mais bien peu s'impliquent dans la biosurveillance. Cependant, il est possible d'utiliser

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

la surveillance biologique comme moyen de prédiction de risques de façon formelle et scientifique (Kapustka *et al.*, 1996).

La surveillance biologique représente bien des défis. Il n'est pas possible de se baser sur un seul type de bio-indicateur pour tous les types de pesticides. En effet, la sensibilité des espèces aux pesticides varie énormément. Et il n'existe pas une espèce plus sensible qu'une autre si l'on considère tous les pesticides. Il est nécessaire de prendre en considération des ensembles de réponses ou des groupes d'organismes compte tenu de la diversité des types de pesticides qui ciblent les plantes, les insectes, ou les organismes pathogènes. Le choix d'un ensemble devrait dépendre du type de pesticide utilisé dans la région à surveiller et des types d'écosystèmes naturels de cette région. La surveillance devrait également se faire au niveau des unités hydrologiques des bassins versants car les pesticides peuvent se retrouver dans les systèmes aquatiques en aval. Actuellement, la surveillance des pesticides, du moins en Amérique du Nord, n'est pas reliée à leur éventail d'utilisation (Sobiech et Henry, 2003). Les herbicides, en particulier, constituent la classe de pesticides la plus importante dans l'environnement et il serait logique d'inclure davantage de plantes comme organismes témoins.

Il reste beaucoup d'études à réaliser sur le terrain pour identifier des bio-indicateurs de pesticides qui puissent être utilisés *in situ*. Néanmoins, plusieurs protocoles sont déjà disponibles (Whitfield, 2001). Ils méritent d'être poursuivis spécifiquement pour la surveillance des pesticides. L'identification des effets spécifiques des pesticides dans les milieux naturels, basée sur l'utilisation combinée de la surveillance chimique et de la surveillance biologique, s'est développée ces dernières années (Adams, 2001). Utilisés comme bio-indicateurs passifs ou actifs, les plantes aquatiques, les aiguilles de pin, certains invertébrés aquatiques et les abeilles peuvent mettre en évidence des aspects de la contamination des milieux naturels (air, eau, sol) par les pesticides.

Dans le souci de pouvoir comparer et évaluer, tant sur un plan national qu'international, la santé des systèmes naturels, l'idéal serait d'avoir quelques biomoniteurs qui seraient aussi communs et standardisés que les indicateurs économiques ou sociaux de la qualité de vie.

Remerciements : je remercie le Dr. Pierre Yves Caux (chef, division de la Coordination des programmes scientifiques, service de la Conservation de l'environnement, Environnement Canada, Canada) pour ses commentaires techniques en tant qu'expert en gestion environnementale des pesticides. Je remercie également le comité d'harmonisation mais en particulier le Pr. Catherine Regnault-Roger (université de Pau et des Pays de l'Adour, France) pour les révisions linguistiques apportées à ce texte.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Références bibliographiques

Adams S.M. (2001). Biomarker/bioindicator response profiles of organisms can help differentiate between sources of anthropogenic stressors in aquatic ecosystems. *Biomarkers*, **6** : 33-44.

Ah-Peng C., de Traunbenberg C.R., Denayer F.O. (2003). Use of a moss culture as bioaccumulator for the biomonitoring of metal contamination in continental waters. *J Phys IV*, **107** : 25-28.

Ahtiainen J.H., Vanhala P., Myllymäki A. (2003). Effects of different plant protection programs on soil microbes. *Ecotox Environ Safe*, **54** : 56-64.

Anderson B., Hunt J.W., Phillips B.M., Nicely P.A., Gilbert K.D., de Vlaming V., Connor V., Richard N., Tjeerdema R.S. (2003). Ecotoxicological impacts of agricultural drain water in the Salinas River, California, USA. *Environ Toxicol Chem*, **22** : 2375-2384.

Ando C., Segawa R., Gana C., Li L., Walters J., Sava R., Barry T., Goh K.S., Lee P., Tran D., White J., Hsu J. (2003). Dissipation and offsite movement of forestry herbicides in plants of importance to native Americans in California National forests. *Bull Environ Contam Toxicol*, **71** : 354-361.

Arthur E.L., Perkovich B.S., Anderson T.A., Coats J.R. (2000). Degradation of an atrazine and metalochlor herbicide mixture in pesticide contaminated soils from two agrochemical dealerships in Iowa. *Water Air Soil Poll*, **119** : 75-90.

Arts M.T., Headley J.V., Peru K.M. (1996). Persistence of herbicide residues in *Gammarus lacustris* (Crustacea: Amphipoda) in prairie wetlands. *Environ Toxicol Chem*, **15** : 481-488.

ASTM (2000). Guide for conducting static toxicity tests with *Lemna gibba* G3. E 1415-91. *In Annual Book of American Society for Testing and Materials Standards*, Vol. 11.05. Philadelphia, PA, 784-793.

ASTM (2002). *Annual Book of American Society for Testing and Materials standards*, West Conshohocken, PA, USA.

Baun A., Bussarawit N., Nyholm N. (1998). Screening of pesticide toxicity in surface water from an agricultural area at Phuket Island (Thailand). *Environ Pollut*, **102** : 185-190.

Beliaff B., O'Connor T.P., Caisse D. (1998). Comparison of chemical concentrations in mussels and oysters from the United States and France. *Environ Monit Assess*, **49** : 87-95.

Biddleman T.F., Walla M.D., Roura R., Carr E., Schmid S. (1993). Organochlorine pesticides in the atmosphere of the Southern Ocean and Antarctica. *Mar Pollut Bull*, **26** : 258-262.

Blackburn L.G., Boutin C. (2003). Subtle effects of herbicide use in the context of genetically modified crops: a case study with glyphosate (Roundup®). *Ecotoxicology*, **12** : 271-285.

Booth L.H., Heppelthwaite V.J., Webster R., O'Halloran K. (2001). Lysosomal neutral red retention time as a biomarker of organophosphate exposure in the earthworm *Aporrectodea caliginosa*: laboratory and semi-field experiments. *Biomarkers*, **6** : 77-82.

Boutin C., Rogers C.A. (2000). Pattern of sensitivity of plant species to various herbicides – an analysis with two data bases. *Ecotoxicology*, **9** : 225-271.

Bowerman W.W., Best D.A., Giesy J.P., Shieldcastle M.C., Meyer M.W., Postupalsky S., Sikarskie J.G. (2003). Associations between regional differences in polychlorinated biphenyls and dichlorodipheynldichloroethylene in blood of nestling bald eagles and reproductive productivity. *Environ Toxicol Chem*, **22** : 371-376.

Castillo L.E., Delacruz E., Rupert C. (1997). Ecotoxicology and pesticides in tropical aquatic ecosystems of Central America. *Environ Toxicol Chem*, **16** : 41-51.

Caux P-Y., Kent R.A. (1995). Towards the development of a site-specific water quality objective for atrazine in the Yamaska River, Quebec, for the protection of aquatic life. *Water Qual Res J Canada*, **30** : 157-178.

Chan C-H., William D.J., Neilson M.A., Harrison B., Archer M.L. (2003). Spatial and temporal trends in the concentrations of selected organochlorine persticides (OCs) and polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs) in Great Lakes Basin, 1986-1999. *J Great Lakes Res*, **29** : 448-460.

Chase M.E., Jones S.H., Hennigar P., Sowles J., Harding G.C.H., Freeman K., Wells P.G., Krahforst C., Coombs K., Crawford R., Pederson J., Taylor D. (2001). Gulfwatch: Monitoring spatial and temporal patterns of trace metal and organic contaminants in the Gulf of Maine (1991-1997) with the blue mussel, *Mytilus edulis*. L. *Mar Pollut Bull*, **42** : 491-505.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Chételat J., Pick F.R., Morin A., Hamilton P.B. (1999). Periphyton biomass and community composition of rivers of different nutrient status. *Can J Fish Aquat Sci*, **56** : 560-569.

Cislaghi C., Nimis P.J. (1997). Lichens, air pollution and lung cancer. *Nature*, **387** : 463-464.

Citterio S., Aina R., Labra M., Ghiani A., Fumagalli P., Sgorbati S., Santagostino A. (2002). Soil genotoxicity assessment: a new strategy based on biomolecular tools and plant bio-indicators. *Environ Sci Techno*, **36** : 2748-2753.

Coats J.R., Yamamoto H. (2003). *Environmental Fate and Effects of Pesticides*. American Chemical Society Symposium Series 853. Washington, D.C.

Donaldson G.M., Schutt J.L., Hunter P. (1999). Organochlorine contamination in bald eagle eggs and nestlings from the Canadian great lakes. *Arch Environ Contam Toxicol*, **36** : 70-80.

Everett K.D.E., Dickerson H.W. (2003). *Ichthyophthirius multifiliis* and *Tetrahymena thermophila* tolerate glyphosate but not a commercial herbicidal formulation. *Bull Environ Contam Toxicol*, **70** : 731-738.

Fairchild J.F., Ruessler D.S., Haverland P.S., Carlson A.R. (1997). Comparative sensitivity of *Selenastrum capricornutum* and *Lemna minor* to sixteen herbicides. *Arch Environ Contam Toxicol*, **33** : 353-357.

Falandysz J., Lipka K., Gucia M., Kawano M., Strumnik K., Kannan K. (2002). Accumulation factors of mercury in mushrooms from Zaborski Landscape Park, Poland. *Environ International*, **28** : 421-427.

Felsot A.S., Bhatti M.A., Mink G.I., Reisenauer G. (1996). Biomonitoring with sentinel plants to assess exposure of nontarget crops to atmospheric deposition of herbicide residues. *Environ Toxicol Chem*, **15** : 452-459.

Fleck J.A., Grigal D.F., Nater E.A. (1999). Mercury uptake by trees: an observational experiment. *Water Air Soil Poll*, **115** : 513-523.

Fore L.S. (2003). Response of diatom assemblages to human disturbance: development and testing of a multimetric index for the Mid-Atlantic region (USA). *In* Simon TP., *Biological response signatures: indicator patterns using aquatic communities*. CRC Press, Boca Raton, Florida, 445-480.

Gardner S.C., Grue C.E. (1996). Effects of Rodeo® and Garlon® 3A on nontarget wetland species in central Washington. *Environ Toxicol Chem*, **15** : 441-451.

Gill H., Wilson L.K., Cheng K.M., Elliot J.E. (2003). An assessment of DDT and other chlorinated compounds and the reproductive success of American robins (*Turdus migratorius*) breeding in fruit orchards. *Ecotoxicology*, **12** : 113-123.

Goulet H. (2003). Biodiversity of ground beetles (Coleoptera: Carabidae) in Canadian agricultureal soils. *Can J Soil Science*, **83** : 259-265.

Goulet B.N., Hontela A. (2003). Toxicity of cadmium, endosulfan and atrazone in adrenal steroidogenic cells of two amphibian species, *Xenopus laevis* and *Rana catesbeiana*. *Environ Toxicol Chem*, **22** : 2106-2113.

Graff L., Isnard P., Cellier P., Bastide J., Cambon J.-P., Narbonne J.-F., Budzinski, Vasseur P. (2003). Toxicity of chemicals to microalgae in river and standard waters. *Environ Toxicol Chem*, **22** : 1368-1379.

Handy R.D., Galloway T.S., Depledge M.H. (2003). A proposal for the use of biomarkers for the assessment of chronic pollution and in regulatory toxicology. *Ecotoxicology*, **12** : 331-343.

Hanson M.L., Sibley P.K., Mabury S.A., Muir D.C.G., Solomon K.R. (2003). Variation, replication and power analysis of *Myriophyllum spp.* microcosm toxicity data. *Environ Toxicol Chem*, **22** : 1318-1329.

Harris M.L., Bishop C.A., McDaniel T.V. (2001). Assessment of rates of deformity in wild frog populations using *in situ* cages: a case study of Leopard Frogs (*Rana pipiens*) in Ontario, Canada. *Biomarkers*, **6** : 52-63.

Hayes T.B., Collins A., Lee M., Mendoza M., Noriega N., Stuart A.A., Vonk A. (2002). Hermaphroditic, demasculinized frogs after exposure to the herbicide atrazine at low ecologically relevant doses. *Proc Natl Acad Sci*, **99** : 5476-5480).

Holoubek I., Kořínke P., Šeda Z., Scheniderová E., Holoubková I., Pacl A., Tříska J., Cudlín P., Čáslavský J. (2000). The use of mosses and pine needles to detect persistent POPs at local and regional scales. *Environ Pollution*, **109** : 283-292.

Hopkins W.G. (2003). *Physiologie végétale*. De Boeck & Larcier, Bruxelles.

Huggins D.G., Johnson M.L., de Noyelles F. Jr (1994). The ecotoxic effects of atrazine on aquatic ecosystems: an assessment of direct and indirect effects using structural equation modeling. *In* Ward C.H., Walton B.T., La Point T.W., *Aquatic Mesocosm Studies in Ecological Risk Assessment*. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, 653-692.

IFEN (2003). *Bilan de la qualité des eaux en France au niveau des pesticides*. Bilan annuel 2002. Institut français de l'environnement.

ISO (2001). Water quality-duckweed growth inhibition: determination of the toxic effect of water constituents and wastewater to duckweed (*Lemna minor*) (ISO/WD 20079).

Jensen S., Ericsson G., Kylin H., Strachan W.M.J. (1992). Atmospheric pollution by persistent organic compounds: monitoring with pine needles. *Chemosphere*, **24** : 229-245.

Jiries A.G., Al Nasir F.M., Beese F. (2002). Pesticide and heavy metal residue in wastewater, soil and plants in wastewater disposal site near Al-Lajoun Valley, Karak, Jordan. *Water Air Soil Poll*, **133** : 970197.

Johnston J. (2001). *Pesticides and Wildlife*. American Chemical Society Symposium Series 771. Washington, D.C.

Kapustka L.A., Williams B.A., Fairbrother A. (1996). Evaluating risk predictions at population and community levels in pesticide registration – hypotheses to be tested. *Environ Toxicol Chem*, **15** : 427-431.

Karr J.R. (1981). Assessment of biotic integrity using fish communities. *Fisheries*, **6** : 21-27.

Karr J.R., Chu E.W. (1999). *Restoring Life in Running Waters. Better Biological Monitoring*. Island Press, Washington, D.C.

Krugh B.W., Miles D. (1996). Monitoring the effects of five nonherbicidal pesticide chemicals on terrestrial plants using chlorophyll fluorescence. *Environ Toxicol Chem*, **15** : 495-500.

Lagadic L., Caquet T., Amiard J.-C., Ramade F. (1997). *Biomarqueurs en écotoxicologie. Aspects fondamentaux*. Masson, Paris.

Lazorchak J.M., McCormick, Henry T.R., Herlihy A.T. (2003). Contamination of fish in streams of the Mid-Atlantic region: an approach to regional indicator selection and wildlife assessment. *Environ Toxicol Chem*, **22** : 545-553.

Leboulanger C., Rimit F., de Lacotte M.H., Berard A. (2001). Effects of atrazine and nicosulfuron on freshwater microalgae. *Environ International*, **26** : 131-135.

Lévêque C. (2001). *Écologie : De l'écosystème à la biosphère*. Dunod, Paris.

Marwood C.A., Bestari K.T.J., Gensemer R.W., Solomon K.R., Greenberg B.M. (2003). Creosote toxicity to photosynthesis and plant growth in aquatic microcosms. *Environ Toxicol Chem*, **22** : 1075-1085.

Mateo R., Gamez A., Guitart F.L. (1998) Organochlorine residues in hunted wild mallards in the Ebro Delta, Spain. *Bull Environ Contam Toxicol*, **60** : 134-141.

McCarty L.S., Munkittrick K.R. (1996). Environmental biomarkers of aquatic toxicology: fiction, fantasy, or functional? *Human and Ecological Risk Assessment*, **2** : 268-274.

Microbics Corporation (1994). *Microtox M500 Manual. A toxicity testing handbook*. Microbics Corporation, Carlsbad, CA, USA.

Migaszewski Z.M., Galuszka A., Paslawski P. (2002). Polynuclear aromatic hydrocarbons, phenols and trace metals in selected soil profiles and plant bionindicatros in the Holy Cross Mountains, South-Central Poland. *Environ International*, **28** : 303-313.

MOE (2003). *Guide de consommation du poisson gibier en Ontario, 2003-2004*. 22e édition. Ministère de l'Environnement de l'Ontario, Queen's Printer for Ontario, Toronto, Canada.

Nimis P.L., Scheidegger C., Wolseley P.A. (2002). *Monitoring with lichens : monitoring lichens*. Klumer Academic Publishers, Dortrecht.

OECD (1993). *Organization for Economic Cooperation and Development guidelines for testing of chemicals*. Paris, France.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Okamura H., Piao M., Aoyama I., Sudo M., Okubo T., Nakamura M. (2002). Algal growth inhibition by river water pollutants in the agricultural area around Lake Biwa, Japan. *Environ Pollution*, **117** : 411-419.

Peakall, D. (2000). Avian data bases and their use in environmental assessment. *Ecotoxicology*, **9** : 239-253.

Pérez S., Reifferscheid G., Eichhorn P., Barcelo D. (2003). Assessment of the mutagenic potency of sewage sludges contaminated with polycylic aromatic hydrocarbons by an Ames fluctuation assay. *Environ Toxicol Chem*, **22** : 2576-2584.

Porrini C., Celli G., Radeghieri P. (1998). Monitoring of pesticides through the use of honeybees as bio-indicators of the Emilia-Romagna coastline (1995-1996). *Annali di Chimica*, **88** : 243-252.

Reynoldson T.B., Norris R.H., Resh V.H., Day K.E., Rosemberg D.M. (1997). The reference condition: a comparison of multimetric and multivariate approaches to assess water-quality impairment using benthic macroinvertebrates. *JN Am Benthol Soc*, **16** : 833-852.

Richard M., Fox M., Pick F.R. (1997). PCB concentrations and congener composition in macrophytes and sediments in the St. Lawrence River near Cornwall, Ontario. *J Great Lakes Res*, **23** : 297-306.

Roshon R.D., McCann J.H., Thompson D.G., Stephenson G.R. (1999). Effects of seven forestry herbicides on *Myriophyllum sibiricum*, as compared with other nontarget aquatic organisms. *Can J Forest Res*, **29** : 1158-1169.

Ruiz M.J., Lopez-Jaramillo L., Redondo M.J., Font G. (1997). Toxicity assessment of pesticides using the Mircrotox test: application to environmental samples. *Bull Environ Contam Toxicol*, **59** : 619-625.

Schindler D.W. (1987). Detecting ecosystem responses to anthropogenic stress. *Can J Fish Aquat Sci*, **44** : 560-569.

Schneider J., Morin A., Pick F.R. (1995). The response of biota in experimental stream channels to a 24-hour exposure to the herbicide Velpar L®. *Environ Toxicol Chem*, **9** : 1607-1613.

Schulz R. (2003). Using a freshwater amphipod in situ bioassay as a sensitive tool to detect pesticide effects in the field. *Environ Toxicol Chem*, **22** : 1172-1176.

Schulz R., Moore M.T., Bennett E.R., Farris J.L., Smith S. Jr., Cooper C.M. (2003). Methyl parathion toxicity in vegetated and nonvegetated wetland mesocosms. *Environ Toxicol Chem*, **22** : 1262-1268.

Segawa R., Bradley A., Lee P., Tran D., Hsu J., White K., Goh S. (1997). Residues of forestry herbicides in plants of importance to California native Americans. *Bull Environ Contam Toxicol*, **71** : 354-361.

Simonyi-Poirier M., Goulet R.R., Pick F.R. (2003). Évaluation de la capacité de rétention des métaux dissous dans un marais artificiel en utilisant le périphyton et le gastéropode *Helisoma trivolis*. *Revue des Sciences de l'Eau*, **16** : 237-254.

Simms W., Jeffies S., Ikonomou M., Ross P.S. (2000). Contaminant-related disruption of vitamin A dynamics in free ranging harbour seal (*Phoca vitulina*) pups from British Columbia. *Environ Toxicol Chem*, **19** : 2844-2849.

Skelly J.M. (2003). Native plants as bioindicators of air pollutants; contributed papers to a symposium held in conjunction with the 34th air pollution workshop. *Environ Pollution*, **125** : 1-2.

Smolders R., Bervoets L., Blust R. (2002). Transplanted zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) as active biomonitors in an effluent-dominated river. *Environ Toxicol Chem*, **21** : 1889-1896.

Sobiech S.A., Henry M.G. (2003). The difficulty in determining the effects of pesticides on aquatic communities. *In* Simon TP., *Biological response signatures: indicator patterns using aquatic communities*. CRC Press, Boca Raton, Florida

Solé M., Porte C., Pastor D., Albaiges J. (1994). Long-term trends of polychlorinated biphenyls and organochlorinated pesticides in mussels form the Western Mediterranean coast. *Chemosphere*, **28** : 897-903.

Spellenberg I.F. (1994). *Monitoring ecological change*. Cambridge University Press.

Stark J.D., Walthall K.W. (2003). Agricultural adjuvants: acute mortality and effects on growth rate of *Daphnia pulex* after chronic exposure. *Environ Toxicol Chem*, **22** : 3056-3061.

Stephenson G.R. (2003). Pesticide use and world food production: risks and benefits. *In* Coats J.R., Yamamoto H., *Environmental Fate and Effects of Pesticides*. American Chemical Society Series 853. Washington, D.C., 261-269.

Teisseire H., Vernet G. (2000). Ascorbate and glutathione contents in duckweed, *Lemna minor* as biomarkers of the stress generated by copper, folpet and diuron. *Biomarkers*, **5** : 263-273.

Thompson H.M. (2003). Behavioural effects of pesticides in bees and their potential for use in risk assessment. *Ecotoxicology*, **12** : 317-330.

USGS (1999). *The Quality of Our Nation's Waters, Nutrients and Pesticides*. United States Geological Survey Circular, 1225.

Vasseur P., Cossu-Leguille C. (2003). Biomarkers and community indices as complementary tools for environmental safety. *Environ International*, **28** : 711-717.

Venturino A., Rosembaum E., Caballero de Castro A., Anguiano O.L., Gauna L., Fonovich de Schroeder T., Pechen de D'Angelo A.M. (2003). Biomarkers of effect in toads and frogs. *Biomarkers*, **8** : 167-186.

Villa S., Vighi M., Finizio A., Serini G.B. (2000). Risk assessment for honeybees from pesticide-exposed pollen. *Ecotoxicology*, **9** : 287-297.

Wang W., Freemark K. (1995). The use of plants for environmental monitoring and assessment. *Ecotoxicol Environ Safe*, **30** : 289-301.

Walker J.D., Jaworska J., Comber M.H.I., Schultz W.T., Dearden J.C. (2003). Guidelines for developing and using quantitative structure-activity relationships. *Environ Toxicol Chem*, **22** : 1653-1665.

Weinstein L.H., Davison A.W. (2003). Native plant species suitable as bio-indicators and biomonitors of airborne fluoride. *Environ Pollution*, **125** : 3-11.

Whitfield J. (2001). Vital signs. *Nature*, **411** : 989-990.

Whitton B.A., Rott E. (1996) (Eds). *Use of Algae for Monitoring Rivers II*. Institut für Botanik, AG Hydrobotanik, Universität Innsbruck.

Winter J.G., Duthie H.C. (2000). Epilithic diatoms as indicators of stream total N and total P concentrations. *JN Am Benthol Soc*, **19** : 32-49.

Yuska D.E., Skelly J.M., Ferdinand J.A., Stevenson R.E., Savage J.E., Mulik J.D., Hines A. (2003). Use of bio-indicators and passive sampling devices to evaluate ambient ozone concentrations in north central Pennsylvania. *Environ Pollution*, **125** : 71-80.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

14

Modélisation et mise en œuvre de modèles dans le cadre du conseil phytosanitaire

Jacques Rouzet, Marc Delos,
Guy Le Hennaf

Les conseils phytosanitaires informent les agriculteurs sur les risques que les maladies et ravageurs font courir à leurs productions. Ces conseils ont été réalisés pendant de nombreuses années uniquement à partir de l'observation des cultures et de leurs bio-agresseurs. Depuis le début des années 90, des modèles de prévision sont utilisés en routine par les services régionaux de la Protection des végétaux français (SRPV) pour la réalisation des Avertissements agricoles®. Des prescripteurs et conseillers du secteur privé sont associés à ce travail, et utilisent ces outils pour réaliser leurs conseils phytosanitaires. L'utilisation en routine de ces modèles de prévision n'a été possible que par la mise en place d'une infrastructure comprenant des réseaux de stations météorologiques, des systèmes de logiciels adaptés, des bases de données, une cellule de maintenance agrométéorologique, avec en parallèle une formation des utilisateurs. Grâce aux modèles, les réseaux d'observations biologiques ont pu être allégés mais ils ont toujours été maintenus.

Dans une première partie, nous allons aborder la problématique du conseil phytosanitaire, avec les aspects politiques et la nécessité de réduire les nuisances. Nous allons nous intéresser ensuite aux différentes méthodes utilisées pour réaliser un conseil et à la place qui revient aux modèles dans ce système de raisonnement. Dans une deuxième partie, nous commencerons par un historique de l'utilisation des modèles puis nous en viendrons aux évolutions concernant les outils, leur complexité et la façon dont ont progressé les concepts. Dans une troisième partie, nous nous intéresserons à la conduite d'un projet de modélisation, les différentes phases de la vie d'un modèle, la définition des objectifs, les techniques de la modélisation mais aussi la validation et la mise en œuvre des modèles. Dans une quatrième partie, nous aborderons tous les aspects pratiques de la mise en œuvre d'une filière agrométéorologique complète, avec les réseaux de stations météorologiques, les

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

logiciels d'exploitation, puis nous parlerons du fonctionnement de quelques modèles au travers de plusieurs exemples. Pour finir, nous envisagerons les perspectives d'avenir concernant le développement de ces outils avec les limites de la méthode et les interrogations que peut susciter l'emploi de ces techniques.

1. Le contexte et les enjeux

1.1. Une politique marquée par la réduction des intrants

Les vingt dernières années sont marquées par une prise de conscience de l'opinion publique sur les questions environnementales et par une remise en cause progressive de nos pratiques de production (Sébillotte, 2002). Des crises récentes, largement médiatisées, ont mis l'accent sur les problèmes liés à l'utilisation des produits phytosanitaires. Sur la période qui couvre les années 90-2000, la France se situait à la troisième place sur le marché mondial des phytosanitaires avec, en moyenne, environ 100 000 tonnes de matières actives épandues par an (*cf.* chapitre 40). Les effets secondaires, non intentionnels, sont maintenant bien connus : pollutions des eaux et des sols, présence de résidus dans les récoltes, induction de nouveaux problèmes comme l'apparition d'individus résistants aux matières actives les plus largement utilisées (*cf.* section 2 de la partie 1).

Les Avertissements agricoles® sont un des outils dont dispose le ministère de l'Agriculture français pour infléchir la pratique phytosanitaire. Les conseils phytosanitaires donnés dans ces bulletins sont basés sur les principes de lutte raisonnée et d'agriculture durable. Le but est de limiter au strict nécessaire l'utilisation des pesticides avec comme premier objectif la sécurité alimentaire dans un esprit de respect de l'environnement, tout en assurant au producteur des récoltes en qualité et quantité. Informer les agriculteurs, réduire le nombre de traitements, surveiller l'état sanitaire des cultures sont les trois finalités de cette approche.

Dans le cadre de l'agriculture raisonnée, les objectifs ont été redéfinis récemment, il s'agit de :

– favoriser la réduction de l'utilisation des produits anti-parasitaires, en particulier ceux qui présentent les caractéristiques les plus défavorables vis-à-vis de la protection des consommateurs, des utilisateurs et de l'environnement ;

– assurer, dans les meilleures conditions, la protection des productions végétales au regard notamment des bonnes pratiques agricoles, des principes de l'agriculture raisonnée, et, en prenant en compte les autres moyens de lutte.

1.2. Les spécificités du conseil phytosanitaire et les apports de la modélisation

La variation de la gravité des dégâts en fonction des situations, du climat de l'année ou des conditions de culture, est un phénomène bien connu de tous les producteurs. L'objectif du conseiller est d'ajuster la protection au niveau de risque.

1.2.1. Le schéma classique de raisonnement et le modèle « biologique »

Dans ce schéma classique, le technicien utilise un ensemble de connaissances et d'informations (cycle, biologie, observations, seuils) pour raisonner les traitements. Appelés dans notre langage « modèle biologique », ces éléments de base constituent le système classique d'évaluation du risque. Toutes ces connaissances ont été acquises dans les 50 dernières années grâce aux recherches de l'INRA (Institut national de la recherche agronomique), des instituts et des SRPV. C'est le « fond de commerce » de tous les conseillers qu'il n'est pas question de remettre en cause ici. En effet, cette méthode a largement fait ses preuves. Un exemple : avant floraison le comptage du nombre de méligèthes (Coléoptères) sur colza est un élément suffisant pour prendre une décision de traitement correcte. Mais il n'en va pas toujours ainsi car cette méthode présente des imperfections. Elle repose surtout sur l'observation des cultures qui n'apporte pas toujours des réponses satisfaisantes à l'ensemble des questions.

1.2.2. Les limites de l'observation

Certaines observations sont lourdes et coûteuses, ou difficiles à réaliser, ou ne nous renseignent que sur une partie du phénomène biologique. Certaines observations demandent des investissements importants : suivi des projections d'ascospores de la tavelure du pommier, élevages d'insectes comme le carpocapse des pommes ou la pyrale du maïs. Elles sont souvent réalisées sur des périodes longues : 30 à 35 ans pour le carpocapse et la tavelure des pommes (SRPV des régions Pays-de-Loire et Midi-Pyrénées). À partir de ces données, il est possible de réaliser des modèles sur la base de sommes de températures pour remplacer ces observations trop coûteuses. Les modèles tavelure (Lagarde,1988) et carpocapse (Touzeau, 1966 et 1978) sont réalisés avec cet objectif. Dans d'autres cas, les observations sont soit difficiles, soit impossibles à réaliser. Dans cette première catégorie figure la recherche des tout premiers foyers de mildiou de la vigne ou, en verger, celle des premières éclosions du carpocapse. Certains événements, comme une contamination, échappent de par leur nature à l'observation. On observe le résultat de la contamination, c'est-à-dire la sortie de taches, symptômes de la maladie. Il en résulte qu'il est souvent trop tard pour intervenir. L'observation des symptômes n'est pas, dans ce cas, un critère utile. En revanche, l'utilisation de données climatiques apporte une réponse satisfaisante. Les modèles définis à partir de la durée de mouillage et de la température moyenne permettent de définir les conditions favorables aux contaminations pour de nombreuses maladies fongiques ou bactériennes et donc d'intervenir au plus près de ces événements.

De la même façon, l'observation de taches ne renseigne pas sur le stade de la maladie en incubation. Or, à certaines époques, pour des maladies comme les rouilles, le piétin-verse, les septorioses ou les mildious, c'est la phase d'incubation qui est la plus importante (maladie latente).

La modélisation permet donc d'obtenir de l'information dans le cas où l'observation, pour différentes raisons, n'est pas suffisamment performante.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1.2.3. Synthèse des informations et aide à la décision

Dans le système classique d'évaluation du risque, le technicien bâtit son raisonnement sur des éléments qui ne sont pas, ou mal, hiérarchisés.

Le « modèle biologique » est un ensemble d'informations qui lui permettent d'analyser une situation. Par exemple, pour une maladie comme une rouille ou un piétin des céréales, il faudra prendre en compte, en plus de l'influence du climat sur le cycle, des éléments culturaux comme les dates de semis, les types de sol, la sensibilité des variétés, l'influence des régulateurs ou de la fumure azotée, l'observation des niveaux de maladie accompagnés des seuils d'intervention (de La Rocque et Lechapt, 1980). Avec une présence de rouille brune du blé sur la feuille F3 au stade deuxième nœud, la décision est immédiate puisque le seuil d'intervention est atteint. Mais c'est souvent beaucoup moins évident. Il peut y avoir un ensemble complexe de maladies, aucune n'atteignant, seule, le seuil d'intervention. Une autre situation est fréquente : une variété très sensible présente de la rouille à un niveau inquiétant, mais deux situations sont à distinguer. Dans un cas, la céréale est bien implantée et offre un fort potentiel de rendement ; dans l'autre, la culture est très claire ou elle pousse sur un sol séchant ou superficiel. Comme on le voit sur ces quelques exemples schématiques, ce système laisse souvent le technicien seul face à des décisions qui ne sont pas toujours faciles à prendre. Les situations réelles sont toujours plus complexes, le nombre de facteurs à apprécier simultanément pouvant être beaucoup plus important. Lorsque ces différents éléments d'appréciation vont à peu près dans le même sens, la décision est facilitée, mais c'est très rarement le cas. Le raisonnement fait ainsi appel à l'intégration d'observations nombreuses et complexes. L'expérience est souvent insuffisante pour intégrer à leur juste place l'ensemble de ces facteurs. Plusieurs systèmes ont été imaginés pour donner au technicien soit une vision plus globale soit un système de raisonnement hiérarchisé.

La première idée, a été de créer des grilles d'évaluation du risque dans lesquelles les différents facteurs sont pondérés par une notation. Le risque piétin-verse a été évalué avec ce système (Delos *et al.*, 1991, 1994 ; Delos, 1995 ; Le Hénaff *et al.*, 1997) sur la base d'une première approche développée à la fin des années 70 par l'ITCF (Institut technique des céréales et fourrages). Chaque facteur important, date de semis, rotation, précédent, façons culturales, climat, reçoit une note ; par exemple le semis tardif : la note est : + 1, un précédent blé : la note est : + 3, etc. et l'on arrive ainsi à une note globale qui permet de caractériser le risque au niveau d'une parcelle. Ce système est loin d'être parfait sur le plan théorique puisque l'on fait la sommation de notes portant sur des facteurs de nature très différente. Mais c'est une première réponse qui amène une amélioration dans l'évaluation du risque.

Une autre idée a été d'ordonner les informations et de les hiérarchiser de façon à proposer un canevas ou un cadre de raisonnement. C'est le système développé par les SRPV pour les maladies des céréales dans les années 80, et dénommé modèle PO.SY.PRE (de La Rocque et Lechapt, 1980), pour potentiel de dégâts (PO), symptômes et observation (SY), prévision et utilisation du climat (PRE). À partir

du potentiel de rendement de la culture, des dates de semis, de l'effet plus ou moins favorisant des précédents, de la sensibilité des variétés, de l'observation des symptômes, on va proposer une démarche de raisonnement au technicien avec différents cas types, et un classement hiérarchisé des facteurs. Sur ce même thème, les Hollandais de l'école de Wageningen, proposent une autre démarche pour un objectif identique. Il s'agit du modèle EPIPRE (Rabbingue *et al.*, 1989) qui est un système qui va calculer un dégât théorique à partir des observations faites sur la culture et des conditions agronomiques comme date de semis, fertilisation, emploi de régulateurs. Un calcul économique permet de prendre une décision en faisant un bilan coût-bénéfice. Comme on peut le voir sur cet exemple, les réponses apportées au problème peuvent être différentes selon les méthodes utilisées. Mais elles essaient toutes de pallier le manque ressenti par le technicien dans la prise de décision, en lui proposant, soit un raisonnement, soit une synthèse des informations.

1.2.4. La prévision des risques

Avec le système classique d'évaluation du risque, le devenir de la maladie ou le dégât éventuel sont difficiles à apprécier. Or, généralement, les interventions sont réalisées par rapport à un développement futur du parasite. Le deuxième objectif a donc été d'améliorer les possibilités de prévision.

L'observation permet d'évaluer une situation sanitaire. Elle est le premier élément des trois questions auxquelles un bulletin d'avertissement donne une réponse et qui constituent l'architecture de tout conseil : « situation sanitaire, prévision, préconisation ». En ce sens, elle est irremplaçable car elle intègre l'ensemble des éléments et des événements passés, climat et conditions de culture. Mais elle ne permet que très rarement de réaliser une prévision de qualité. Par exemple, il est possible, en partant de la succession de certains éléments biologiques, de prévoir les éclosions et les premières pénétrations du carpocapse ou les sorties de pustules de rouille issues de contaminations.

Cette prévision fait appel à un calcul de sommation de températures pour la durée d'éclosion des œufs, ou, à l'utilisation conjointe de températures moyennes et d'une durée d'humectation du feuillage pour une maladie, ce qui permet de prévoir l'état du couple contamination-incubation. À ce moment-là, il faut chercher dans le climat passé, des éléments qui vont permettre une projection dans l'avenir. Pour la plupart des maladies ou des insectes, il est souvent possible de donner une évolution probable à 7, 10 ou 15 jours. Mais exploiter ces informations suppose que l'on puisse contrôler les jeunes larves de carpocapse. Il faut donc disposer de produits larvicides ou, dans le cas d'une maladie, avoir un fongicide qui va bloquer la progression de l'incubation. On voit, à ce niveau, que la méthode de lutte, le mode d'action du produit utilisé et le type de prévision souhaitable, sont des éléments qui sont très étroitement liés.

Prendre de l'avance sur une situation parasitaire, mieux apprécier le devenir d'une épidémie, conditionnent fortement le succès d'une protection. Dans le sens d'une recherche de ces « signes précurseurs », on a essayé d'utiliser les critères

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

climatiques comme des signaux d'alerte qui pourraient améliorer le conseil. En effet, des conditions climatiques particulières, comme un hiver doux pour les rouilles du blé (Coakley et Line, 1981), ou un hiver et un printemps humides pour le mildiou de la vigne (Capus, 1919), sont généralement les signes annonciateurs d'années à forte pression parasitaire. Elles mettent en effet en place un inoculum important ou de bonne qualité, en sortie d'hiver ou au début du débourrement. Aussi, pour ce type de prévision, on ne va pas essayer d'évaluer au mieux un début d'éclosion ou une date de sortie de taches, mais plutôt donner globalement un niveau de risque, une probabilité de gravité. Dans ce contexte, il faut remarquer que l'on ne réalise un système de prévision que si l'observation est insuffisante. Dans le cas du mildiou de la vigne, l'observation des foyers primaires ne permet de lever que partiellement la forte incertitude qui existe en début mai sur le devenir de l'épidémie. Ceci explique le succès obtenu par les règles de Capus (*cf.* 2.) puis par un premier modèle mildiou (Strizyk, 1981), lesquels, chacun à leur manière, vont évaluer le risque mildiou de la vigne en début de campagne.

Dans quelques cas, il est possible d'évaluer intuitivement l'effet du climat sur l'évolution d'une situation, par exemple celle de pluies tombées au cours des tout-derniers jours. Mais le plus souvent, l'intégration de données climatiques sur plus d'une semaine ou sur plusieurs mois tient réellement de la prouesse intellectuelle. Que ce soit pour travailler sur des durées d'incubation, des contaminations ou un indice global caractérisant un risque, un modèle et un ordinateur sont irremplaçables pour ce type de calcul. C'est dans ce domaine de la prévision que l'apport des modèles est le plus novateur que ce soit pour la prévision d'événements (éclosions, sorties de taches) ou la prévision d'un risque plus global.

L'observation des cultures est restée pendant très longtemps la seule source d'information dont disposait le technicien. La modélisation la complète maintenant sur différents points en essayant d'améliorer non seulement la prévision mais aussi le raisonnement et la synthèse de l'information. Un modèle peut aussi remplacer une observation coûteuse ou difficile, mais une situation phytosanitaire ne peut être que la synthèse d'observations de terrain.

2. *Historique de l'utilisation des modèles*

L'utilisation des techniques modernes de modélisation dans le cadre du conseil phytosanitaire est assez récente. Pourtant, la situation actuelle ne peut pas être bien comprise si l'on fait abstraction de l'évolution des concepts et des outils.

2.1. Évolution des outils

Les indices de risque ou règles de décision basés sur le climat sont déjà des modèles. On peut illustrer cette affirmation : la prévision des attaques du mildiou de la vigne dans le Bordelais est basée depuis 1915 sur ce que l'on appelle les règles

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

de Capus qui sont une interprétation globale de la pluviosité hivernale et printanière (Capus, 1919). Un système analogue a été proposé pour définir la date du premier traitement sur le mildiou de la pomme de terre (Beaumont, 1947). Une modélisation plus élaborée commence vers les années 50 avec la définition, à partir du climat, de la notion de contamination pour la tavelure du pommier (Mills et Laplante, 1951). Les sommations thermiques vont permettre de décrire les différents aspects du développement des ravageurs. Le meilleur exemple est le carpocapse des pommes dont les différentes phases de développement sont décrites par des sommes de température en base 10. Ces premiers outils peuvent déjà porter le nom de « modèle » mais ils ne décrivent qu'un événement isolé, séparé de son contexte.

Les premiers modèles modernes datent de la fin des années 60. Les différentes phases de la vie d'un insecte ou d'un champignon vont être intégrées dans un calcul qui décrit successivement, par compartiments, la contamination, l'incubation, la sortie des taches (dans le cas de maladies) ou le vol, la ponte, les éclosions (dans le cas des insectes). On passe alors de la description d'une phase particulière, contaminations ou éclosions, à un calcul qui intègre l'ensemble des phases, donc à des modèles d'une plus grande complexité comme le mildiou de la tomate (Waggoner et Horsfall, 1969).

Très rapidement, les phytopathologistes ont essayé de tirer partie de cette technique. Un premier outil a été proposé par l'INRA pour améliorer les schémas de sélection en vue de créer des variétés de blé d'hiver résistantes à la septoriose : le modèle EPISEPT (Rapilly, 1976 ; Rapilly et Jolivet, 1976). Cet outil va ensuite être utilisé pour essayer de mieux gérer la protection fongicide sur blé. Parallèlement, dans le domaine des ravageurs, un modèle phénologique est proposé pour « caler » les interventions insecticides visant le carpocapse des pommes et l'eudémis de la vigne (Touzeau, 1978).

Vers la fin des années 80, les méthodes se diversifient et les premiers systèmes experts apparaissent (Delothal, 1987). Sur le plan pratique, la mise sur le marché des micro-ordinateurs et des stations automatiques de climatologie permettant de disposer de données météo fiables et peu coûteuses vont faciliter l'accès au calcul. C'est à cette époque que les modèles enregistrent leurs premiers succès. En mildiou de la vigne, il a toujours été très difficile de prévoir, en temps utile, les situations à risque très élevé. Cependant, en 1988, le modèle mildiou de Serge Stryzick prévoit bien des attaques très sérieuses, et recommande très utilement une protection dès le début mai (Stryzick et Dubos, 1988). D'autres succès suivront avec plusieurs modèles qui seront mis au point puis utilisés en routine, pour les maladies des céréales, colza, tournesol, et en arboriculture, au cours des années 90. De la même façon, des modèles sur des ravageurs comme la sésamie du maïs, l'eudémis de la vigne et le carpocapse des pommes permettront d'améliorer les conseils donnés dans des Avertissements agricoles®. À ce titre, pour le carpocapse du pommier, l'apparition des résistances dans le Sud-Est a contraint les arboriculteurs à des protections très soutenues, mettant parfois en œuvre jusqu'à 14-16 traitements par campagne. Seule l'utilisation du modèle, vers le milieu des années 90, a permis de ramener ce nombre d'interventions à un niveau plus raisonnable et d'assurer

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

néanmoins un niveau de protection satisfaisant. Avec le recul, Il est maintenant devenu pratiquement impossible de penser la protection contre le carpocapse ou le mildiou de la vigne en l'absence de modèles de prévision.

Depuis quelques années, on assiste à un foisonnement de modèles, ce secteur montrant ainsi une très grande vitalité. À titre d'exemple, il existe depuis l'an 2000 une diffusion sur internet de résultats de simulations de modèles « fusariose des épis » en temps réel, pour les états céréaliers de la région des Grands Lacs aux États-Unis et au Canada. Des systèmes identiques sont mis à disposition par les services de recherche allemands pour les mouches des cultures légumières. Un site de l'*University of California* (*UC Davis*) répertorie les modèles disponibles pour les principaux couples hôte-parasites : leur nombre dépassait la centaine fin 2003. Nous avons répertorié récemment plus d'une quinzaine d'outils sur le carpocapse des pommes, qui, chacun à sa manière, propose des améliorations du modèle initialement décrit (Touzeau, 1978). En France ce type d'information a d'abord été donné par les services officiels (ACTA : Association de coordination des techniques agricoles, SRPV, INRA et Instituts). Actuellement des firmes, des coopératives, des fabricants de matériel météorologique, des sociétés spécialisées proposent ou utilisent, suivant le cas, ce type d'outils.

2.2. Vers de nouveaux concepts

Les premiers modèles étaient avant tout des outils de recherche permettant de tester des hypothèses, de mieux comprendre le déroulement d'une épidémie. Si quelques succès ont été enregistrés dans les années 80, un certain nombre de problèmes sont apparus. Les premiers modèles sont complexes et font intervenir un grand nombre de paramètres qui ne sont pas toujours très bien hiérarchisés. Si le phénomène épidémique est décrit dans un luxe de détails (Rapilly,1976 ; Waggoner et Horsfall, 1969), certaines parties, jugées annexes, comme la croissance de la plante ont été souvent décrites trop succinctement. Lors des premières validations, l'écart entre la prévision et l'observation est souvent en défaveur des modèles. Il apparaît donc difficile de transposer directement un modèle de recherche en un outil de terrain opérationnel.

Pour contourner ces difficultés, plusieurs solutions sont proposées (Legay, 1987) :

– mieux définir les objectifs, c'est-à-dire la question à laquelle on souhaite apporter une réponse. L'outil doit être conçu « *avec un objectif parfaitement exprimé, on ne résoudra pas mieux un problème avec un grand modèle* » ;

– bien cerner le domaine de validité : « *la principale source d'erreur réside dans l'extension abusive du domaine de validité du modèle* ».

La suite du travail va passer par la création d'outils spécifiques dont l'objectif est centré sur le conseil phytosanitaire. Plusieurs principes généraux seront largement utilisés :

– partir de l'analyse de la méthode de lutte classique et du savoir faire préexistant pour définir l'information utile et bien cibler l'objectif du modèle ;

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

– ne jamais essayer de remplacer une observation biologique simple par un calcul complexe ;

– s'assurer de la complémentarité des approches « modélisation » et « observation » ;

– délivrer des informations claires facilement interprétables et compréhensibles par tous en mettant en valeur les aspects pédagogiques.

C'est pendant cette période des années 80 que la plupart des procédures de travail utilisées aujourd'hui vont être mises au point. C'est aussi à partir des expériences tentées dans d'autres domaines de la biologie (Pavé, 1994 ; Coquillard et Hill, 1996 ; Malézieux *et al.*, 2001) que seront définies nos stratégies de construction et d'utilisation de modèles. Quelques expériences réussies vont être suivies par des outils de plus en plus ambitieux dans lesquels on essaye d'intégrer climat, agronomie, mode d'action des produits, et pourquoi pas calculs économiques comme le font EPIPRE ou EPICURE (Touzeau et Projetti, 1987). Mais parallèlement à ces premiers succès, des doutes vont subsister et même parfois se raffermir. L'opposition entre « biologistes » et « mathématiciens » va se renforcer. Les détracteurs de ce type d'approche mettent en avant la très grande complexité du vivant et des écosystèmes que nous sommes censés décrire. Pour eux, il est quasiment impossible d'approcher la réalité en utilisant des descriptions mathématiques et climatiques de ces phénomènes biologiques. La suite leur donnera en partie raison, car, autant les outils centrés sur des objectifs précis et limités peuvent atteindre leur but, autant les outils plus ambitieux ont été rapidement abandonnés car impossibles à maîtriser.

Il existe aussi le cas d'outils pour lesquels seule une partie de la description est inadéquate. Par exemple, dans le modèle carpocapse, seule la description du début du premier vol pose problème. Aussi, lorsque l'on cale le début du calcul sur une observation (*biofix*), les résultats sont en accord avec l'observation. Le modèle peut alors être utilisé en pratique. Dans ce cas précis, il faudra attendre la fin des années 90 pour qu'une description correcte de la phase hivernale (Martinet *et al.*, 1997) permette de perfectionner le modèle de façon à ne plus utiliser de « calage » sur un réseau de pièges à phéromone (Roubal et Rouzet, 2003).

Un autre aspect du problème a porté sur la question de savoir jusqu'où le technicien devait être assisté dans sa prise de décision. Ce sujet a fait débat au début des années 90, et il est maintenant communément admis que ce sont bien des systèmes d'aide à la décision qui sont proposés au technicien. Il n'est donc pas question de se substituer au technicien dans la prise de décision. L'objectif est plutôt de lui fournir les outils pour qu'il puisse améliorer cette prise de décision. À ce titre un système comme EPIPRE, lorsqu'il donne des ordres de traitement ou de non-intervention, appauvrit le raisonnement technique. Le technicien est alors confronté à un système qui le remplace dans son rôle de prise de décision et lui enlève son statut d'expert. Les outils qui ont été proposés ultérieurement auront, en général, bien retenu cette leçon.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Au final, le travail revient à modéliser un agroécosystème sur des objectifs très pragmatiques et sur la base de deux principes (Malézieux *et al.*, 2001) :

– créer des outils spécifiques : « *l'objectif de gestion durable des agroécosystèmes nécessite l'utilisation d'outils conçus, élaborés et construits explicitement pour l'aide à la décision des acteurs* » ;

– intégrer les attentes et les besoins des différents acteurs : « *acteurs-utilisateurs, objets et contextes d'utilisation forment un système complexe qui doit être caractérisé précisément pour définir le type d'outil à construire* ».

3. *Les techniques de modélisation*

Les écologues et les premiers modélisateurs ont donné chacun leurs définitions de ce qu'est un « modèle ». Nous retiendrons la définition proposée par Pavé : « *un modèle est une représentation symbolique de certains aspects d'un objet ou d'un phénomène du monde réel* » (Pavé, 1994).

Comme l'explique cet auteur un système symbolique est un ensemble de symboles de base que l'on peut associer avec des règles propres à ce système.

On peut utiliser des modèles mathématiques basés sur la formulation ou des modèles informatiques basés sur des tests de logique, des systèmes experts et le langage informatique. En pratique, la formulation mathématique est la plus employée dans les deux grands types de modèles décrits ci-après :

– les modèles globaux (ou holistes) sont des modèles dans lesquels le système épidémique est jugé comme trop complexe pour être décrit dans le détail. On s'intéresse uniquement aux flux d'entrée et de sortie (climatologie et niveau de maladie). Ces modèles sont faciles et rapides à mettre en œuvre ; leur mise au point fait appel aux méthodes statistiques classiques. Mais, ils présentent de graves inconvénients. En cas d'écarts entre la prévision et la réalité, il n'est pas possible de procéder à un ajustement ou d'amener des correctifs. Il faut repartir sur un nouveau jeu de données et recommencer le travail. Cette situation est reconduite si les conditions de culture changent et le modèle doit alors être complètement refondu. Par exemple, les conditions de culture des céréales évoluent vers une utilisation de variétés multi-résistantes et de semis plus tardifs. Pour ce qui est de la compréhension des phénomènes et sur le plan pédagogique l'apport de ce type de modèle n'est pas toujours très convaincant puisque nous avons affaire à un système de boîte noire. Pour toutes ces raisons, ce type de modèle est limité à certaines utilisations. C'est le cas du modèle tavelure (Lagarde, 1988) pour le calcul de la maturation des ascospores dans lequel des données expérimentales sont mises en relation avec des données climatiques par ce système de boîte noire ;

– les modèles analytiques ou à compartiments sont plus riches et plus complexes que l'approche précédente. Ils sont aussi plus difficiles à mettre en œuvre. Ce sont des modèles dans lesquels chaque compartiment décrit une phase du développement du parasite. Par exemple, une maladie fongique : on « découpe » la vie du champi-

gnon en différents éléments (phases de contamination, incubation, sortie des taches, sporulation) qui, pris un à un, sont décrits. Ce type d'approche est très classique. Il a été utilisé pour la première fois en économétrie. Il porte aussi le nom de modèle systémique par analogie à l'analyse des systèmes. On peut trouver chez plusieurs auteurs (Rabbingue *et al.*, 1989 ; Pavé, 1994 ; Coquillard et Hill, 1996) une analyse très détaillée des différentes formes que peuvent prendre ces modèles. La plupart des modèles de recherche sont réalisés sur des schémas de ce type. En ce qui nous concerne, des descriptions trop fouillées ou trop complexes nous ont parfois conduits à des impasses, des simplifications étant souvent nécessaires pour aboutir à des modèles utilisables en pratique.

En résumé, ces deux approches correspondent à des stratégies différentes : le premier est un système guidé par les données, le second par les concepts ou les structures (Pavé, 1994). Souvent, ces deux approches se complètent, un compartiment d'un modèle analytique pouvant être décrit par un système de boîte noire. On peut en conclure qu'il n'y a pas, à proprement parler, de techniques de modélisation spécifiques à la protection des plantes (Legay, 1987). En effet, on utilise les techniques générales développées en écologie. Toutefois, cette affirmation doit être tempérée car les modèles « EPI » sont réalisés sur des concepts et sur des méthodes propres à ce domaine ;

– les modèles « EPI » de Serge Strizyk sont bâtis sur des concepts d'écologie théorique tout à fait originaux (Strizyk, 1981). Les indices « d'état potentiel infection » ou « EPI » quantifient, sur des notions abstraites, les conditions favorables ou non subies par le parasite. Il s'agit d'abord de déterminer les quelques facteurs essentiels permettant de décrire la maladie. Le système est analysé globalement par des méthodes mathématiques appropriées et décomposé en unités élémentaires. Les connaissances en biologie permettent de décrire chacun de ces éléments. Les dégâts occasionnés à la plante sont le résultat des perturbations subies par le système climat-plante-parasite. Pour cet auteur, le parasite est en équilibre avec son environnement, notamment avec le climat passé. Il ne s'agit pas de décrire le développement du parasite mais ses fluctuations par rapport à un état moyen correspondant à cet état d'équilibre. C'est ce que cet auteur appelle « l'énergie du parasite ».

4. *La conduite de projets de modélisation*

Notre expérience dans le domaine nous permet de dégager les grands traits de la méthode de travail suivie, ainsi que son bilan.

4.1. Les différentes étapes de la vie d'un modèle

Sur les différents thèmes que nous avons étudiés, depuis 15 ans, le plan de travail adopté s'est articulé autour des points suivants :

– définition des objectifs et recherche de références : il faut définir précisément l'objet du travail, avoir la connaissance des modèles théoriques, des modèles de recherche, réaliser la bibliographie, contacter les experts, et réunir les historiques ;

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

– conception de l'outil : c'est le choix des méthodes, la construction d'un premier modèle, l'étude de ses faiblesses et améliorations, et le choix du logiciel de travail ;

– validation du logiciel : au niveau technique et fonctionnel, incluant de nouvelles propositions ou demandes, règles de décision, et réalisation d'un logiciel d'exploitation ;

– utilisation de ce logiciel pour la veille et l'exploitation. Cette dernière partie ne doit jamais être oubliée. En effet, le modèle doit évoluer, s'améliorer. Il faut repérer les dysfonctionnements en surveillant en permanence ses performances.

Une organisation légère sous la forme de groupe de travail avec un comité de pilotage et d'évaluation nous a permis de mener des projets qui pour certains se sont déroulés sur cinq à six ans.

4.2. L'avant-projet et les objectifs

Avant d'aborder un thème, nous nous sommes toujours attachés à faire un bilan des connaissances sur le sujet en prenant les contacts avec les chercheurs spécialistes du thème lorsqu'ils existent. Mais il s'agit surtout de définir les questions auxquelles nous souhaitons apporter une réponse, en analysant le cadre dans lequel travaille le technicien futur utilisateur. Notre objectif est toujours la création d'un outil de terrain intégrant les savoir-faire préexistants. Le modèle ne doit pas concurrencer l'observation mais la compléter. Il permet d'alléger les observations et de les rendre plus performantes en précisant des périodes où des évolutions peuvent être attendues. Avant le lancement d'un projet, nous essayons toujours d'identifier précisément les besoins du technicien pour améliorer le conseil. La collaboration du technicien utilisateur ne se limite pas à une validation, mais aussi à un retour d'expérience, puisque c'est sa demande qui définit l'objectif initial du travail.

Ainsi, il est possible de réaliser une première classification des modèles par rapport aux objectifs fixés :

– le modèle phénologique : il s'agit de prévoir un événement ou une date cible correspondant à un stade de développement d'un ravageur ou à une phase atteinte par un pathogène sans se référer à l'importance ni à un niveau de population. On peut prendre comme exemple la prévision du stade début d'éclosion pour le carpocapse des pommes ou l'eudémis de la vigne, le début ou la fin des projections pour les ascospores de tavelure du pommier. Ces modèles sont surtout intéressants lorsque le seuil de tolérance est proche de zéro, et c'est donc l'arrivée d'un stade du parasite qui déclenche le traitement. Ce sont les modèles les plus simples à réaliser ;

– les modèles indicateurs de risque : ils permettent de simuler l'évolution théorique du risque, par exemple, un pathogène par rapport à une culture. L'indice de risque peut prendre différentes formes, qu'il soit mesuré sous forme de symptômes (maladie visible), ou en incubation, ou sous une expression purement abstraite (Strizyk, 1981) comme c'est le cas dans les modèles « EPI » (état potentiel infection). Le développement de la plante est généralement modélisé. Ces outils font appel à un niveau d'inoculum de départ. Ils sont surtout utiles pour les maladies,

lorsque les durées d'incubation sont longues (septorioses et piétin-verse du blé), pour les maladies à foyer (mildiou de la vigne, rouille jaune), ou les maladies polycycliques à évolution rapide (rouille brune du blé). Généralement basés sur le climat, ils n'intègrent pas ou peu de variables agronomiques. Ils sont plus difficiles à mettre au point que les modèles précédents mais cette technique est maintenant assez bien rodée ;

– les systèmes intégrateurs : ce sont les outils d'aide à la décision. Ils correspondent à des systèmes qui intègrent non seulement les approches classiques climat-plante-parasite mais aussi les variables agronomiques ou l'approche économique. Ils peuvent prendre plusieurs formes. Le plus ancien est le système néerlandais EPIPRE qui intègre des observations, des variables agronomiques et un calcul économique. Au final, en sortie du modèle, l'utilisateur a une information qui peut prendre la forme d'un avis de traitement (date, produit, dose), de non-traitement, ou d'une demande d'information complémentaire (nouvelle observation à prévoir à telle date). Il existe des systèmes d'aide au raisonnement. Par exemple, le modèle piétin-verse du blé TOP est basé sur un modèle climatique de type indicateur de risque, complété par une grille de risque pour l'approche agronomique, et un module « action du fongicide ». Les modules climatiques et agronomiques permettent de définir le risque et donc la nécessité ou non de traiter ; le module fongicide donne la meilleure date de traitement en fonction de la matière active utilisée. Il est possible aussi d'avoir des outils où plusieurs modèles indicateurs de risque sont intégrés dans un système d'aide au raisonnement plus général comme PO.SY.PRE. Il existe plusieurs variantes de ces outils en fonction des différents éléments qu'ils intègrent (épidémiologie, plante, agronomie, mode d'action des produits, calcul économique) et du degré de latitude qu'ils laissent au technicien pour bâtir son raisonnement. Ce sont les outils qui sont les plus difficiles à mettre au point.

4.3. Le travail du concepteur

Quel que soit le type de modèle utilisé, la démarche d'ensemble reste identique puisqu'il s'agit de réaliser une première ébauche et de la confronter à la réalité (figure 1).

Par approches successives, l'outil va être amélioré jusqu'à ce qu'il corresponde à l'attente. Plusieurs techniques peuvent être utilisées dans cette phase : biologiques, épidémiologiques, mathématiques, informatiques, climatologiques. C'est ce qui fait toute la difficulté de ce travail puisque le concepteur doit faire une synthèse en empruntant des informations et des techniques correspondant à plusieurs disciplines. Il est souvent inutile de « peaufiner » un compartiment du modèle ou une approche conceptuelle si, parallèlement, des parties importantes du phénomène restent dans l'ombre ou sont trop mal décrites.

Plusieurs débats ont eu lieu notamment sur la pertinence des choix réalisés par le concepteur. En premier lieu, il faut bien remarquer que ces choix dépendent des objectifs. Sur les septorioses du blé, le modèle EPISEPT, ciblé sur la problé-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

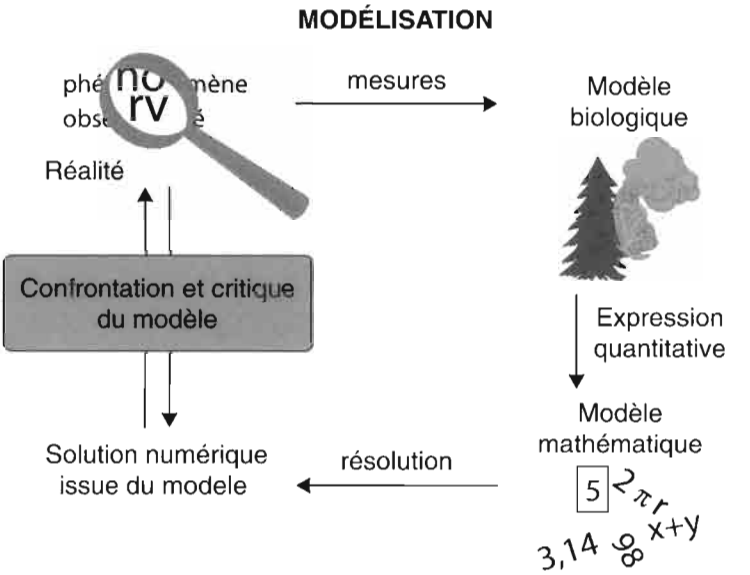


Figure 1 ■ La conception d'un modèle, les différentes étapes et un aller-retour entre les observations et les simulations.

matique de la sélection de variétés résistantes, n'est pas construit comme le modèle PRESEPT dont l'objectif est de réduire les interventions fongicides les moins rentables. Mais quels que soient les éléments retenus, le système décrit par le modèle n'est pas le système réel ; ce n'est qu'une représentation idéalisée de ce système réel (Legay, 1987). Il ne s'agit donc que d'une approximation plus ou moins réussie de la réalité et réalisée dans un but bien déterminé. Dans la représentation qu'il a du système réel, le concepteur va retenir les éléments et les mécanismes qui lui semblent les plus pertinents.

À partir de ce constat, le débat peut être poursuivi sur les notions de fiabilité et complexité. Lorsqu'un modèle ne donne pas satisfaction, on peut essayer de l'améliorer en rentrant de nouvelles variables, c'est-à-dire en augmentant sa complexité. À l'usage, on s'aperçoit que ce qui fait la fiabilité d'un modèle, ce n'est surtout pas sa complexité, mais la pertinence des choix qui sont effectués par rapport à l'objectif final. En fait, plus un modèle va être complexe, plus il sera difficile à maîtriser et à stabiliser.

Un autre couple de notions voisines est celle de la robustesse et de la précision. En pratique, la robustesse est la qualité d'un modèle qui ne délivre pas d'informations pouvant amener à des erreurs d'interprétation graves. La précision est plutôt la qualité d'un modèle qui arrive à discriminer des situations relativement proches. Lorsque l'on réalise un modèle, on s'aperçoit qu'il y a un équilibre à trouver entre ces deux notions. Si l'on augmente trop la précision, c'est au détriment de la robustesse ; c'est-à-dire que, dans un nombre de cas, certes limité, le modèle peut donner des informations erronées qui peuvent être préjudiciables.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Pour donner un exemple sur un modèle comme PRESEPT nous avons introduit des variables décrivant le gradient maladie par « *effet splashing* ». Ce terme anglo-saxon décrit la pollution d'organes verts par les spores d'un champignon. C'est un phénomène de rejaillissement et de dispersion sous l'effet de choc et de transport par des gouttes de pluie. Cet effet est bien réel et décrit par de nombreux auteurs. Mais, introduit dans un modèle, il devient difficile à maîtriser car, s'il améliore globalement les performances du modèle, il provoque, dans 15 à 20 % des cas, des sous-estimations graves. Les divergences entre les résultats issus du modèle et la réalité sont le plus souvent porteuses d'informations. Un premier réflexe consiste souvent à rejeter les observations trop éloignées des simulations. C'est une erreur car c'est de l'intégration de ces divergences que des améliorations vont être apportées au modèle.

À la fin de cette phase de construction, le concepteur aura pris soin de vérifier la cohérence interne du logiciel, en éliminant les erreurs de programmation puis de calibrer le modèle par un premier jeu de données (Coquillard et Hill, 1996). Le comportement du modèle et du logiciel doit également être examiné dans des conditions les plus larges possibles, sans toutefois pousser jusqu'à des conditions extrêmes. Là, il est nécessaire d'utiliser des historiques portant sur l'évolution du parasite. Sur les maladies des céréales, le mildiou de la vigne ou les attaques du carpocapse des pommes, nous avons utilisé des séries d'observation portant sur 15, 20 et parfois jusqu'à 35 ans. Malheureusement, l'obtention de séries aussi diversifiées n'est pas toujours possible.

À partir de ces différentes expériences, nous avons retenu quelques principes de base :

– bien définir les objectifs, poser la ou les questions auxquelles on souhaite apporter une réponse. Plus le domaine à modéliser sera large plus le travail sera difficile ;

– décrire le système en allant à l'essentiel c'est-à-dire en essayant de respecter le principe de parcimonie. Il faut réduire la description aux seules entités qui sont indispensables ;

– privilégier dans nos outils la robustesse par rapport à la précision. Un modèle utilisé en pratique ne doit pas provoquer, même de façon minime, des erreurs d'interprétation graves.

Cette phase n'intéresse qu'un nombre limité d'agents, le ou les concepteurs qui vont par approche créer un outil, le confronter à la réalité au travers des historiques, évaluer les faiblesses, et rentrer dans un cycle évaluation-amélioration jusqu'à ce que l'outil réponde aux attentes en terme de performances. Une première validation conceptuelle est souvent réalisée à la fin de ce stade du travail.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

4.4. Le rôle de l'utilisateur du modèle

4.4.1. La validation par le futur utilisateur

La validation porte sur deux aspects : technique et fonctionnel. L'aspect technique permet de définir le domaine d'utilisation, les limites du modèle, les règles d'interprétation. Il peut être qualitatif ou quantitatif. L'aspect fonctionnel concerne la façon dont les informations sont mises à la disposition du technicien, la présentation et l'enchaînement des écrans, graphiques ou tableaux.

L'expérience a montré que cette phase était certainement la plus délicate et, dans tous les cas, la plus difficile à mener. C'est souvent la bonne conduite de cette partie qui va conditionner la réussite globale du projet. En effet, il faut que l'outil corresponde à l'attente du technicien en terme de performances techniques et de fonctionnalités. Un échange et une bonne écoute doivent donc s'instaurer entre les concepteurs, les « validateurs » et les informaticiens. Le nombre de personnes impliquées devient rapidement important. Il est alors nécessaire de bien planifier le travail en introduisant un maximum de rigueur dans les protocoles d'évaluation. Les agents réalisant la validation, en tant que futurs utilisateurs, deviennent, à ce stade, l'élément moteur.

Sur le plan des principes, il ne faut pas chercher à valider un modèle mais plutôt à en trouver les limites et le cadre de validité dans un esprit constructif. En effet, tous les outils proposés ont actuellement leurs limites qui doivent être bien connues de l'utilisateur. Pour l'utilisation des modèles, le technicien reste, pour les modélisateurs, le seul expert capable de faire la synthèse et l'interprétation. Au final, c'est grâce à la connaissance qu'il a du milieu, qu'il va donner le conseil le plus pertinent. Les tentatives faites, il y a 10 ans, pour réduire le conseil phytosanitaire à un calcul économique ont toutes montré leurs limites. En conséquence, il est bien évident que toute tentative d'intégration des différents compartiments devra tenir compte et prendre les avis de cet utilisateur final. Actuellement, cette expertise de l'utilisateur est essentielle pour appréhender le poids des facteurs environnementaux qui modifieront la prise en compte des résultats du modèle.

La validation est pour le technicien, futur utilisateur, une phase d'apprentissage. Il doit au final s'approprier l'outil et le prendre à son propre compte. Cette appropriation devrait aussi bien se faire dans ses aspects positifs que dans les risques d'erreurs notamment au niveau de l'interprétation. Les nouveaux venus, utilisateurs de modèles anciens déjà validés, ne perçoivent pas toujours les outils de la même façon que les techniciens qui ont participé à la mise au point de l'outil. En fait, Il semble nécessaire que chaque nouvel utilisateur passe par sa propre phase de validation et d'apprentissage de l'outil.

4.4.2. Utilisation du modèle et rôle du technicien

Le modèle est donc un outil mis à la disposition du technicien. Il va lui permettre soit d'accéder à des informations qu'il n'aurait pas pu avoir par l'observation, soit

de l'épauler en lui donnant un cadre de raisonnement. En pratique, le technicien sait correctement traiter le cas moyen, qu'il se définisse par rapport au climat ou par rapport à des conditions de culture. Mais, une des questions à laquelle il est fréquemment confronté est de savoir en quoi l'année en cours diffère de l'année moyenne, ou plus généralement, en quoi le cas qu'il a à traiter diffère de la situation moyenne. À ce niveau la modélisation va lui apporter plusieurs types d'informations. Elle peut :

– situer globalement le risque de l'année en cours par rapport aux années passées. Il s'agit à ce niveau de classer les années entre elles. L'information obtenue permet de situer l'année dans un groupe d'années à risque : important, modéré ou faible ;

– étudier la diversité des climats régionaux pour situer l'effet de la diversité des climats affectant une région sur l'évolution parasitaire de l'année en cours. L'outil idéal pour suivre cette diversité est la cartographie obtenue grâce à des logiciels spécialisés. Les informations issues de la cartographie sont particulièrement utiles, si des variations importantes de climat existent au sein d'une région. Elles permettent alors de développer, au niveau du conseil des Avertissements agricoles®, une segmentation spatiale ;

– étudier l'impact de la diversité des pratiques culturales. Il s'agit à ce niveau de situer l'effet de la diversité des pratiques culturales sur l'évolution parasitaire, au sein de la petite région agricole, une année donnée. C'est essentiellement l'effet de la date de semis qui peut être appréhendé dans ce cadre. Par exemple, le modèle piétin-verse TOP permet de faire des simulations avec des combinaisons de rotations et de types de sols. Ici, le conseil s'appuiera sur une segmentation définie par des critères agronomiques (variétés, date de semis, précédents) ;

– définir des périodes à haut risque, préciser des dates de traitement : il s'agit de simuler la progression de l'épidémie pour une période donnée, de définir un début de vol ou un début de ponte pour un ravageur comme le carpocapse. Cette approche permet de mieux préciser des périodes de début et de fin de risque, ainsi que les plages de traitement.

Tout ce travail de simulation doit être confronté en permanence aux données des réseaux d'observation. Il est inconcevable d'utiliser un modèle sans observations précises sur la situation sanitaire. Le travail du technicien consiste à interpréter des informations (observations, simulations) de nature variée mais complémentaires. Il faut également, en permanence, surveiller le bon comportement des modèles en comparant, en temps réel, l'information donnée par le modèle à des observations réalisées sur le terrain.

S'il n'est pas concevable de réaliser une situation sanitaire à partir de modèles, les simulations apportent des informations que l'on peut difficilement obtenir autrement. Pour une maladie ce sera la date de contamination, la part entre les symptômes visibles et les taches en incubation. Pour un insecte, il s'agira du début des pontes, ou des périodes à haut risque.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

En pratique, pour parvenir à une recommandation, le schéma de travail est le suivant :

– en premier lieu, description d'une situation sanitaire à partir d'observations de terrain ;

– ensuite, utilisation du modèle pour situer globalement l'année en cours par rapport à un historique, différencier des zones géographiques, préciser l'influence d'un facteur agronomique (semis plus précoces pour une année particulière), définir des périodes de risque ou des événements importants (contaminations, début de vol) ;

– puis réalisation de la synthèse et confrontation des informations dans des schémas de raisonnement ;

– pour finir, rédaction du message et recommandations : préconiser ou non le traitement, choisir les produits.

Les informations issues de la modélisation ne sont donc qu'un élément de plus, quelquefois déterminant, et intégré dans un ensemble qui permet de faire des recommandations.

5. *Les limites de la méthode : quelques éléments d'ordre pratique*

La plupart des modèles qui se réfèrent au système « climat-plante-parasite ». sont développés actuellement dans le cadre du conseil phytosanitaire et mesurent surtout l'effet du climat sur le développement des bio-agresseurs. Pour les ravageurs, cette information est surtout de nature qualitative puisqu'il s'agit de préciser des périodes de risque, par exemple le début ou la fin des éclosions. En revanche, pour les maladies, des informations de nature quantitative sont plutôt recherchées : le nombre de contaminations, la durée d'incubation et surtout l'intensité de l'attaque.

Dans ce cadre, une évaluation quantitative pose la question de : comment intégrer variables agronomiques et climatiques dans un modèle ? En effet, ces deux grandes « masses » de variables interviennent de manière très différente au niveau de l'épidémie.

En schématisant, dans la description des variables agronomiques nous avons deux pôles, la sensibilité de la culture et le niveau d'inoculum initial. Pour décrire la sensibilité de la culture il faut connaître la sensibilité propre à la variété, son évolution en fonction des différents stades de développement de la culture, évaluer aussi l'influence des conditions du milieu comme la fumure. Il ne faut pas oublier également que la sensibilité d'une variété peut évoluer dans le temps.

L'évaluation de l'inoculum initial est encore plus malaisée. Les modèles butent surtout sur le paramétrage de l'inoculum initial de la parcelle. À ce niveau, il faut envisager deux cas de figure :

– l'inoculum est endogène à la parcelle cultivée. C'est le cas par exemple du piétin-verse du blé, du mildiou de la vigne, et de la plupart des adventices. Une évaluation de la pression parasitaire initiale, n'a été réalisée que pour quelques

maladies comme le piétin-verse du blé (Delos, 1995 ; Le Hénaff *et al.*, 1997). Il faut alors intégrer les différents éléments de l'historique de la parcelle, rotations, travail du sol, et connaître ou évaluer la pression parasitaire passée ;

– l'inoculum est essentiellement exogène à la parcelle. Certaines maladies peuvent se déplacer sur de très grandes distances. C'est le cas de la plupart des rouilles et des oïdiums. Mais, dans d'autres cas, cet inoculum initial bien qu'extérieur à la parcelle, va provenir de l'environnement immédiat. Par exemple, pour des champignons à ascospores comme les tavelures des arbres fruitiers ou le phomopsis du tournesol, ces déplacements sont de l'ordre de quelques centaines de mètres. Dans ce cas, une « *mutualisation* » plus ou moins large entre parcelles ne permet plus une évaluation *a priori* du niveau d'inoculum initial. La variabilité des cas et des situations est donc beaucoup trop importante pour être décrite avec une grande précision.

Sur le plan des méthodes, la description de l'effet du climat fait appel à du calcul numérique, celle des variables agronomiques à des procédés complètement différents, classifications hiérarchiques, arborescences, grilles à notation pondérée. Même si les modélisateurs avaient tous les éléments pour décrire les variables agronomiques, ils auraient quand même des difficultés pour marier harmonieusement ces deux approches. Ceci explique que pour un même couple hôte-parasite, on soit amené à proposer un outil décrivant la potentialité climatique et un autre outil permettant d'évaluer le risque agronomique.

L'utilisateur de modèles doit donc être parfaitement conscient des limites de ces méthodes. Certains techniciens avaient émis le souhait d'avoir des systèmes intégrant tous les paramètres climatiques et culturaux. Cet objectif n'est pas actuellement à notre portée. Les modélisateurs peuvent proposer différents outils permettant d'améliorer les possibilités de prévision et de synthèse des informations. Mais en dernier ressort c'est toujours la capacité d'expertise du technicien et la bonne connaissance qu'il a de sa petite région agricole qui lui permettent de tirer le meilleur parti de ces outils.

6. *Utilisation de modèles : la filière agrométéorologique des SRPV*

L'utilisation de modèles, en routine, demande d'abord une formation des utilisateurs à la manipulation des logiciels et à l'interprétation des résultats des simulations. Mais il faut au préalable mettre en place toute une infrastructure comprenant un réseau de stations automatiques et son système de maintenance et de surveillance, des logiciels généraux d'interrogation, de stockage de données, de cartographie, et des logiciels d'application pour chaque modèle (Choisnel et Vautravers, 1987). Ce système peut prendre différentes architectures en fonction de la zone à couvrir, et des objectifs des organisations qui vont y participer. Nous allons limiter cette présentation au système mis en place depuis 1992 par les SRPV.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

6.1. Des problèmes de logistique

Pour mettre en œuvre des modèles, il faut des données météorologiques fiables et des logiciels adaptés.

6.1.1. Réseau de stations automatiques

Le réseau climatologique du SRPV comprend environ 200 stations automatiques réparties sur l'ensemble des zones agricoles. Les plus anciennes ont environ 10 ans ; ce sont des stations à quatre capteurs : température, hygrométrie, humectation et pluviométrie, à interrogation automatique par voie téléphonique. La télémaintenance de ce réseau est assurée par une cellule spécialisée qui assure les dépannages, les étalonnages des sondes d'humidité, les validations, les corrections et la mise en archive des données. Cette organisation fournit des données climatiques tout à fait fiables, et en temps réel. Les sondes qui posent le plus de problème sont les capteurs d'hygrométrie et d'humectation (Hubert, 1987). Mais le système de télésurveillance permet de corriger rapidement les dérives.

Le réseau SRPV achète également des données à Météo-France et il existe aussi des conventions d'échanges avec des structures régionales : CIRAME pour le Sud-Est, DEMETER pour l'Aquitaine, MAGISTER pour la Champagne. Des protocoles et des formats de fichiers standardisés permettent d'échanger ces données.

6.1.2. Les logiciels

Pour utiliser des modèles en routine il faut mettre en place toute une chaîne logicielle. Chaque partie de cet ensemble a une fonctionnalité bien définie. Par exemple, la chaîne logicielle utilisée par les DRAF/SRPV comprend :

– un logiciel de gestion des données climatiques. Il assure l'interrogation des stations et le stockage des données. Il permet également la validation et la correction de ces données. Plusieurs fonctionnalités annexes permettent aussi de gérer le parc de stations, d'enregistrer les capteurs avec leurs caractéristiques : âge et date de remplacement. (logiciel LISEDAME de la chaîne SRPV) ;

– les différentes applications destinées à faire « tourner » chaque modèle. Pour chaque couple hôte-parasite il existe un programme de calcul correspondant à un logiciel portant un numéro de version, par exemple pour le piétin-verse du blé : TOP99 v1.3 ; la septoriose du blé : PRESEPT99 v1.2. Ces moteurs de calculs donnent en sortie un fichier des données calculées.

– le paramétrage et la mise en forme sont assurés par un logiciel commun à l'ensemble des applications. C'est une base de données qui gère et stocke les caractéristiques agronomiques et les stades phénologiques pour chaque culture. Le logiciel comprend aussi des interfaces graphiques, un éditeur de fichiers, et un logiciel de cartographie. (logiciel MELCHIOR de la chaîne SRPV).

Le déploiement des premiers logiciels a commencé il y a plus de 15 ans. Récemment cet ensemble a été refondu de façon à améliorer son homogénéité sur le plan

des langages de programmation et systèmes d'exploitation utilisés. Une mise à disposition sur internet est à l'étude.

6.2. Modèles mis en œuvre par les SRPV

6.2.1. Thèmes étudiés et organisation

En 2004, nous avions étudié 30 thèmes (tableaux 1, 2 et 3), avec 11 couples hôtes-parasites en grandes cultures, 6 en cultures légumières, 5 en viticulture et 8 en arboriculture. Ils se répartissent en maladies, champignons et bactéries (19 thèmes) et ravageurs (11 thèmes). Pour certaines maladies, plusieurs outils peuvent s'appliquer. C'est le cas, par exemple, du mildiou de la pomme de terre pour lequel nous avons deux modèles épidémiologiques (MILSOL et GUNTZ-DIVOUX) et un système expert (MILPV) qui peuvent être utilisés.

Environ 30 agents ont fait vivre depuis le début des années 80 la modélisation en tant que concepteurs de modèles ou responsables de projets. Au niveau des validations, le nombre d'agents concernés était d'un à deux par région retenue pour ce travail, dans généralement quatre à cinq régions. Qu'ils soient concepteurs ou qu'ils assurent la validation des outils, les agents concernés sont toujours des techniciens réalisant les conseils phytosanitaires dans le cadre des Avertissements agricoles®. Une organisation légère sous forme de groupes de travail et de comités de pilotage permet de coordonner l'ensemble.

6.2.2. Quelques exemples de modèles

Sur le blé d'hiver, les SRPV ont mis en place toute une batterie de modèles qui couvrent les maladies les plus importantes : le piétin-verse, les rouilles brune et jaune et les septorioses. Ces modèles ont été réalisés avec le concours de l'INRA. Le modèle septoriose est une réécriture du modèle EPISEPT (Rapilly,1976), la rouille jaune une compilation de différents travaux (de Vallavieille-Pope, 2000).

6.2.2.1. Le modèle septoriose du blé : PRESEPT®

Ce modèle (logiciel PRESEPT®) permet de simuler en fonction du climat de l'année l'évolution théorique de la septoriose, une maladie du feuillage (Rouzet et Murer, 1988). L'objectif est de donner au conseiller phytosanitaire une mesure du risque en fonction du climat sur une maladie dont la durée d'incubation est longue. Le but est de retarder le plus longtemps possible la première intervention de façon à limiter le nombre de traitements.

Le modèle se compose de trois parties (figure 2) :

– le module plante : il simule l'évolution de la plante, gère les différents étages foliaires, leur apparition et leur sénescence. Il est alimenté par des fichiers climatiques et par des observations phénologiques. Ce système est basé sur l'utilisation de sommes de températures en base 10 °C et du phyllotherme ;

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau I ■ Arboriculture et viticulture, liste des thèmes et des modèles utilisés en routine ou étudiés dans les SRPV (services régionaux de Protection des végétaux).

Thème	État	Auteur	Remarques
Arboriculture			
Cydia pomonella carpocapse des pommes	E/A	Touzeau, 1978 Martinet *et al.*, 1997 Roubal et Rouzet, 2003	Décrit vol, ponte et éclosions.
Cydia funebrana carpocapse des prunes	E/A	Lafargue (*)	Décrit vol, ponte et éclosions.
Cydia molesta tordeuse orientale du pêcher	E/V	Touzeau, 1978 Payen (*)	Décrit vol, ponte et éclosions.
Dacus oleae mouche de l'olive	E	Régis, 2000	Décrit vol, ponte et éclosions
Frankliniella occidentalis thrips californien	V/R	Rouzet (*)	Utilisé pour rechercher les facteurs limitant.
Venturia inaequalis tavelure du pommier	E/V	Lagarde, 1988	Décrit maturation projection, contamination
Erwinia amylovora feu bactérien	E/ST	Billing, 1992 Larue (*)	Utilisé en surveillance, pas de produit homologué en France.
Viticulture			
Plasmopara viticola mildiou de la vigne	E/A	Magnien *et al.*, 1991	MILVIT et MILSTOP, décrit les contaminations primaires et secondaires
Uncinula necator oïdium	V/A	Chellimi Marois, 1991 Rouzet *et al.*, 1998	SOV, modèle climatique
Lobesia botrana eudémis de la vigne	E	Touzeau, 1978 Speich et Jacquin 1997 Le Gatt et Speich, 1992	EVA : décrit vol, ponte et éclosions
Eupoecilia ambiguella cochylis de la vigne	E/ V	Magnien (*)	Vol, ponte, éclosion

Légende : E : modèle en exploitation de routine ; V : modèles en validation ; A : utilisé pour les Avertissements agricoles® ; R : modèles de recherche ; ST : utilisés en surveillance du territoire ; (*) travaux non publiés.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau 2 ■ Grandes cultures, liste des thèmes et des modèles utilisés en routine ou étudiés dans les SRPV (services régionaux de Protection des végétaux).

Thème	État	Auteur	Remarques
Puccinia recondita sp. recondita rouille brune du blé	E/A	de La Rocque, 1991	Modèle SPIROUIL, contaminations, indice de risque, date d'intervention.
Pseudocercosporella herpotrichoides (Fron) piétin-verse du blé	E	Delos, 1995 Le Hénaff *et al.*, 1997	Modèle climatique TOP complété par grille de risque agronomique.
Mycosphaerella graminicola Schöter septoriose du blé	E	Rapilly, 1976 Rouzet et Murer, 1994 Troup et Fotre-Muller, 1997	PRESEPT, modèle climatique, contaminations indice de risque, date d'intervention.
Puccinia striiformis f. *sp. tritici* rouille jaune du blé	E/V	Rouzet, 1994 de Vallavieille-Pope *et al.*, 2000	YELLO, modèle de potentialité climatique.
Fusarium spp. fusariose des épis	C	Faure, Rouzet (*)	Modèles US, Ontario et Argentin, travail en cours.
Pyrenophora graminea *Rhynchosporium secalis* maladies des orges	C/V	Barrault (*) Rouzet (*)	HELMINTOP, helminthosporiose et rynchosporiose.
Diaporthe helianthi phomopsis du tournesol	E	Delos, 1997 Moinard, 1997	ASPHODEL : projection, contamination, module fongicide. Validé en toutes régions.
Sclerotinia sclerotiorum sclérotiniose du colza	E	Souliac, 1988 Huguet, Jacquin (*)	Modèle global et à compartiment.
Ostrinia nubilalis pyrale du maïs	E/A	Lechapt, Jacquin (*) Weissenberger (*)	Modèle univoltin, étude en cours pour modèle polyvoltin.
Sesamia nonagroïdes sésamie du maïs	E	Le Gatt cité par Guéry *et al.*, 1999	Vol, pontes et éclosions, validé pour Grand Sud Ouest.
Diabrotica spp chrysomèles du maïs	R/ST	Rouzet, Reynaud (*)	À l'étude, 4 modèles phénologiques USA.

Légende : E : modèle en exploitation de routine ; V : modèles en validation ; A : utilisé pour les Avertissements agricoles® ; R : modèles de recherche ; ST : utilisés en surveillance du territoire ; (*) travaux non publiés.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau 3 ■ Cultures légumières et grandes cultures, liste des thèmes et des modèles utilisés en routine ou étudiés dans les SRPV (services régionaux de Protection des végétaux).

Thème	État	Auteur	Remarques
Peronospora destructor mildiou oignon	E	Monnet *et al.*, 2002	Décrit contaminations, incubation, sortie taches.
Phytophthora infestans mildiou pomme de terre	E/A	Guntz, 1959 Lechapt (*) Duvauchelle *et al.*, 1991	Modèles Milsol, Guntz système expert MILPV.
Pseudoperonospora cubensis mildiou melon	E/V	Rouzet (*) Mercy et Dours (*)	Décrit contamination, incubation, indice de risque.
Septoria apiicola septoriose du céleri	E	Paitier (*)	Table de contamination et incubation.
Psila rosae, *Delia antiqua*, *Delia radicum* mouche du chou, carotte, oignon	V	Szilvazy, Jacquin (*)	Modèle allemand SWAT.
Thrips tabaci thrips du poireau	E/V	Szilvazy (*)	Modèle de somme de température, calcul du nombre de générations.

Légende : E : modèle en exploitation de routine ; V : modèles en validation ; A : utilisé pour les Avertissements agricoles® ; R : modèles de recherche ; ST : utilisés en surveillance du territoire ; (*) travaux non publiés.

– le module maladie estime les surfaces infectieuses, en incubation et tachées. Les contaminations primaires et secondaires sont calculées à partir des températures et des pluviométries journalières. L'incubation est une fonction de la température moyenne journalière. La formation des surfaces infectieuses dépend pour beaucoup de l'état de sénescence des feuilles, ce qui souligne l'intérêt d'un module plante. Le calcul des surfaces tachées fait intervenir la surface infectieuse, la gravité de la contamination, ainsi que la surface verte. La croissance des surfaces infectieuses et en incubation est décrite par des relations non linéaires qui font intervenir surface malade et surface verte. Les septorioses sont des maladies polycycliques mais, contrairement aux rouilles, la surface infectieuse est surtout contrôlée par la sénescence des feuilles basses ;

– les indices de risque : les données issues du moteur de calcul « épidémique » sont difficilement exploitables. Il a donc fallu les mettre en forme de façon à ce qu'elles correspondent à l'attente de l'utilisateur. Cette phase n'a été terminée qu'au cours de la validation avec l'aide des techniciens, futurs utilisateurs. En sortie, on détient plusieurs écrans qui ont l'avantage de privilégier les aspects visuels et péda-

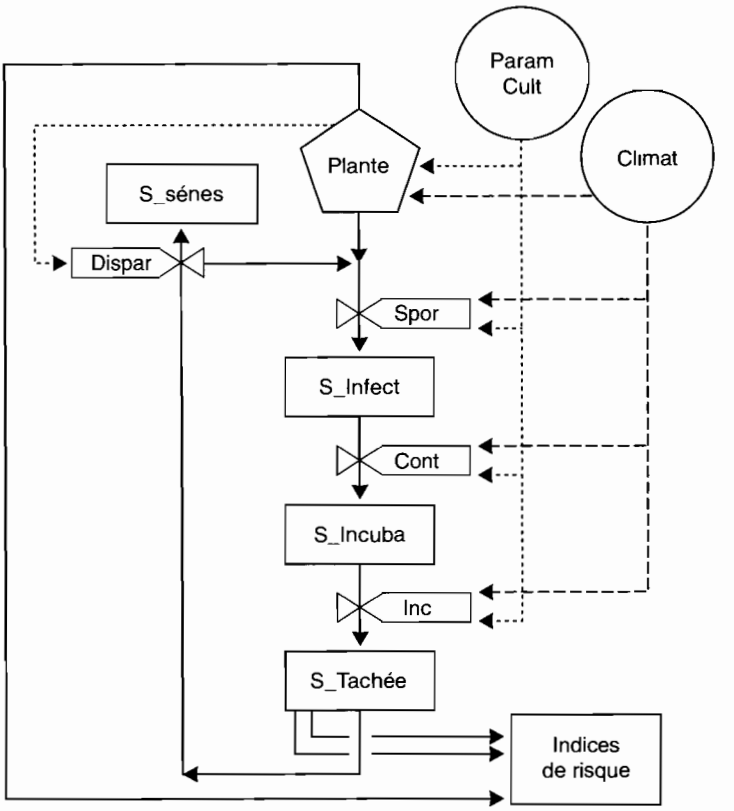


Figure 2 ■ Organigramme du modèle PRESEPT avec les variables d'état.
Légende : S_Sénes, S_Infect, S_Incuba et S_Tachée : surfaces sénescentes, infectieuses, en incubation ou maladie visible. Les équations de transfert Spor, Cont, Inc, Dispar calculent la sporulation. la contamination, l'incubation et la sénescence. En entrée, le modèle plante calcule les surfaces vertes.

gogiques. Deux courbes donnent l'évolution du risque sur feuilles hautes et basses (les septorioses sont des maladies à gradient). D'autres indicateurs sont utilisés, l'état des contaminations qui peuvent correspondre à de la maladie visible ou invisible (en incubation), des indices donnant les niveaux de symptômes par étages foliaires, ainsi qu'une réglette de risque qui donne une synthèse sous forme de quatre classes de risque, de faible à très important.

Dans sa formulation, le modèle utilise des équations issues des recherches de l'INRA, et décrivant les différentes phases de la maladie (Rapilly, 1976). Mais, pour bien décrire la partie utile de l'épidémie, il faut d'abord cerner les phases les plus importantes. L'expérience des techniciens de terrain et l'analyse d'un grand nombre de données ont fait ressortir les facteurs les plus influents, comme la date de semis, le précédent cultural, la sensibilité de la variété. Une autre question était de savoir quelles étaient les époques les plus importantes. Une analyse de l'épidémie sur 200 essais fongicides répartis sur 15 ans, a montré que c'était surtout la période

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

comprise entre le stade deuxième nœud et l'épiaison qui était la plus corrélée avec les dégâts au travers du nombre de jours de pluie.

Mais le modèle phytosanitaire ne peut pas se résumer à un modèle épidémiologique. En effet, pour arriver à un conseil, il faut connaître la nuisibilité de la maladie. Il y a donc tout un travail d'expérimentation (Rouzet et Murer,1994 ; Troup et Fotre-Muller, 1997) qui permet de définir des seuils de tolérance et de traitement. Implantée uniquement sur la F3 (troisième feuille comptée à partir de l'épi), cette maladie ne provoque que des pertes négligeables. Les dégâts sont en proportion linéaire avec la surface détruite sur la feuille F2. Cette proportionnalité n'existe pas avec la F1 qui présente une superficie atteinte accrue. Ces observations expliquent l'existence d'indices « feuilles hautes » (celles qu'il faut protéger) et feuilles basses (celles sur lesquelles on peut tolérer un certain niveau de maladie). Sur un réseau de parcelles, les observations réalisées sur feuilles basses vont servir à compléter et à contrôler les informations données par le modèle. En effet, l'utilisation du modèle ne dispense pas de réaliser des observations, bien au contraire. L'ensemble des simulations et observations permet d'améliorer fortement la fiabilité du conseil.

6.2.2.2. Le modèle piétin-verse du blé : TOP®

Les hivers doux et humides sont favorables à l'installation de cette maladie. Ils doivent généralement être suivis par des printemps humides pour provoquer des épidémies sérieuses. Les pailles de blé, provenant des cultures précédentes, portent des lésions qui sporulent en automne et hiver. Ces spores vont contaminer la jeune culture. Sur piétin, les traitements doivent surtout être réalisés les années favorables à la maladie sur les semis les plus précoces effectués dans des champs ayant hébergé des cultures « à paille » l'année précédente ou avec une rotation courte (une culture de blé tous les deux ans). L'observation des symptômes est recommandée mais elle est malaisée en raison de risques de confusions ou de délais d'incubation longs : elle demande une très bonne technicité. Malgré cela, elle n'apporte pas toujours une information d'une qualité suffisante.

Pour lutter efficacement contre la maladie, il faut :

– définir des typologies de parcelles sur lesquelles les traitements sont fortement recommandés ou au contraire pourront être évités. En pratique on va donner des couples : dates de semis/précédents culturaux (par exemple risque très élevé pour des cultures levées le 15 octobre, venant après un blé) ;

– prévoir la meilleure date d'intervention, en fonction de la matière active utilisée.

Le piétin a longtemps été considéré comme une maladie monocyclique, c'est-à-dire avec un seul cycle par an, et en conséquence avec une grande importance de l'inoculum primaire et de la période allant de la levée jusqu'au mois de février. Avec des semis plus précoces, un tallage plus marqué, les deuxième, souvent troisième et parfois quatrième cycles prennent une importance accrue (Delos *et al.*, 1994 ; Delos, 1995).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Le modèle TOP (logiciel TOP®) répond à ces préoccupations. Il se compose de plusieurs parties et prend en compte :

– la sporulation et la contamination. Une relation donne, en fonction de la pluviométrie et d'une fourchette de température, l'aptitude des pailles à produire des spores, ainsi que l'importance du stock de spores entre deux contaminations. Ensuite une deuxième équation donne, toujours en fonction de la pluie et de la température, les possibilités de contaminations ;

– l'incubation et les cycles. Deux variantes de piétin coexistent, des souches lentes et des souches à incubation rapide. Un calcul de somme de températures débute à chaque contamination, il permet de savoir quand une nouvelle génération commence ;

– l'indice de risque. Il est calculé à partir du nombre de contaminations et du nombre de générations. Entre une génération et la suivante, on applique un coefficient de multiplication différent. Ce coefficient de multiplication est fonction des caractéristiques agronomiques de la parcelle, du type de sol, des précédents culturaux et du travail du sol.

Ce modèle simule une épidémie à partir du climat. L'évaluation du risque parcellaire est réalisée à partir de grilles de risque (Delos *et al.*, 1991, 1994 ; Delos, 1995 ; Le Hénaff *et al.*, 1997) dans lesquelles chaque facteur agronomique reçoit une note pondérée en fonction des aspects plus ou moins favorables qu'il peut avoir sur l'épidémie. Les précédents, façons culturales et types de sol, déterminent le potentiel infectieux de la parcelle. Les sols bien drainés et les variétés tolérantes sont pris en compte comme facteurs réduisant la dynamique de l'épidémie. L'effet de la date de semis intervient en permettant un nombre de générations d'autant plus important que le semis est précoce.

Une nouvelle étape a été franchie à propos de cette maladie avec la mise en place d'un module « efficacité des fongicides ». Le spectre d'efficacité de différentes matières actives a été caractérisé grâce à des expérimentations menées de 1987 à 1993. Le profil d'efficacité de deux matières actives, le prochloraze, à mode d'action plutôt préventif, et le cyprodinil, à spectre d'action curatif, est décrit, et leur action est intégrée au modèle.

Le module mis en place permet de définir les meilleures dates de traitement en fonction des caractéristiques du produit (figure 3) et de la climatologie de l'année. En effet, le champignon aura, au moment du traitement, une durée de développement soit importante, soit beaucoup plus faible, en fonction du positionnement des contaminations, plutôt précoces (en automne) ou au contraire tardives. Les dates de traitement et le type de produit utilisé s'en trouvent affectés. Ce module va permettre également de caractériser à partir d'expérimentation toute nouvelle matière active.

Sur un exemple (tableau 4), on constate que l'efficacité est maximale sur les contaminations provoquées par les premières et secondes générations qui sont les plus dommageables pour la culture. En effet, et c'est le rôle du technicien que d'interpréter ces résultats, les contaminations tardives postérieures au 15 avril n'occasionnent que de faibles dégâts sur la culture car le champignon n'atteindra pas un développement suffisant pour nécroser les tiges de blé.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

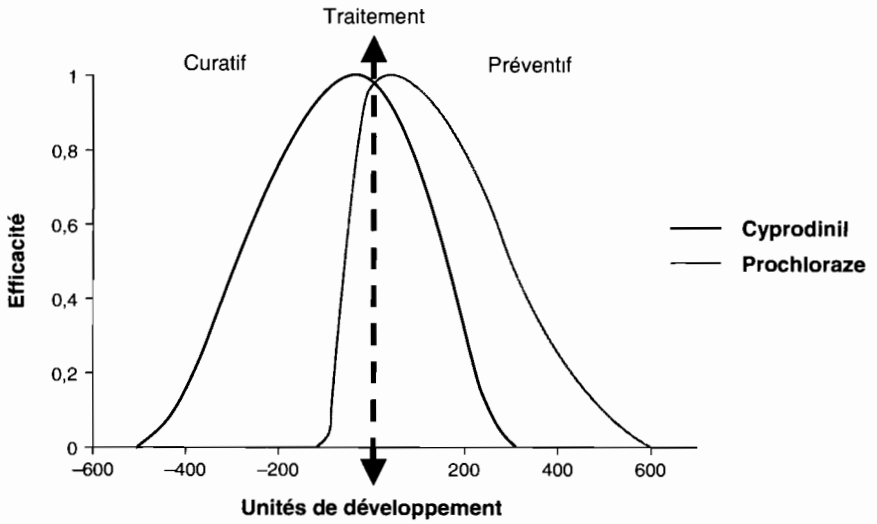


Figure 3 ■ Caractérisation du mode d'action de deux matières actives sur piétin-verse, en fonction des unités de développement des contaminations au moment du traitement.

Tableau 4 ■ Positionnement d'une intervention avec le cyprodinil sur le piétin verse du blé en Franche-Comté.

	Génération	Unité de développement	Poids contamination	
			sans traitement	avec traitement
14 nov.	1	–600	3,15	3,15
22 nov.	1	–550	3,15	3,15
2 déc.	1	–500	3,15	3,15
24 déc.	1	–420	3,15	3,1
1er janv.	1	–400	3,15	3
9 janv.	1	–350	3,15	2,8
23 janv.	1	–320	3,15	2,2
12 févr.	2	–200	7,87	3
25 févr.	2	–150	7,88	1,4
26 mars	2	20	7,87	0,1
1er mai	3	400	9,69	9,69

Les unités de développement sont données par rapport à la date du traitement (le 22 mars). Unité de développement en degrés-jour, poids des contaminations en unités arbitraires.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

6.2.2.3. Les modèles du mildiou de la pomme de terre : SAD, MILSOL, Guntz et MILPV

Pour cette maladie, il existe un ensemble d'outils qui sont complémentaires et rassemblés dans un système d'aide à la décision (SAD) :

– une prévision des cycles (Guntz, 1959) qui donne les dates des contaminations et dénombre les différentes générations qui vont se succéder sur la culture ;

– un modèle mathématique, MILSOL (Lechapt cité par Duvauchelle *et al.*, 1991) qui définit d'une façon plus fine les caractéristiques de l'épidémie ;

– un système expert, MILPV, qui permet de gérer les traitements. C'est un modèle d'aide à la décision qui prend en compte la sensibilité des variétés, les caractéristiques des produits ainsi que les observations régionales et parcellaires, et les informations épidémiologiques issues de modèles. Ce système permet de gérer la protection d'un groupe ou d'une typologie de parcelles au niveau de la petite région, mais aussi d'une parcelle si l'on rentre des informations propres à cette parcelle. Ce système va prochainement être mis à la disposition des techniciens et des agriculteurs sur internet.

Ainsi, pour mildiou de la pomme de terre, nous avons franchi une dernière étape qui est l'intégration au niveau d'un système expert de toutes les sources d'information, ce qui permet de gérer les interventions au niveau de la parcelle.

Un autre modèle permet de réaliser une cartographie (figure 4) et donc de visualiser le risque au niveau de la petite région.

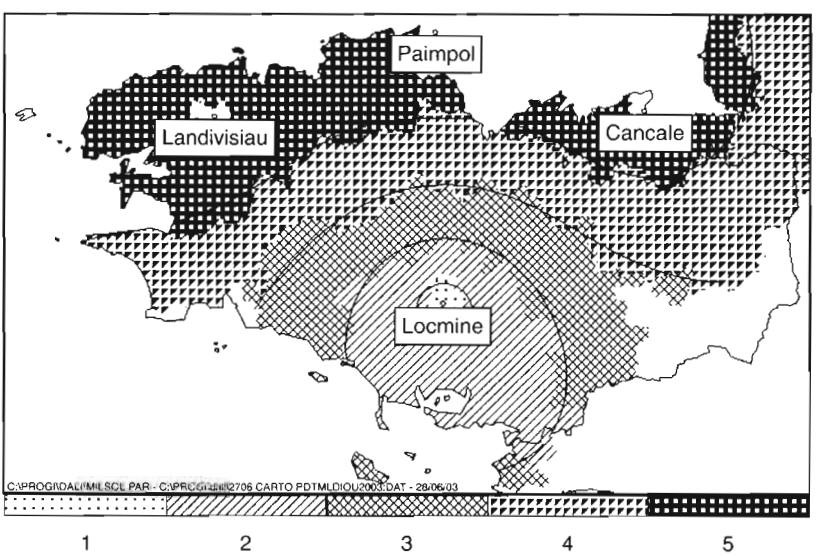


Figure 4 ■ Cartographie du risque en Bretagne sur mildiou de la pomme de terre pour la semaine du 24 au 27 juin 2003.
(Échelle 1 = risque faible à 5 = risque très élevé.)

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

7. *Conclusion et perspectives*

Il faut remarquer cependant que la modélisation est un processus complexe faisant intervenir différents acteurs et différentes disciplines (figure 5). Les marges de progrès sont encore très importantes. Le renforcement des programmes de recherche au niveau de l'INRA, des universités ainsi que la consolidation des formations d'enseignement supérieur dans ce domaine, sont un préalable.

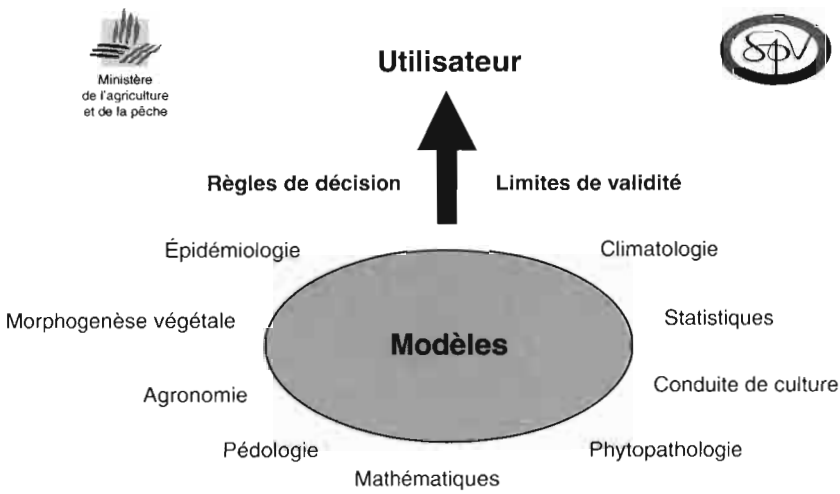


Figure 5 ■ Schéma de mise au point et d'utilisation des modèles dans les SRPV (services régionaux de Protection des végétaux).

Pour progresser, plusieurs interrogations doivent être formulées. Peut-on rapidement mettre au point des systèmes d'aide à la décision à la parcelle ? En l'état actuel de la technique, la plupart des modèles utilisés en routine ont un domaine de validité limité à la petite région et le processus de prise de décision est souvent laissé à la seule initiative du technicien.

À partir des expériences que nous avons pour quelques couples hôtes-parasites il est possible de définir les différentes étapes de ce travail. La description des conditions agronomiques et climatiques doit être beaucoup plus précise : climat réel de la culture, environnement, phénologie, conditions de culture (sols, variétés, historique des traitements). La qualité principale à rechercher devient ici la précision.

La question suivante est alors de savoir si nous sommes capables de gérer des systèmes de calcul aussi complexes. En fait, c'est plusieurs questions qui sont souvent débattues par les concepteurs, sans qu'il soit toujours possible d'apporter actuellement des réponses satisfaisantes :

– au niveau de la gestion de systèmes complexes. De nombreux facteurs influent sur l'épidémie. Les descriptions proposées sont forcément réductrices, orientées

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

vers la réponse à une question donnée. Il est quasiment impossible de décrire le phénomène épidémique dans toute sa complexité. Pourtant la tentation existe de prendre en compte un maximum de facteurs. Deux grands pôles de paramètres sont utilisés, les facteurs liés au climat et ceux liés à l'agronomie. Ces deux grandes masses obéissent à des logiques souvent différentes d'où la difficulté de les associer ;

– au niveau de la variabilité. La question est peu ou pas étudiée, alors qu'il serait pourtant intéressant de connaître la part relative de chacun des facteurs dans la variabilité générale. Quelle est la part du climat régional, du topoclimat, du phytoclimat, la part de l'historique des traitements, des variétés, des types de sol, des fumures dans l'expression de la maladie ? En l'absence d'informations rigoureuses, le concepteur des modèles privilégie de façon plus ou moins arbitraire un ou plusieurs facteurs en fonction du niveau où il souhaite situer le modèle. Un modèle de tendance à caractère régional fait intervenir des facteurs différents d'un modèle d'aide à la décision à la parcelle.

Une autre question est de savoir jusqu'où nous devons aller dans la prise de la décision. Est-il souhaitable qu'un système prenne en charge la plus grande partie du processus de décision ? Le débat est ouvert sur la nécessité (ou la tentation) d'une intégration de l'ensemble des paramètres techniques, économiques et environnementaux au sein d'un même modèle. À ce titre certaines contraintes, liées au sol, à l'exploitation, à la répartition des moyens de travail, aux questions économiques, sont difficilement quantifiables. Une autre difficulté est liée au fait que la mise au point d'un modèle est souvent très longue, de trois à sept ans dans les thèmes que nous avons abordés. Des outils sont maintenant fournis au technicien pour lui permettre d'exercer pleinement sa capacité d'expertise. De nombreuses questions restent également ouvertes dans des domaines aussi variés que la description des systèmes complexes, la pérennité des modèles dans le temps, la prise en charge plus ou moins complète des processus de décisions.

Remerciements : aux collègues « avertisseurs » de la « PV », et notamment Jean Touzeau, Bruno de La Rocque et Gilles Lechapt ainsi qu'à Frantz Rapilly de l'INRA, Serge Stryzick de la SESMA, et à la mémoire de Marc Weber et André Godin.

Références bibliographiques

Beaumont A. (1947). The dependance of the weather of the dates of outbreak of potato bligth epidemics. *Trans Brit Mycol Soc*, **31** : 31-45.

Billing E. (1992). Billing's Revised System (BRS) for Fire Blight Risk Assessment. *Bull OEPP*, **22** : 1-102.

Capus J. (1919). Y-a-t-il des périodes critiques pour la contamination par le mildiou ? *Revue de Viticulture*, **50** : 330-332.

Chellimi D., Marois J. (1991). Sporulation of *Uncinula necator* on grape leaves influenced by temperature and cultivar. *Phytopathology*, **81** : 197-201.

Choisnel E., Vautravers J. (1987). Réseaux météorologiques et modélisation *C R Acad Agr Fr*, **73** : 45-47.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Coakley S., Line R. (1981). Quantitative relationships between climatic variables and strips rust epidemics of winter wheat. *Phytopathology*, **71** : 461-467.

Coquillard P., Hill D. (1996). *Modélisation et simulation d'écosystèmes*. Masson, Paris.

de La Rocque B., Lechapt G. (1980). La protection sanitaire des céréales et les avertissements agricoles. *Phytoma*, **319** : 20-22.

de La Rocque B. (1991). Prévision du risque et dates de traitement contre la rouille brune : EPURE et SPIROUIL. Troisième Conférence Internationale sur les Maladies des Plantes, 3-5 dec. 1991, Bordeaux, 2, 663-667.

de Vallavieille-Pope C., Rouzet J., Leconte M., Delos M., Mistou M. (2000). La rouille jaune du blé en France : des épidémies déclenchées par une nouvelle race, un hiver doux et un printemps humide. *Phytoma*, **527** : 22-29.

Delos M., Bruchet S., de La Rocque B. (1994). Nouvelle approche de la dynamique du piétin-verse dans le Centre Ouest et le Sud Ouest de la France, *Phytoma*, **458** : 27-29.

Delos M., Grimpret C., Gremillon C. (1991). Caractéristiques culturales des parcelles et développement du piétin-verse. *Phytoma*, **425** : 34-38.

Delos M., Bruchet S. (1994). Influence des techniques de culture sur le développement du piétin-verse, *Phytoma*, **458** : 30-31.

Delos M. (1995). TOP Modèle de prévision de l'évolution du piétin-verse. *Phytoma*, **475** : 26-28.

Delos M., Moinard J. (1997). ASPHODEL Modèle de simulation épidémie de phomopsis du tournesol. Cinquième Conférence Internationale Maladies Plantes, 3-5 déc. 1997, Tours, 1, 47-56.

Delothal P. (1987). Réalisation de systèmes experts aide au diagnostic. *C R Acad Agr Fr*, **73** : 21-30.

Duvauchelle S., Desplantes M., Jacquin D., Pinchon V. (1991). Modèles mildiou de la pomme de terre. Troisième Conférence Internationale Maladies des Plantes, 3-5 dec. 1991, Bordeaux, 2, 587-595.

Guéry B., Eychenne N., Delos M., Moinard J. (1999). Aide à la décision, dossier spécial Sésamie du Maïs, *Phytoma*, **518** : 14-28.

Guntz M. (1959). Épidémiologie de la pomme de terre (éléments de prévision). *Phytiatrie et Phytopharmacie*, **2** : 1-45.

Hubert L. (1987). *Modélisation spatio-temporelle de la durée d'humectation d'un couvert végétal après la pluie*. Thèse Doct. Ing. Institut National d'Agronomie Paris Grignon, 155 p.

Lagarde M.P. (1988). Étude de la maturation des ascospores de *Venturia inaequalis*. Deuxième Conférence Internationale des Maladie des Plantes, 8-10 nov 1988, Bordeaux, 2, 1093-1098.

Le Gat Y., Seich P. (1992). Validation d'un modèle de simulation du développement de l'Eudémis (*Lobesia botrana*). Colloque Euroviti, Bordeaux, 25-26 novembre 1992, vol. 1 : 26-36.

Le Hénaff G., Courbet E., Labre V. (1997). Le raisonnement de la lutte contre le piétin-verse. 5e Conférence Internationale des Maladies des Plantes, 3-5 déc. 1997, Tours, 2, 753-760.

Legay J.-M. (1987). Modélisation et protection des cultures, *C R Acad Agr Fr*, **73** : 7-20.

Magnien C., Jacquin D., Muckensturm N., Guillemard P. (1991). MILVIT modèle mildiou de la vigne. Présentation et premiers résultats de validation. *Bull OEPP*, **21** : 451-459.

Malézieux E., Trébuil G., Jaeger M. (2001). *Modélisation des agroécosystèmes et aide à la décision*. Repères, CIRAD, Montpellier.

Martinet C., Le Gatt Y., Olivan C. (1997). Évaluation du rôle des conditions climatiques hivernales sur le développement de la diapause de *Cydia pomonella* (Lepidoptera. Tortricidae). Conférence Internationale ravageurs agriculture, 7-9 déc. 1993, Montpellier, 2, 721-730.

Mills U., Laplante A. (1951). Controls of disease and insects in the orchard., *N. Y. Exp Stat Bull*, **711** : 18-22.

Monnet Y., Thibault J., Legrand M. (2002). MILONI, modèle prédictif des risques de mildiou de l'oignon, 2e Conférence Internationale sur les moyens alternatifs de lutte contre les nuisibles aux végétaux, Lille, 4, 5, 6 et 7 mars 2002, 220-227.

Pavé A. (1994). *Modélisation en biologie et écologie*. Aléas, Lyon.

Rabbingue R., Ward S., van Loar H. (1989). *Simulation and systems management in crop protection*. Publ. Pudoc, Wageningen.

Rapilly F. (1976). *Essai de modélisation d'une épidémie de septoriose à* Septoria nodorum *Berk. sur blé d'hiver*. Thèse Doctorat ès Science, Université de Paris-Sud-Orsay.

Rapilly F., Jolivet E. (1976). Construction d'un modèle permettant la simulation d'une épidémie de de *Septoria nodorum* Berk., *Rev Stat Appl*, **24** : 31-60.

Régis S. (2000). Un modèle numérique pour aider à résoudre le problème de la mouche de l'olive. *Phytoma*, **533** : 48-50.

Roubal C., Rouzet J. (2003). Development and use of a forecasting model for *Cydia pomonella*. *Bull OEPP*, **33** : 403-405.

Rouzet J., Murer F. (1988). Étude d'un modèle simulant une épidémie de septoria, PRESEPT. 2e Conférence Internationale des Maladies des Plantes, 8-10 nov. 1988, Bordeaux, 1, 351-359.

Rouzet J., Murer F. (1994). Validation du modèle PRESEPT : prévision du risque septoriose sur blé. 4e Conférence Internationale des Maladies des Plantes, 6-8 dec. 1994, Bordeaux, 1, 165-172.

Rouzet J. (1994). Étude d'un modèle de prévision, PREGI, rouille jaune du blé. 4e Conférence Internationale des Maladies des Plantes, 6-8 dec. 1994, Bordeaux, 1, 173-179.

Rouzet J., Weber M., Collet L. (1998). Modèles de prévision oïdium de la vigne. Premiers résultats. *Progrès Agricole et Viticole*, **115** : 155-160.

Speich P., Jacquin D. (1997). Validation du modèle EVA simulation Eudémis, 5e Conférence Internationale ravageurs en agriculture, 6-8 janvier 1997, Montpellier, 2, 421-428.

Sébillotte M. (2002). *Pesticides et protection phytosanitaire dans une agriculture en mouvement*. Éditions ACTA, Paris.

Souliac L. (1988). Stratégies de lutte et modèles de prévision pour trois maladies du colza. 2e Conférence Internationale des Maladies des Plantes, 8-10 nov. 1988, Bordeaux, 1, 825-833.

Strizyk S. (1981). *Modèle d'état potentiel infection, application à* Plasmopara viticola. Éditions ACTA, Paris.

Strizyk S., Dubos B. (1988). Les modélisations : réflexions. 2e Conférence Internationale des Maladies des Plantes, 8-10 nov. 1988, Bordeaux, 1, 3-15.

Touzeau J. (1966). Influence des températures sur les émergences des papillons printaniers du carpocapse des pommes (*Laspeyresia pomonella* l.). *Zoologie Agricole Appliquée*, **1** : 3-6.

Touzeau J. (1978). Étude des principaux paramètres biotiques et abiotiques nécessaires à l'établissement d'un modèle d'évolution du carpocapse des pommes (*Laspeyresia pomonella* l.). *Avertissement agricole et lutte intégrée*, **7** : 5-26.

Touzeau J., Projetti F. (1987). Modélisation et avertissements agricoles. *C R Acad Agr Fr*, **73** : 169-178.

Troup J.-M., Fotre-Muller M.-J. (1997). Septoriose du blé en Lorraine avec PRESEPT : un seul traitement. 5e Conférence Internationale des Maladies des Plantes, 3-5 déc. 1997, Tours, 1, 321-328.

Waggoner P., Horsfall J. (1969). E.P.I.D.E.M.: a simulator of plant disease written for a computer. *Conn Agr Exp Stn Bull*, **698** : 2-81.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Partie 2

Stratégies alternatives et agriculture durable

sous la direction
de Gérard Fabres et Catherine Regnault-Roger

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Section 1

Stratégies intégrées

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

15

Vers une conception agroécologique de la protection des cultures

Pierre Ferron, Jean-Philippe Deguine

Diverses conceptions du devenir de l'agriculture s'affrontent aujourd'hui. Elles s'efforcent de répondre, sous des formes différentes, au souci de combiner les objectifs de production, tant en quantité qu'en qualité, et les contraintes d'un développement durable de la planète Terre. Qu'il s'agisse d'agriculture raisonnée, biologique, durable ou encore multifonctionnelle, chacune d'entre elles se réfère à des pratiques agronomiques répondant à des principes économiques différents. Ainsi, d'après Féret et Douguet (2001), l'agriculture dite raisonnée préserve le modèle productiviste, en intégrant au minimum les dispositions réglementaires récentes relatives à la protection de l'environnement, alors qu'à l'inverse, l'agriculture dite durable se propose de concilier des objectifs socio-économiques et environnementaux par l'adoption de nouveaux systèmes de production. À cet effet, la conception et l'expérimentation en vraie grandeur d'exploitations prototypes, destinées à éprouver les solutions susceptibles d'être données en réponse à la demande d'une évolution de l'agriculture vers la multifonctionnalité, sont devenues nécessaires (Rossing *et al.*, 2003).

La protection des cultures contre les organismes concurrents ou nuisibles (mauvaises herbes, maladies et ravageurs), souvent dénommés aujourd'hui bio-agresseurs, n'a pas échappé à cette évolution, compte tenu à la fois de l'importance des pertes de récolte et de la pression de sélection exercée sur l'environnement par l'adoption quasi-généralisée de la lutte chimique, depuis une cinquantaine d'années. C'est sans doute même le domaine dans lequel les effets secondaires sur le vivant, positifs ou négatifs, de techniques agronomiques hautement performantes ont été signalés en premier (Dorst, 1969).

L'objet de la présente mise au point est de montrer que la solution au problème de la protection des cultures ne se réduit pas à une combinaison harmonieuse de

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

techniques de lutte de natures différentes, sélectionnées autant que faire se peut pour leur spécificité d'action, mais implique d'abord une remise en cause de la méthode, même s'agissant de la « démarche IPM » si souvent prise comme référence (*cf.* 1.2.). Ceci permet d'envisager une nouvelle stratégie phytosanitaire (Ferron, 2002 ; Audemard, 2003). La majorité des exemples cités est issue de données entomologiques, mais la conception et les recommandations visent bien l'ensemble des disciplines phytosanitaires. Le chapitre s'articule de ce fait en quatre parties :

– la première est consacrée aux raisons de cette remise en cause, à partir d'un regard critique sur l'évolution des pratiques au cours du siècle précédent ;

– la seconde est un rappel des mécanismes biologiques impliqués, à la lumière des connaissances les plus récentes ;

– la troisième explicite la démarche écologique basée sur l'aménagement des habitats des bio-agresseurs et de leurs antagonistes, dans le but de gérer leurs populations, en tenant compte des acquis et de la mise en perspective d'une gestion rationnelle des ressources de la planète ;

– en guise de conclusion, la quatrième s'attache à établir les bases d'une stratégie phytosanitaire adaptée à cette démarche et répondant aux préoccupations actuelles des praticiens.

1. Regards sur un siècle de protection des cultures

L'histoire de la protection des cultures n'a guère plus d'un siècle ; elle est pourtant riche d'événements majeurs et a connu des orientations bien différentes. Le seul rappel des termes et expressions successivement employés au cours de chacune des époques traversées témoigne, avec les réserves qu'impose un découpage aussi schématique, des préoccupations majeures du moment :

– 1880-1950 : parasitologie végétale, épiphyties et défense des cultures ;
– 1950-1970 : phytopharmacie, pesticides de synthèse et écotoxicologie ;
– 1970-1990 : biotechnologies et moyens alternatifs de lutte ;
– depuis 1990, agroécologie, biodiversité et santé des plantes.

De nombreux auteurs font ainsi mention d'une semblable succession de paradigmes (Zadoks, 1991 ; Thiault *et al.*, 1992 ; Sankaram, 1999), tout en ne manquant pas d'attirer l'attention sur leurs éventuelles contradictions internes. Ainsi, de nos jours, l'affichage simultané de préoccupations agroécologiques et de la gestion de la santé des plantes reflète une profonde divergence de pensée entre les partisans d'une expression optimale des potentialités génétiques des plantes cultivées d'une part (Cook, 2000) et ceux d'une réelle intégration des systèmes de culture dans l'écosystème Terre d'autre part, dans le cadre d'une gestion raisonnée des ressources de la planète (Corey *et al.*, 1993 ; Swaminathan, 1993 ; Zadoks, 1993 ; Altieri, 1994 ; Altieri et Rosset, 1996 ; Meerman *et al.*, 1996 ; Atkinson et McKinlay, 1997 ; Altieri et Nicholls, 1999). Les limites de la lutte chimique, les interprétations divergentes du concept de lutte intégrée, les difficultés rencontrées dans la mise

en œuvre de moyens alternatifs de lutte, les interrogations sur les applications des biotechnologies pour réduire l'utilisation de pesticides, et la prise de conscience encore timide de l'unicité fonctionnelle du système Terre, expliquent que les principes de la protection des cultures soient aujourd'hui encore remis en cause.

1.1. La lutte intégrée, un consensus prématuré ?

Faire le constat d'une telle évolution des orientations successives de la protection des cultures conduit à s'interroger sur ses causes et, en particulier, sur la réelle incidence de l'adoption du concept de lutte intégrée, objet pourtant d'un consensus international dès 1967, sous l'égide de la FAO (*Food and Agriculture Organization*) (*cf.* encadré « La lutte intégrée »).

La lutte intégrée (FAO, 1967)

Système de gestion des populations de ravageurs qui, dans le contexte de l'environnement associé et des dynamiques des populations des espèces nuisibles, met en œuvre toutes les techniques appropriées, d'une manière aussi compatible que possible, pour les maintenir à des niveaux inférieurs à ceux causant des dommages d'importance économique. Dans son sens restreint, elle s'applique à la gestion d'une seule espèce de ravageur dans des cultures données ou dans des lieux particuliers. Dans son sens élargi, elle s'applique à la gestion harmonieuse de toutes les populations d'organismes nuisibles dans leur environnement agricole ou forestier. Ce n'est pas une simple juxtaposition ou superposition de deux techniques de lutte (telles que la lutte chimique et la lutte biologique), mais l'intégration de toutes les techniques de gestion adaptées aux facteurs naturels de régulation et de limitation de l'environnement.

En effet, la définition de ce concept semblait déjà bien répondre aux préoccupations actuelles d'optimisation de la production agricole, tout en tenant compte des contraintes environnementales. Alors qu'il avait pour objectif de concilier des points de vue différents et de définir une stratégie d'action commune, on sait qu'il fut pourtant l'objet d'interprétations diverses, au point d'en dénaturer la signification.

Il est en effet vraisemblable qu'on avait à l'époque sous-estimé l'importance des difficultés à surmonter pour faire adopter ce concept par les praticiens. Les programmes de mise au point et de vulgarisation, établis tant aux États-Unis qu'en Europe en témoignent. Ainsi, avec le plan Huffaker (Perkins, 1982), il fallut une dizaine d'années pour convaincre les agriculteurs américains de revenir d'abord à des pratiques rationnelles de lutte chimique avant de promouvoir véritablement cette lutte intégrée par l'introduction de moyens alternatifs de lutte. En Europe, les expériences pionnières en arboriculture fruitière nécessitèrent de patientes démonstrations de l'intérêt pratique de la démarche par un encadrement technique rapproché des praticiens, ainsi que de longues et délicates mises au point de techniques

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

novatrices de lutte (Audemard, 1993). Ces diverses expériences ont révélé non seulement l'importance des délais nécessaires à l'acceptation de l'innovation, mais aussi les limites des techniques alternatives de lutte alors disponibles, ainsi que les inconvénients d'un défaut d'affichage d'une réelle stratégie d'application (Ferron, 1999). En dépit des succès remportés, tant en verger, qu'en culture sous serre et vignoble, ces différentes difficultés sont sans doute pour partie à l'origine du redéploiement progressif des investissements de l'industrie phytosanitaire hors du secteur des moyens alternatifs de lutte, comme celui des biopesticides par exemple. Cette attitude a en outre vraisemblablement favorisé l'adhésion de nombreux praticiens aux principes d'une « lutte raisonnée respectueuse de l'environnement », réduite en fait à une lutte chimique aussi rationnelle soit-elle.

Avec le recul du temps, on peut s'étonner que des experts phytosanitaires venant d'horizons aussi différents que ceux de la recherche, de l'enseignement, de l'industrie et de l'agriculture, aient pu, dès les années 60, s'accorder sur cette conception intégrée de la protection des cultures. Certes l'emploi du DDT (dichlorodiphényltrichloroéthane), considéré comme le symbole d'une lutte chimique triomphante, venait-il tout juste d'être interdit d'applications agronomiques et médicales en raison de ses effets secondaires sur les chaînes trophiques ; mais nos connaissances fondamentales et techniques étaient pourtant encore loin de nous autoriser à préconiser des solutions alternatives fiables à la lutte chimique, comme de concevoir des systèmes de production réellement intégrés. Rappelons que pour beaucoup, la lutte intégrée n'était en effet, à l'origine, guère plus qu'une opportune, voire nécessaire, harmonisation de techniques empruntées aux méthodes de lutte chimique et biologique.

1.2. De la lutte contre les nuisibles à la gestion de leurs populations

C'est dans ce contexte qu'une réflexion s'est progressivement cristallisée autour du concept de protection intégrée. Il convient à cet effet de rappeler que, dès la fin des années 60, les scientifiques américains préférèrent, plutôt que celle de lutte intégrée (*integrated control*), employer l'expression IPM (*integrated pest management*). Le plus souvent ces expressions sont encore aujourd'hui considérées comme équivalentes, alors qu'en fait elles traduisent deux visions fondamentalement différentes de la protection des cultures, la première privilégiant la lutte contre les nuisibles, la seconde la gestion de leurs populations. Cette dernière conception fut ultérieurement sensiblement confortée par les conclusions d'un groupe de travail européen de l'Organisation internationale de lutte biologique (OILB) qui, sur la base d'expérimentations en arboriculture fruitière, esquissa, sous la forme du message dit d'Ovronnaz (Altner *et al.*, 1977), les bases de cette protection intégrée des cultures (*cf.* encadré « Évolution des méthodes de protection des cultures »). Son élément novateur principal tenait à la perception de la protection des cultures comme l'une des composantes de la gestion globale des agroécosystèmes, ou encore agrosystèmes, sous la forme d'une production agricole dite intégrée, lui conférant une dimension spatio-temporelle nouvelle.

Évolution des méthodes de protection des cultures (OILB 1977, modifié)

1. **Lutte chimique « aveugle »** : utilisation sans discrimination des pesticides les plus efficaces d'après un schéma d'application préétabli.
2. **Lutte chimique conseillée** : utilisation réfléchie de pesticides à large spectre d'action en relation avec un service d'avertissement.
3. **Lutte dirigée** : introduction de la notion de seuil de tolérance, utilisation de pesticides à faible répercussion écologique, sauvegarde des organismes auxiliaires existants.
4. **Protection intégrée** : respect des principes de la lutte dirigée (*cf.* ci-dessus), intégration de moyens biologiques de lutte (sélection variétale, lutte biologique et biotechnique), limitation maximale de la lutte chimique.
5. **Production intégrée** : respect des principes de la protection intégrée (*cf.* ci-dessus), souci d'une développement physiologique équilibré de la plante par l'application de techniques dites intégrées (par exemple une fumure raisonnée), respect, intégration et valorisation de tous les facteurs positifs de l'agroécosystème.

La hardiesse du propos n'était sans doute pas, en l'état, de nature à faciliter l'adhésion des praticiens à de nouvelles méthodes de lutte, qui avaient déjà bien du mal à s'imposer. C'était pourtant sans compter sur la rapide évolution de la demande sociale, séduite par l'opportunité et la sagacité des termes du rapport Brundtland, établi par l'ONU (Organisation des nations unies) en 1987, qui, pour la première fois, se référait au concept de développement durable ou « *développement qui s'efforce de répondre aux besoins du présent sans compromettre la capacité des générations futures à satisfaire les leurs* ». Cette définition initiale a été ultérieurement complétée par l'énoncé des trois composantes principales de ce développement durable :

– la composante écologique, visant à préserver l'environnement local et global ;

– la composante économique, visant à garantir la croissance et l'efficacité économique ;

– la composante sociale, visant à satisfaire les besoins humains en garantissant l'équité et la cohésion sociale.

Avec les conférences des Nations unies de Stockholm (1982), de Rio de Janeiro (1992) et de Johannesburg (2002), les questions environnementales sont devenues une préoccupation internationale majeure, en particulier au travers de la convention sur la conservation de la diversité biologique et du plan d'action mondial (« agenda 21 ») recommandant des pratiques agronomiques durables (Lévêque et Mounolou, 2001). La FAO réajustait simultanément sa position sur la lutte intégrée en adoptant le concept de gestion intégrée des cultures (*cf.* endadré « Gestion intégrée des cultures »). Dans cet esprit, les bases écologiques d'un nouveau modèle

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

de protection des cultures étaient rédigées dès 1996 à l'initiative du Conseil national de la recherche des États-Unis (NRC, 1996), alors que l'OILB (Boller *et al.*, 1998) actualisait ses principes d'intervention phytosanitaire. On voyait se dessiner ainsi une stratégie nouvelle, impliquant la mise au point de nouveaux systèmes de culture, privilégiant le renouvellement de l'approche conceptuelle de la protection des cultures par rapport à l'amélioration technique des performances de procédés alternatifs de lutte.

Gestion intégrée des cultures (FAO, 1991, d'après Zadoks, 1993)

La gestion intégrée des cultures recouvre les systèmes de production des plantes cultivées les plus appropriés aux conditions locales et à leur environnement, par lesquels, en fonction des exigences économiques et environnementales, tous les procédés appropriés relevant de l'agronomie, de la nutrition des plantes et de leur protection, sont utilisés d'une façon aussi harmonieuse que possible les uns avec les autres, en exploitant aussi bien les progrès biologiques et techniques que les facteurs naturels de régulation des organismes nuisibles, de manière à garantir à long terme des rendements sûrs et une réussite économique.

2. *Populations, peuplements et diversité biologique*

L'adhésion à cette nouvelle approche conceptuelle est un événement majeur interpellant tous les acteurs concernés, du chercheur à l'enseignant et au praticien, du technicien à l'industriel et au distributeur, sans négliger le rôle déterminant des consommateurs. L'attitude adoptée face aux problèmes phytosanitaires devient en effet bien différente de celle qui avait prévalu jusqu'alors : de la lutte contre un organisme nuisible dans une parcelle de culture, on tend vers une gestion rationnelle de ses populations sur l'ensemble de l'exploitation, voire de plusieurs exploitations contiguës. En outre, cette gestion de populations d'organismes nuisibles s'inscrit dans le cadre d'une gestion globale des peuplements inféodés à un même agrosystème. Au sein de celle-ci, les plantes cultivées tiennent bien sûr la place prépondérante, mais elle intègre également les plantes des jachères, cultivées ou non, des bordures de champs, haies, bosquets, de même que l'ensemble des auxiliaires associés, parasites, prédateurs, symbiotes et pollinisateurs. Elle ne peut en outre ignorer la faune et la flore sauvages locales, dont la diversité biologique est considérée aujourd'hui comme l'élément déterminant d'un développement durable, même si elle est encore très incomplètement appréhendée. Au total, il s'agit bien désormais d'intégrer rationnellement l'agriculture dans les fonctions de l'écosystème et non plus de domestiquer la nature (Vandermer, 1995). Accéder à cette nouvelle stratégie phytosanitaire nécessite donc la prise en compte de la dimension spatio-temporelle des phénomènes et implique l'aménagement des systèmes de

culture. Les objectifs de production, dans un cadre socio-économique donné, sont ainsi logiquement associés aux contraintes environnementales d'un développement durable de la biosphère.

Au plan scientifique, cette nouvelle attitude est confortée par l'évolution de nos connaissances en biologie, génétique et écologie des populations (Christensen *et al.*, 1996 ; Shea *et al.*, 1998). Cette dernière discipline reconnaît trois niveaux majeurs d'organisation du monde vivant, l'individu, la population et le peuplement, à partir desquels s'articule le fonctionnement des agrosystèmes.

2.1. Le système population-environnement

Pour l'écologiste, la population est définie comme l'ensemble des individus d'une même espèce, les limites spatiales d'un tel ensemble devant être précisées. Le concept de population-environnement (Barbault, 1997) répond à cette condition en associant aux variables d'état spécifiques d'une population (effectif, distribution spatiale, structure d'âge, structure génétique, organisation sociale) les caractéristiques d'un environnement donné (particularités physicochimiques et biologiques). La particularité remarquable des agrosystèmes tient au fait que l'homme y a la maîtrise, d'une part de populations animales et végétales domestiquées et, d'autre part, des structures paysagères et des systèmes de production. En protection des cultures, ces atouts ne sont encore que partiellement exploités, principalement au travers des rotations ou d'associations culturales, de la sélection de variétés résistantes aux bio-agresseurs, ou encore de l'introduction-acclimatation d'auxiliaires ; la gestion des phénomènes de résistance aux pesticides a pourtant récemment attiré l'attention sur l'importance de la connaissance des phénomènes épidémiologiques et par là même sur l'intérêt de la prise en compte simultanée de la gestion des habitats (Bugg et Pickett, 1998), voire des paysages (Burel et Baudry, 1999). Cette approche est d'ailleurs déjà retenue pour l'élaboration des plans de gestion des parcours de chasse et surtout des réserves naturelles. La difficulté majeure tient au fait que, dans les limites d'un environnement donné, c'est l'ensemble des populations présentes ou biocénose qu'il faudrait pouvoir prendre en considération. L'écologiste est donc contraint de limiter son champ d'action à des ensembles pluri-spécifiques restreints, qu'il dénomme peuplements ou communautés, au risque de n'avoir qu'une vision partielle de la diversité biologique totale.

En milieu agricole, ces peuplements présentent en outre la particularité d'être composés de populations fragmentées (métapopulations), en raison même des structures agraires et systèmes de culture adoptés (Hunter, 2002). Du point de vue de leur cinétique, les populations sauvages y sont caractérisées par des processus d'extinction et de recolonisation locales liés à l'hétérogénéité spatiale des agrosystèmes, qui perturbe leurs échanges, comme les mécanismes de leur régulation naturelle. C'est pourquoi les études de dispersion de ces populations, tout particulièrement à l'interface des structures agraires, connaissent aujourd'hui un tel succès (Ekbom *et al.*, 2000). La récente prise en considération de l'hétérogénéité spatio-temporelle des écosystèmes fait d'ailleurs désormais considérer les échanges entre

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

les différents éléments du paysage comme une composante déterminante de la compréhension des processus écologiques (Yoccoz *et al.*, 2001).

On supposait alors que les écosystèmes évoluent vers un stade d'équilibre défini par les caractéristiques du sol, du climat, de la végétation, au travers d'états successifs caractérisés par une augmentation de leur hétérogénéité spatiale, de la diversité spécifique et de la densité des populations d'organismes, de la complexification de l'organisation des communautés et du développement de mécanismes de stabilisation (Vandermeer *et al.*, 1998). Or, le maintien en équilibre des agrosystèmes à certains de ces stades intermédiaires s'obtient par des pratiques, des aménagements ou des systèmes culturaux ou pastoraux, remis en cause du fait de leurs effets secondaires systémiques : labours, drainage, traitements phytosanitaires, pâturage, etc. (McLaughlin et Mineau, 1995). L'importance et la forme de ces apports anthropiques déterminent les différents types d'agriculture (agriculture paysanne, extensive, intensive, biologique, etc.). Ainsi, une culture monospécifique n'a aucune stabilité propre et est rapidement la proie des bio-agresseurs dès que l'intervention humaine s'amenuise. Frontier et Pichod-Vialle (1995) font une analyse critique de la relation communément simplificatrice entre stabilité et diversité, en tenant compte aussi bien des diverses formes de diversité biologique que de la nature, de l'organisation hiérarchique et de la co-évolution des interactions au sein d'un même écosystème (notions de connectance, de résilience, de robustesse), dont l'hétérogénéité a une importance fonctionnelle désormais reconnue. Si les écosystèmes les plus diversifiés, tels que les forêts tropicales, sont caractérisés par la stabilité de leur biomasse totale, il paraît aujourd'hui imprudent d'en conclure qu'il en est de même de leur composition spécifique. Ainsi, l'application aux agrosystèmes des lois générales de l'écologie se heurte à leur spécificité anthropique. C'est pourquoi l'allégement souhaité du recours aux intrants (eau, engrais et pesticides) implique en contrepartie d'accorder une place croissante à une technicité accrue de leurs dispositifs de gestion.

2.2. Diversité biologique et écologie des interactions durables

L'existence d'un lien entre la régulation des populations et la diversité spécifique des peuplements est aussi l'objet de débats entre écologistes et spécialistes de la protection des cultures. Il est cependant généralement admis que les pullulations d'organismes nuisibles aux cultures sont réduites dans les agrosystèmes les plus diversifiés, alors qu'elles s'avèrent souvent difficilement maîtrisables en monoculture. L'analyse du problème implique de tenir compte de l'ensemble des interactions propres au système population-environnement considéré. De longue date, les entomologistes se sont attachés à démontrer l'influence de la diversité végétale sur la faune phytophage associée (Dron et Ferron, 2003) ; cependant, ils se sont le plus souvent intéressés plus à l'abondance des espèces qu'à leur réelle diversité. Ainsi, à partir des données recueillies dans 209 publications scientifiques, 52 % des 287 espèces d'insectes phytophages identifiées ont des populations moins abondantes dans un environnement diversifié qu'en monoculture, alors que 15 % y trou-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

vent en revanche des conditions plus favorables à leur développement, la situation étant inverse pour les espèces auxiliaires, de régime entomophage (Andow, 1991).

Deux hypothèses sont avancées pour expliquer ce phénomène : l'une (« *enemies hypothesis* ») prédit qu'à une diversité végétale élevée sont associées une abondance et une diversité accrues de parasitoïdes et de prédateurs des espèces phytophages associées, en raison d'une diversité supérieure de ressources alimentaires et de refuges ; l'autre (« *resource concentration hypothesis* ») avance que, dans le cas d'une diversité végétale réduite, les plantes consommables sont plus facilement accessibles aux phytophages et ainsi plus favorables à leur alimentation et à leur reproduction (Root, 1973). En fait, l'effet positif d'une diversité végétale accrue sur l'augmentation de la biodiversité des organismes auxiliaires n'est pas expérimentalement démontré, si ce n'est qu'on peut observer en un même lieu à la fois les divers parasitoïdes inféodés aux divers phytophages et, surtout, une plus grande abondance de prédateurs généralistes (Sheehan, 1986 ; Russel, 1989 ; Letourneau, 1990, 1997). Le recours aux techniques de caractérisation moléculaire devrait permettre d'affiner cette corrélation en prenant en compte la diversité intraspécifique des espèces.

L'attention ainsi portée à la faune prédatrice généraliste indigène (Bommarco et Ekbom, 2000 ; Symondson *et al.*, 2002) a suscité la réévaluation du rôle joué par les équilibres naturels dans la régulation des populations de bio-agresseurs (« *natural biological control* »). Une stratégie susceptible d'amplifier ce phénomène pour réduire d'autant les risques phytosanitaires (« *conservation biological control* »), tout en répondant au souci de préserver au mieux la diversité biologique de la biosphère, connaît un réel succès depuis peu (Barbosa, 1999).

Alors que les zoologistes étaient jusqu'à présent principalement concernés par cette évolution des connaissances, ils sont aujourd'hui rejoints par les malherbologues, en raison du rôle positif attribué désormais à une gestion raisonnée des populations de mauvaises herbes (Buhler *et al.*, 2000 ; Liebman et Gallandt, 1997 ; Norris et Kogan, 2000). Quant aux phytopathologistes, adeptes depuis l'origine de l'exploitation de la diversité interspécifique par la sélection variétale et dans une moindre mesure de la diversité intraspécifique par des cultures en mélange (Finckh et Wolfe, 1997 ; Leung *et al.*, 2003 ; Pope de Valavieille, 2003), ils attirent, à juste titre, l'attention sur le risque épidémiologique susceptible d'être encouru par une maîtrise insuffisante de la gestion d'une diversité biologique volontairement accrue. Un exemple en est donné par le soin accordé à la composition des haies composites, implantées autour des vergers pour favoriser la faune auxiliaire, de manière à éviter la création de foyers infectieux par le choix de plantes connues pour leur capacité à jouer le rôle d'hôte alternatif pour certains agents pathogènes des espèces cultivées. Cette remarque s'applique d'ailleurs également aux bandes enherbées, dont l'implantation dans les cultures annuelles est préconisée dans le même but (Baudry *et al.*, 2000).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

3. *Gestion des populations et de leurs habitats*

L'enjeu actuel de la protection intégrée des cultures est de réduire prioritairement les risques de pullulation des bio-agresseurs, ce qui permettrait de limiter d'autant le recours à des traitements phytosanitaires préjudiciables à l'environnement. Il s'agit donc de renoncer à des pratiques confirmées, mais devenues pour partie inappropriées, voire dangereuses, pour l'écosystème et l'homme, et de faire adopter une conception de prévention du risque et des pratiques de gestion nouvelles. Cette évolution implique en outre de prendre simultanément en compte, d'une façon cohérente, l'ensemble des bio-agresseurs d'un agrosystème donné, dont la diversité biologique doit être par ailleurs prioritairement préservée, dans une démarche intégrée conforme aux principes d'un développement durable. La stratégie n'a donc plus pour objet de résoudre un problème phytosanitaire particulier, dans une parcelle et à un moment donné, mais de raisonner une action globale, s'appliquant à l'ensemble d'une exploitation, voire à un agrosystème en son entier. Le problème se pose alors en termes de gestion de populations, dans l'espace et dans le temps, en recherchant des solutions à court et à long terme, ce qui conduit à prendre en considération la gestion des habitats des espaces cultivés ou non. Cette gestion écologique de l'espace interfère avec les structures agraires en contribuant à l'aménagement du paysage, suivant une démarche illustrée récemment par les agronomes adeptes d'une version moderne du « *théâtre d'agriculture et mesnage des champs* » d'Olivier de Serres, dont la première édition remonte à l'an 1600 (Baudry et Thenail, 2001 ; Papy, 2001).

3.1. Aménagement de l'espace rural

Burel *et al.* (2000) montrent l'intérêt de l'étude du paysage dans le but d'assurer la gestion des populations d'insectes au niveau des exploitations ; mais dans le même temps ils soulignent la difficulté de l'entreprise en raison de la multiplicité des types de réponse à une situation donnée, en fonction des caractéristiques biologiques des espèces considérées. Ces mêmes auteurs rapportent en effet que la distribution spatio-temporelle des insectes prend au moins cinq formes différentes. D'une façon générale, les insectes exploitent les couloirs ou corridors biologiques, qui assurent les nécessaires connexions entre habitats fragmentés (Tscharntke et Kruess, 1999) ou, au contraire, ils effectuent des allers et retours entre les champs cultivés et leurs lisières, suivant des modalités variables avec la structure de ces dernières, la forme des parcelles et la nature de leurs cultures (Wratten *et al.*, 1998). Cet effet lisière (« *edge effect* ») se traduit par une augmentation de la diversité biologique et de la densité de certaines espèces animales et végétales à la limite entre différentes communautés de plantes (Duelli et Obrist, 1995 ; Forman, 1997 ; Dennis *et al.*, 2000).

Ces observations commencent à être utilisées en protection des cultures (Thomas *et al.*, 1991 ; Marino et Landis, 1996 ; Gurr *et al.*, 1998 ; Häni *et al.*, 1998 ; Verkerk *et al.*, 1998 ; Landis et Marino, 1999). Certes, celles relatives aux corridors biolo-

giques s'intègrent de préférence dans une stratégie collective et, le plus souvent, contractuelle, de conservation de la diversité biologique dans son ensemble, dans laquelle la prise en compte des possibilités offertes par l'agroforesterie joue un rôle particulier (Leakey, 1999). Elles apportent des informations précieuses sur les dimensions souhaitables des mailles d'un réseau de couloirs biologiques pérennes, dont le dessin est une caractéristique des unités paysagères. Bien que la recherche n'ait encore consacré qu'une attention limitée à ce sujet, ses conclusions préliminaires confortent le plus souvent l'idée que des habitats de grande surface, bien connectés entre eux, sont favorables à la diversité biologique et à la stabilité des populations. La fragmentation des prairies artificielles du Kraichgau, près de Karlsruhe (Allemagne), affecte par exemple négativement non seulement l'abondance et la diversité des espèces d'insectes phytophages et parasitoïdes associées, mais aussi les interactions hôte-parasite (Kruess et Tscharntke, 2000). Les populations de parasitoïdes sont plus particulièrement sensibles à cette fragmentation des habitats, sans doute en raison d'une capacité de distribution moindre que celle des phytophages. Dans l'exemple évoqué ci-dessus, ce phénomène s'observe dès que la distance entre habitats est supérieure à 100 mètres, ordre de grandeur confirmé pour des prédateurs par des observations effectuées en Russie (régions de Moscou et de Krasnodar) dans des cultures de blé d'hiver (Tshernyshev, 2003), ce qui donne une première évaluation de la dimension de la maille (200 à 300 m, soit une surface inférieure à 10 ha) qu'il conviendrait de respecter pour favoriser la régulation naturelle des populations de phytophages. Ces données confirment en particulier les observations sur la corrélation entre la diversité des espèces végétales et l'abondance des prédateurs généralistes. Des études de même nature sont réalisées en prenant pour cible d'autres organismes nuisibles aux cultures tels que les rongeurs (Delattre *et al.*, 1999).

En revanche, l'effet lisière peut être facilement valorisé par le praticien lui-même, à sa propre initiative. Ainsi, en Suisse, dans le cadre d'une politique de promotion de la diversité faunistique et floristique définie il y a déjà une dizaine d'années, des surfaces écologiques dites de compensation (*ecological compensation areas*, ou ECA) sont préconisées sous des formes diverses (chemins, haies, bosquets, mais aussi vergers, prairies extensives, etc.) et subventionnées si elles occupent au moins 7 % de la surface totale : les procédés le plus souvent adoptés sont des bandes de 3 m de large enherbées de fleurs sauvages (« *wildflower strip* »), les jachères tournantes et les bordures de champs exemptes de traitements pesticides sur des largeurs de 3 à 12 m (« *conservation headlands* »). La technique est poussée jusqu'à la mise au point d'un mélange d'une trentaine d'espèces végétales herbacées indigènes (annuelles, bisannuelles et pérennes) spécialement choisies pour l'ensemencement de ces bandes herbacées, destinées à rester en place de deux à six ans (Studer *et al.*, 2003).

Cette nouvelle approche de la protection des cultures (« *biointensive integrated pest management* ») est aussi l'objet d'une exploitation originale en Californie, dans un cadre élargi à l'espace rural en son entier (Bugg *et al.*, 1998). On y entend en effet par « *farmscaping* » certes l'aménagement des bords de champs, haies et

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

brise-vent, mais aussi l'installation de plantes de couverture, le traitement de la végétation des bords de route et des cours d'eau, y compris leurs bassins de rétention, ainsi que toutes les surfaces incultes, dans le but de promouvoir des systèmes de culture compatibles avec le concept de développement durable. Les plantes appropriées à chaque usage sont identifiées, leur mode de culture est décrit ainsi que les risques et avantages phytosanitaires susceptibles d'être ainsi occasionnés aux cultures avoisinantes ; des informations techniques détaillées, évidemment adaptées aux caractéristiques biologiques de la faune et de la flore nord-américaines, sont disponibles sur le site internet du *National Sustainable Agriculture Information Service* (www.attra.org).

La préservation de la diversité biologique, ainsi que la maîtrise des populations de mauvaises herbes orientent en outre cette sélection. L'extension de cette technique au traitement des bordures de champ est en cours d'expérimentation dans le cadre de programmes à long terme engagés en Suisse (Studer *et al.*, 2003). Des fermes expérimentales sont conçues pour expérimenter ces nouvelles techniques. Booij (2003) cite par exemple le cas d'une telle exploitation néerlandaise de 16 ha, entourée par une bordure richement enherbée de 2 m de large, et divisée en 6 champs de 2,1 ha, chacun étant entouré et séparé d'entre eux par des bandes enherbées de 2 m de large. Chaque champ est lui-même divisé en 6 longues parcelles de 0,35 ha. Toujours aux Pays-Bas, la bien connue ferme expérimentale de Nagele est constituée de grandes parcelles de 110×130 m, subdivisées en sous-parcelles de 50×60 m et de 36×50 m, le tout étant séparé par des bordures enherbées (van Alebeek *et al.*, 2003).

Des études comparables sont réalisées dans divers pays du monde, comme en Nouvelle-Zélande où les propriétés trophiques (pollen, nectar) de ces bandes enherbées pour les auxiliaires parasitoïdes sont particulièrement étudiées (Landis *et al.*, 2000 ; Wratten *et al.*, 2003). En grande culture, telle que pratiquée pour le cotonnier aussi bien en Australie qu'aux États-Unis, ces bandes enherbées, dénommées « *grassy banks* » ou encore « *beetle banks* », en périphérie des parcelles, peuvent être avantageusement remplacées par des bandes cultivées de colza (*Brassica rapae*), de blé (*Triticum aestivum*) ou encore de luzerne (*Medicago sativa*) implantées au sein même de la culture principale (Mensah, 1999 ; Parajulee et Slosser, 1999). Ce procédé, dénommé « *strip-cropping* » ou encore « *strip-intercropping* » relève de nouveaux systèmes de culture décrits ci-après (Trenbath, 1993 ; Lys, 1994). Les cultures protégées elles-mêmes bénéficient de l'application de ces nouvelles techniques, dans la mesure où l'aménagement des espaces entre les serres ou les abris contribue également à la gestion des populations de bio-agresseurs et d'auxiliaires (Parrella *et al.*, 1999).

3.2. Organisation spatiale des systèmes de culture et adaptation des itinéraires techniques

Compte tenu de l'importance nouvelle ainsi accordée aux interactions entre la parcelle de culture et son environnement biologique immédiat, les agronomes sont

confrontés à la même obligation que les phytiatres de faire évoluer leurs stratégies (Deffontaines, 2001 ; Meynard *et al.*, 2001). La nécessité d'élargir le concept de système de culture, jusque-là étroitement lié à la parcelle (Sebillotte, 1990), et d'adopter une vision moins physicochimique de l'environnement que par le passé s'impose désormais. On notera d'ailleurs que les concepts anglo-saxons de « *cropping system* » et de « *farming system* » s'appliquent à des aires plus vastes, atteignant même celle d'une petite région. De même, pour le phytiatre, la prise en considération de la dimension spatiale des phénomènes est recommandée avec la notion d'« *areawide pest management* » (Kogan, 2002).

Le système de culture est défini comme « *l'ensemble des modalités techniques mises en œuvre sur des parcelles traitées de manière identique ; chaque système de culture se caractérise par la nature des cultures et leur ordre de succession, et par les itinéraires techniques appliqués à chacune de ces cultures* » (Sebillotte, 1990). Il peut donc évoluer et bénéficier d'innovations, de « *nouvelles manières de produire, mieux adaptées aux objectifs des acteurs directement impliqués et aux exigences de la société* ».

Ces mises au point bénéficient aujourd'hui de l'utilisation de modèles de fonctionnement de l'agrosystème faisant appel à l'intelligence artificielle, l'optimisation ou encore aux méthodes multicritères d'aide à la décision (Meynard, 1998 ; Boiffin *et al.*, 2001 ; Meynard *et al.*, 2001). Les solutions proposées sont ensuite testées dans des fermes pilotes, avant d'être l'objet d'observations spatialisées de longue durée (Vereijken, 1997). Pour ce qui concerne la protection des cultures, une évolution des itinéraires techniques s'avère indispensable. Ceux-ci doivent en effet être conçus pour réduire autant que faire se peut les risques de pullulation des organismes nuisibles, en évitant les pratiques favorables à l'expression de leur potentiel biotique d'une part, et au contraire en exploitant au mieux tous les procédés favorisant leurs antagonistes (Letourneau et Altieri, 1999).

Cette nécessaire évolution est cohérente avec la conception d'une « révolution doublement verte », fruit d'une expérience antérieure d'inspiration productiviste, qui privilégia les variétés à haut rendement, malheureusement fort exigeantes en engrais et pesticides (Bramble 1989 ; Griffon, 1996). Les principes de ces nouveaux itinéraires techniques sont rappelés ci-dessous, dans le cadre du concept de production intégrée (*cf.* encadré « Principes généraux de la production intégrée »).

Conclusion : quelle stratégie phytosanitaire ?

L'adoption d'une telle approche préventive de la protection des cultures marque une rupture avec les pratiques préconisées jusqu'à présent. Elle implique donc un effort d'éducation, de conception et d'élaboration, d'adaptation aux conditions locales, de validation et de vulgarisation qui concerne tous les acteurs de la filière. Elle doit s'appuyer sur l'énoncé d'une stratégie d'application simple, dont la hiérarchie doit être méthodiquement respectée. Cette stratégie, articulée en quatre points

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Principes généraux de la production intégrée (d'après Holland, 2002)

- **Rotation des cultures** : au minimum 4 cultures différentes, dont celles qui améliorent la fertilité des sols (légumineuses) et qui contribuent à la gestion des populations de bio-agresseurs (variétés résistantes).
- **Gestion de la fumure** : maîtriser les apports d'engrais minéraux ; les remplacer autant que faire se peut par des engrais organiques ; les excès de fumure sont favorables aux bio-agresseurs et sont sources de pollutions.
- **Réduction du travail du sol** : outre les économies d'énergie, on favorise ainsi la faune du sol, tout en réduisant l'érosion et le lessivage des nutriments ; privilégier les semis sans labour et culture sous mulch qui créent des conditions favorables aux organismes auxiliaires.
- **Gestion intégrée des cultures contre les bio-agresseurs** : optimisation des mécanismes naturels de régulation de leurs populations par le choix de variétés résistantes, des dates de semis, la définition de seuils de nuisibilité, l'utilisation des pesticides les moins dommageables pour l'environnement ; la destruction mécanique des mauvaises herbes, associée à l'usage de doses réduites d'herbicides est recommandée ; le rôle des prédateurs est accru par l'aménagement de leurs habitats.
- **Aménagement de surfaces écologiques de compensation** : bordures de champs, haies, clôtures, bandes enherbées disposées pour assurer la meilleure connectivité tout en limitant la surface des parcelles de culture, sont recommandées pour favoriser les auxiliaires ; constituer des zones tampon limitant l'érosion et le lessivage des sols, prévenir l'invasion des parcelles par les mauvaises herbes, protéger la diversité biologique.

successifs, n'exclut pas, en effet, l'éventuel recours à des moyens curatifs de lutte, compte tenu de la variabilité des phénomènes biologiques et de la nécessité de préserver le bénéfice d'une récolte (*cf.* encadré « Stratégie phytosanitaire »). Dans cette hypothèse, la préférence doit être accordée à des solutions alternatives à la lutte chimique traditionnelle.

Par les liens structurés et hiérarchisés entre mesures préventives et actions curatives de protection des cultures d'une part, contraintes agronomiques et environnementales d'autre part, cette stratégie s'inscrit dans la logique de la démarche engagée par la FAO en vue de l'élaboration de bonnes pratiques agricoles, sur la base du Codex européen de l'Agriculture raisonnée (EISA, 2001), comme dans celle récemment affichée par l'industrie (*CropLife International*, 2003).

Le raisonnement proposé sera avantageusement appliqué à l'exploitation dans son ensemble, et non plus parcelle de culture par parcelle. Il intègrera la gestion des espaces non productifs et il bénéficiera en outre d'actions concertées entre exploitations voisines, au sein d'un même agrosystème. La maîtrise d'œuvre de telles opérations repose entre les mains d'agronomes, relayés par des techniciens

Stratégie phytosanitaire

1. **Respect des mesures réglementaires**
   internationales, nationales et régionales
2. **Mise en œuvre prioritaire de mesures préventives**
   – aménagement des habitats, prophylaxie, sélection variétale, rotation des cultures, assolements, cultures pièges, cultures intercalaires
   – façons culturales, fertilisation et irrigation raisonnées
3. **Évaluation des risques et prise de décision en cas de besoin**
   – au niveau de la parcelle ou d'un groupe de parcelles
   – surveillance attentive de l'état sanitaire des parcelles, outils d'aide à la décision, seuils de tolérance économique
4. **Recours à des mesures curatives d'intervention en cas d'absolue nécessité seulement**
   – priorité accordée aux mesures alternatives de lutte : techniques culturales, lutte biologique et biotechnique
   – en dernier recours : pesticides chimiques de moindre incidence écologique.

de terrains, soucieux du développement durable de l'agriculture. La mise au point de méthodes et techniques de lutte alternatives plus fiables que celles dont nous disposons aujourd'hui est urgente et nécessite sans doute une réévaluation des moyens ainsi que des contraintes économiques et réglementaires. À cet effet, une concertation renouvelée entre les acteurs concernés est souhaitable. Elle est justifiée par l'évolution même de la protection des cultures : dimension environnementale du problème, implication des agronomes, bases méthodologiques actualisées et surtout analyses prospectives convergentes. Pour avoir l'efficacité attendue, cette concertation devrait cependant dépasser le stade du consensus, dont on a déjà mesuré les limites par le passé avec le concept de lutte intégrée, et déboucher sur de véritables actions intégrées dans une démarche collective visant un développement durable.

Remerciements : la recherche bibliographique nécessaire à la rédaction de ce chapitre a largement bénéficié du concours efficace de Marie-Christine Lambert, Catherine Lyonnet et Catherine Patard (CIRAD). Quant au texte lui-même, il a été l'objet des remarques attentives et constructives de H. Audemard (ADALIA), A. Fraval (INRA), J. Ganry et E. Malézieux (CIRAD). Qu'ils en soient tous sincèrement remerciés.

Références bibliographiques

Altieri M.A. (1994). *Biodiversity and Pest Management in Agroecosystems.* Food Product Press, New York.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Altieri M.A., Rosset P. (1996). Agroecology and the conversion of large-scale conventional systems to sustainable management. *Intern J Environ Stud*, **50** : 165-185.

Altieri M.A., Nicholls C.I. (1999). Biodiversity, Ecosystem Function, and Insect Pest Management in Agricultural Systems. *In* Collins W.W., Qualset C.O. *Biodiversity in Agroecosystems*. CRC Press, Boca Raton, 69-84.

Altner G., Baggiolini M., Celli G., Schneider F., Steiner H. (1977). La protection intégrée, une technique d'appoint, conduisant à la production intégrée. *IOBC wprs Bull/Bull OILB srop*, **4** : 118-129.

Andow D. (1991). Vegetational diversity and arthropod population response. *Annu Rev Entomol*, **36** : 561-585.

Atkinson D., McKinlay R.G. (1997). Crop protection and its integration within sustainable farming systems. *Agric Ecosys Environ*, **64** : 87-93.

Audemard H. (1993). Protection intégrée des vergers européens : situation et évolution. *ADALIA-Bull inf tech Club Protection Raisonnée*, **25** : 5-15.

Audemard H. (2003). Protection raisonnée et protection intégrée des cultures : concepts et bases. *ADALIA-Bull inf tech Club Protection Raisonnée*, **50** : 22-25.

Barbault R. (1997). *Écologie générale. Structure et fonctionnement de la biosphère*. Masson, Paris.

Barbosa P. (1999). *Conservation Biological Control*. Academic Press, San Diego, CA.

Baudry J., Thenail C. (2001). La nécessaire articulation de l'écologie et de l'agronomie pour la gestion des paysages agricoles. *C R Acad Agric Fr*, **87** : 155-163.

Baudry O., Bourgery C., Guyot G., Rieux R. (2000). *Les haies composites réservoirs d'auxiliaires*. CTIFL, Paris.

Boiffin J., Malézieux E., Picard D. (2001). Cropping Systems for the Future. *In* Nösberger J., Geiger H.H., Struik P.C. *Crop Science: Progress and Prospects*. Cab, Wallingford (UK), 261-279.

Boller E.F., Avilla J., Gendrier J.P., Jörg E., Malavolta C. (1998). Integrated plant protection in the context of a sustainable agriculture. *IOBC wprs Bull/Bull OILB srop*, **21** : 19-22.

Bommarco R., Ekbom B. (2000). Landscape management and resident generalist predators in annual crop systems. *In* Ekbom B., Irwin M.E., Robert Y. *Interchanges of Insects between Agricultural and Surrounding Landscapes*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 169-182.

Booij K. (2003). Dynamics of *Thrips tabaci* in diversified agro-ecosystems, a modeling approach. *IOBC wprs Bull/Bull OILB srop*, **26** : 19-24.

Bramble B.J., 1989. An environmentalist's view of pest management and the Green Revolution. *Trop Pest Manag*, **35** : 228-230.

Bugg R.L., Pickett C.H. (1998). Introduction : Enhancing Biological Control – Habitat Management to Promote Natural Enemies of Agricultural Pests. *In* Pickett C.H., Bugg R.L. *Enhancing Biological Control. Habitat Management to Promote Natural Enemies of Agricultural Pests*. Univ. California Press, USA, 1-23.

Bugg R.L., Anderson J.H., Thomsen C.D., Chandler J. (1998). Farmscaping in California: Managing Hedgerows, Roadside and Wetland Plantings, and Wild Plants for Biointensive Pest Management. *In* Pickett C.H., Bugg R.L. *Enhancing Biological Control. Habitat Management to Promote Natural Enemies of Agricultural Pests*. Univ California Press, USA, 339-374.

Buhler D.D., Libman M., Obrycki J.J. (2000). Theoretical and practical challenges to an IPM approach to weed management. *Weed Sci*, **48** : 274-280.

Burel F., Baudry J. (1999). *Écologie du paysage. Concepts, méthodes et applications*. Lavoisier Tec & Doc, Paris.

Burel F., Baudry J., Delettre T., Petit S., Morvan N. (2000). Relating insect movements to farming systems in dynamic landscapes. *In* Ekbom B., Irwin M.E., Robert Y. *Interchanges of Insects between Agricultural and Surrounding Landscapes*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 5-32.

Christensen N.L., Bartuska A.M., Brown J.H., Carpenter S., D'Antonio C., Francis R., Franklin J.F., MacMahon J.A., Noss R.F., Parsons D.J., Peterson C.H., Turner M.G., Woodmansee R.G. (1996). The Report of the Ecological Society of America Committee on the Scientific Basis for Ecosystem Management. *Ecol Appl*, **6** : 665-691.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Cook R.J. (2000). Advances in plant health management in the twentieth century. *Annu Rev Phytopathol*, **38** : 95-116.

Corey S.A., Dall D.J., Milne W.M. (1993). *Pest Control and Sustainable Agriculture*. CSIRO, Australia.

CropLife International (2003). Integrated Pest Management – the way forward for the plant science industry. http:// www.croplife.org

Deffontaines J.P. (2001). Introduction. Une agronomie en questionnement. *C R Acad Agric Fr*, **87** : 115-119.

Delattre P., De Sousa B., Ficher-Calvet E., Quéré J.-P., Giraudoux P. (1999). Vole outbreaks in a landscape context: evidence from a six year study of *Microtus arvalis*. *Landscape Ecol*, **14** : 401-412.

Dennis P., Fry G.L.A., Andersen A. (2000). The impact of field boundary habitats on the diversity and abundance of natural enemies in cereals. *In* Ekbom B., Irwin M.E., Robert Y. *Interchanges of Insects between Agricultural and Surrounding Landscapes*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 195-214.

Dorst J. (1969). *Avant que nature meure*. Delachaux Niestlé, Paris.

Dron D., Ferron P. (2003). Diversité biologique et agriculture : fonctions et enjeux. *Dossiers de l'environnement de l'INRA*, **23** : 153-178.

Duelli P., Obrist M. (1995). Comparing surface activity and flight of predatory arthropods in a 5 km transect. *In* Toft S., Riedel W. *Arthropod natural enemies in arable land. I. Density, spatial heterogeneity and dispersal Acta Jutlandica*, 70 Aarhus University Press, Denmark, 283-293.

Ekbom B., Irwin M., Robert Y. (2000). *Interchanges of Insects between Agricultural and Surrounding Landscapes*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

EISA (2001). *A common Codex for integrating farming*. www.farre.org/infos/infos_publications.htm

FAO (1967). Report of the first session of the FAO panel of experts on integrated pest control. Rome, September 18-22 1967. Rome : FAO-UN, 1968. Meet Rep PL/1967/M/7, 19 p.

Feret S., Douguet J.-M. (2001). Agriculture durable et agriculture raisonnée. Quels principes et quelles pratiques pour la soutenabilité du développement en agriculture ? *NSS*, **9** : 58-64.

Ferron P. (1999). Protection intégrée des cultures : évolution du concept et de son application. *Cahiers Agricultures*, **8** : 386-396.

Ferron P. (2002). Protection des cultures : éléments de prospectives. *ADALIA-Bull. inf. tech. Club Protection Raisonnée*, **50** : 2-7.

Finckh M.R., Wolfe M.S. (1997). The Use of Biodiversity to Restrict Plant Diseases and Some Consequences for Farmers and Society. *In* Jackson L.E. *Ecology in Agriculture*. Academic Press, San Diego, 203-237.

Forman R.T.T. (1997). *Land Mosaics*. Cambridge University Press, Cambridge.

Frontier S., Pichod-Viale D. (1995). *Écosystèmes : structure, fonctionnement, évolution*. Masson, collection d'écologie n° 21, 2e édition, Paris.

Griffon M. (1996). *Vers une Révolution Doublement Verte*. Actes du séminaire du 8 et 9 novembre 1995, Futuroscope, Poitiers. CIRAD, Nogent-sur-Marne.

Gurr G.M., Wratten S.D., Irvin N.A., Hossain Z., Baggen L.R., Mensah R.K., Walker P.W. (1998). Habitat manipulation in Australasia : recent biological control progress and prospects for adoption. *In* Zalucki M.P., Drew R.A.I., White G.G. *Pest Management. Future Challenges*. Proceedings of the Sixth Australasian Applied Entomological research Conference. The University of Queensland, Brisbane, Australia, Vol 2, 225-235.

Häni F.J., Boller E.F., Keller S. (1998). Natural Regulation at the Farm Level. *In* Pickett C.H., Bugg R.L. *Enhancing Biological Control. Habitat Management to Promote Natural Enemies of Agricultural Pests*. Univ California Press, USA, 161-210.

Holland J.M. (2002). Integrated Farming Systems. *In* Pimentel D. *Encyclopedia of Pest Management*. Marcel Dekker, New York, 410-412.

Hunter M.D. (2002). Landscape structure, habitat fragmentation, and the ecology of insects. *Agric Forest Entomol*, **4** : 159-166.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Kogan M. (2002). Areawide pest management. *In* Pimentel D. *Encyclopedia of Pest Management.* Marcel Dekker, New York, 28-32.

Kruess A., Tscharntke T. (2000). Effects of habitat fragmentation on plant-insect communities. *In* Ekbom B., Irwin M.E., Robert Y. *Interchanges of Insects between Agricultural and Surrounding Landscapes.* Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 53-70.

Landis D.A., Marino P.C. (1999). Landscape Structure and Extra-Field Processes: Impact on Management of Pests and Beneficials. *In* Ruberson J.R. *Handbook of Pest Management.* Marcel Dekker, New York, 79-104.

Landis D.A., Wratten S.D., Gurr G.M. (2000). Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. *Annu Rev Entomol*, **45** : 175-201.

Leakey R.R.B. (1999). Agroforestery for Biodiversity in Farming Systems. *In* Collins W.W., Qualset C.O. *Biodiversity in Agroecosystems.* CRC Press, Boca Raton, 127-145.

Letourneau D.K. (1990). Two Examples of Natural Enemy Augmentation: A Consequence of Crop Diversification. *In* Gliessman S.R. *Agroecology. Researching the Ecological Basis for Sustainable Agriculture.* Springer Verlag, *Ecological Studies*, **78** : 11-29.

Letourneau D.K. (1997). Plant-Arthropod Interactions in Agroecosystems. *In* Jackson L.E. *Ecology in Agriculture.* Academic Press, San Diego, 239-290.

Letourneau D.K., Altieri M.A. (1999). Environmental Management to Enhance Biological Control in Agroecosystems. *In* Bellows T.S., and Fisher T.W. *Handbook of Biological Control. Principles and Applications of Biological Control.* Academic Press, San Diego, 319-354.

Leung H., Zhu Y., Revilla-Molina I., Fan J.X., Chen H., Pangga I., Vera Cruz C. and Mew T.W. (2003). Using Genetic Diversity to Achieve Sustainable Rice Disease Management. *Plant Dis*, **87** : 1156-1169.

Lévêque C., Mounolou J.-C. (2001). *Biodiversité. Dynamique biologique et conservation.* Dunod, Paris.

Liebman M., Gallandt E.R. (1997). Many Little Hammers: Ecological Management of Crop-Weed Interactions. *In* Jackson L.E. *Ecology in Agriculture.* Academic Press, San Diego, 291-343.

Lys J.A. (1994). The positive influence of strip-management on ground beetles in a cereal field: increase, migration and overwintering. *In* Desender K., Dufrene M., Loreau M., Luff M.L., Maelfait J.P. *Carabid Beetles: Ecology and Evolution.* Kluwer, Dordrecht, 451-455.

Marino P.C., Landis D.A. (1996). Effect of landscape structure on parasitoid diversity and parasitism in agroecosystems. *Ecological Appl*, **61** : 276-284.

McLaughlin A., Mineau P. (1995). The impact of agricultural practices on biodiversity. *Agric Ecosyst Environ*, **55** : 201-212.

Meerman F., van de Veen G.W.J., van Heulen H., Breman H., 1996. Integrated crop management: an approach to sustainable agricultural development. *Int J Pest Manage*, **42** : 13-24.

Mensah R.K. (1999). Habitat diversity: implications for the conservation and use of predatory insects of *Helicoverpa spp.* in cotton in Australia. *Int J Pest Manage*, **45** : 91-100.

Meynard J.-M. (1998). La modélisation du fonctionnement de l'agrosystème, base de la mise au point d'itinéraires techniques et de systèmes de culture. *In* Biarnes A. *La conduite du champ cultivé : point de vue d'agronomes.* ORSTOM, Paris, 30-54.

Meynard J.-M., Doré T., Habib R. (2001). L'évaluation et la conception de systèmes de culture pour une agriculture durable. *C R Acad Agric Fr*, **87** : 223-226.

Norris R.F., Kogan M. (2000). Interactions between weeds, arthropods pests, and their natural enemies in managed ecosystems. *Weed Sci*, **48** : 94-158.

NRC (1996). *Ecologically Based Pest Management. New Solutions for a New Century.* National Academy Press, Washington.

OILB (1977). *Vers la production intégrée par la lutte intégrée. IOBC wpr Bull/Bull OILB srop*, **4**, 163 p.

Papy F. (2001). Pour une théorie du ménage des champs : l'agronomie des territoires. *C R Acad Agric Fr*, **87** : 139-149.

Parajulee M.N., Slosser J.E. (1999). Evaluation of potential relay strip crops for predator enhancement in Texas cotton. *Int J Pest Manage*, **45** : 275-286.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Parrella M.P., Stengard Hansen L., van Lenteren J. (1999). Glasshouse Environments. *In* Bellows T.S., Fisher T.W. *Handbook of Biological Control. Principles and Applications of Biological Control*. Academic Press, San Diego, 819-840.

Perkins J.H. (1982). *Insects, Experts, and the Insecticide Crisis. The quest for new pest management strategies*. Plenum Press, New York.

Pope de Valavieille C. (2003). Gestion de la diversité des résistances variétales au sein d'une espèce et d'une parcelle : contrôle d'épidémies. *C R Acad Agric Fr*, **89** : 4-5.

Russel E.P. (1989). Enemies Hypothesis: A Review of the Effect of Vegetational Diversity on Predatory Insects and Parasitoïds. *Environ Entomol*, **18** : 590-599.

Root R.B. (1973). Organization of a plant-arthropod association in simple and diverse habitat: The fauna of collards (*Brassica oleracea*). *Ecol Monogr*, **43** : 95-124.

Rossing W.A.H., Poehling H.M., Burgio G. eds (2003). Landscape Management for Functionnal Biodiversity – Gestion de l'Environnement pour une Biodiversité Fonctionnelle. *IOBC wprs Bull/Bull OILB srop*, **26**, 220 p.

Sankaram A. (1999). Integrated pest management: Looking back and forward. *Curr Sci India*, **77** : 26-32.

Sebillotte M. (1990). Systèmes de culture, un concept opératoire pour les agronomes. *In* Combe L., Picard D., *Les systèmes de culture*. INRA Éditions, Paris, 165-196.

Shea K. and the NCEAS Working Group on Population Management (1998). Management of populations in conservation, harvesting and control. *Tree*, **13** : 371-375.

Sheehan W. (1986). Response by Specialist and Generalist Natural Enemies to Agroecosystem Diversification: A Selective Review. *Environ Entomol*, **15** : 456-461.

Studer S., Eggenschwiler L., Jacot K. (2003). Ecological compensation areas – the Swiss approach to enhance faunistic and floristic diversity in agricultural landscapes. *IOBC wprs Bull/Bull OILB srop*, **26** : 151-156.

Swaminathan M.S. (1993). Perspectives for crop protection in sustainable agriculture. *In* Chadwick D.J., Marsh J. *Crop Protection and Sustainable Agriculture*. Ciba Foundation Symposium. J. Wiley & Sons, Chichester, 257-272.

Symondson W.O.C., Sunderland K.D., Greenstone M.H. (2002). Can Generalist Predators be Effective Biocontrol Agents? *Annu Rev Entomol*, **47** : 561-594.

Thiault J., Mestres R., Larguier M. (1992). L'évolution de la politique française de protection des plantes des 50 dernières années. *In* Van Lenteren J.C., Minks A.K., and de Ponti O.M.B. *Biological control and integrated crop protection: towards environmentally safer agriculture*. Pudoc Scientific Publishers, Wageningen, 165-171.

Thomas M.B., Wratten S.D., Sotherton N.W. (1991). Creation of "island" habitats in farmland to manipulate populations of beneficial arthropods: predator densities and emigration. *J Appl Ecol*, **28** : 906-917.

Trenbath B.R. (1993). Intercropping for the management of pests and diseases. *Field Crop Res*, **34** : 381-405.

Tscharntke T., Kruess A. (1999). Habitat fragmentation and biological control. *In* Hawkins B.A., Cornell H.V. Theoretical Approaches to Biological Control. Cambridge University Press, UK.

Tshernyshev W.B. (2003). Why do outbreaks of pests in agroecosystem arise? *IOBC wprs Bull/Bull OILB srop*, **26** : 179-184.

Van Alebeek F.A.N., Kamstra J.H., Venhorst B., Visser A.J. (2003). Manipulating biodiversity in arable farming system for better pest suppression: which species at what scale? *IOBC wprs Bull/Bull OILB srop*, **26** : 185-190.

Vandermeer J. (1995). The ecological basis of alternative agriculture. *Annu Rev Ecol Syst*, **26** : 201-224.

Vandermeer J., van Noordwijk M., Anderson J., Ong C., Perfecto I. (1998). Global change and multispecies agroecosystems: Concepts and issues. *Agric Ecosyst Environ*, **67** : 1-22.

Vereijken P. (1997). A methodical way of protyping integrated and ecological arable farming systems (I/EAFS) in interaction with pilot farms. *Eur J Agron*, **7** : 235-250.

Verkerk R.H.J., Leather S.R., Wright D.J. (1998). The potential for manipulating crop-pest-natural enemy interactions for improved insect pest management. *Bull Entomol Res*, **88** : 493-501.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Wratten S.D., van Emden H.F., Thomas M.B. (1998). Within-field and Border refugia for the Enhancement of Natural Enemies. *In* Pickett C.H., Bugg R.L. *Enhancing Biological Control. Habitat Management to Promote Natural Enemies of Agricultural Pests*. Univ. California Press, USA, 339-374.

Wratten S., Lavandero B., Scarratt S., Vattala D. (2003). Conservation biological control of insect pests at the landscape scale. *IOBC wprs Bull/Bull OILB srop*, **26** : 215-220.

Yoccoz N.G., Nichols J.D., Boulinier T. (2001). Monitoring of biological diversity in space and time. *Tree Physiol*, **16** : 446-453.

Zadoks J.C. (1991). A hundred and more years of plant protection in the Netherlands. *Neth J Plant Pathol*, **97** : 3-24.

Zadoks J.C. (1993). Crop Protection: Why and How. *In* Chadwick D.J., Marsh J. *Crop Protection and Sustainable Agriculture*. J. Wiley & Sons, New York, 48-55.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

16

Gestion agroécologique des populations d'insectes piqueurs suceurs en culture cotonnière

Jean-Philippe Deguine, Pierre Ferron

Au cours des dernières décennies, les problèmes entomologiques rencontrés en agriculture ont été marqués par deux phénomènes majeurs, liés à l'intensification de la production et plus particulièrement à un recours croissant aux intrants (engrais, produits phytosanitaires). On a en effet observé, d'une part, que certains ravageurs sont devenus résistants aux insecticides et, d'autre part que, d'autres insectes, ayant jusqu'alors une incidence mineure sur les rendements et la qualité de la production, ont acquis rapidement une importance économique notable. Dans la plupart des cas, le contrôle de leurs pullulations n'a pu être assuré d'une façon satisfaisante avec les moyens de lutte courants.

La culture du cotonnier (*Gossypium hirsutum*) ne fait pas exception à ce constat général. Ainsi, on a enregistré des phénomènes de résistance aux insecticides, aujourd'hui généralisés, chez certains Lépidoptères ravageurs importants des organes fructifères du cotonnier, tels les *Noctuidae Helicoverpa armigera*, *Heliothis virescens* et *Spodoptera spp.* ; de même certains Hémiptères, tels le puceron *Aphis gossypii* et l'aleurode *Bemisia tabaci*, sont récemment devenus des ravageurs majeurs du cotonnier dans diverses régions du monde. Cette situation phytosanitaire nouvelle a donc alerté les praticiens, aussi bien que les chercheurs.

La présente mise au point a pour objet le changement de statut de ces ravageurs piqueurs suceurs en culture cotonnière. Dans une première partie, elle rappelle leurs caractéristiques biologiques et les dégâts qu'ils occasionnent aux cultures, puis retrace l'évolution des techniques de lutte mises en œuvre. Dans une deuxième partie, elle donne une analyse des raisons des pullulations de ces nouveaux ravageurs et inventorie les principaux paramètres à prendre en compte pour permettre, à terme, une gestion durable de leurs populations. Dans une troisième et dernière partie, elle propose enfin la démarche phytosanitaire à suivre, tant au plan technique

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

que stratégique, pour résoudre le problème de protection des cultures ainsi posé. Même si on rencontre, dans le monde, une grande diversité de situations agroécologiques de la culture du cotonnier, les éléments présentés dans cette mise au point, empruntés notamment à la culture paysanne africaine, ont permis de formuler des recommandations d'une portée générale, susceptibles d'être appliquées, sinon à toutes les régions cotonnières, du moins à la majorité d'entre elles.

1. *Évolution des niveaux de populations des insectes piqueurs suceurs et des techniques de protection employées*

1.1. Principales caractéristiques d'*A. gossypii* et *B. tabaci*

A. gossypii et *B. tabaci*, connus depuis longtemps sur cotonnier, ont fait l'objet de synthèses assez complètes (Butler et Hennebery, 1994 ; Leclant et Deguine, 1994), desquelles sont tirées les caractéristiques qui suivent. Géographiquement, ils sont distribués dans la plupart des régions cotonnières du monde. Ce sont des ravageurs très polyphages, qui ont une gamme très élevée de plantes hôtes. On en connaît pour *A. gossypii* plus d'un millier (Inaizumi, 1980) et pour *B. tabaci* plus de 500 (Greathead, 1986). En fonction des conditions, ces insectes sont donc susceptibles de passer assez facilement d'une culture à une autre, comme d'une plante à une autre. Ce sont en outre des ravageurs capables d'augmenter rapidement leurs effectifs (Deguine et Leclant, 1997).

Par ailleurs, ils sont doués d'une extraordinaire capacité d'adaptation au milieu. Ils peuvent coloniser rapidement la plante qu'ils infestent, les plantes d'une parcelle, de nouvelles plantes hôtes environnantes, et ils peuvent adapter leur cycle biologique et leur mode de reproduction. Leur dynamique peut être exponentielle, aussi bien dans l'espace que dans le temps. De plus, ils sont capables de développer rapidement des résistances aux insecticides.

Ils présentent aussi une diversité morphologique remarquable et montrent une variabilité intraspécifique maintenant bien connue. C'est le cas pour le puceron, avec l'existence possible de clônes d'origines différentes dans une même parcelle. C'est bien sûr le cas au sein du complexe d'espèces *Bemisia tabaci*, avec de nombreux biotypes. L'un d'entre eux, le biotype B est apparu dans les années 80 aux États-Unis, et il est maintenant largement réparti sur la planète. Ces biotypes présentent des caractéristiques biologiques qui les différencient les uns des autres (par exemple pour le biotype B) (Perring, 2001).

Les dégâts dus aux pucerons et aux aleurodes sont de trois types (Deguine *et al.*, 1994 et 2000 ; Nibouche *et al.*, 1998) : des dégâts trophiques, directement liés aux piqûres des insectes ; des dégâts technologiques, avec les miellats qui souillent le coton graine en fin de campagne et qui rendent le « coton collant » ; des dégâts

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

phytopathologiques, par la transmission de maladies (on connaît plus de 70 viroses transmises par *B. tabaci*) (Hunter et Polston, 2001).

1.2. Analyse rétrospective de la protection utilisée

Avant les années 80, ces insectes étaient peu nombreux et n'avaient en général pas d'incidence économique (Leclant et Deguine, 1994 ; Nibouche *et al.*, 1998). Ils avaient un statut de ravageurs secondaires et ne nécessitaient pas de lutte spécifique. Signalons malgré tout que les modalités de la protection (notamment les techniques d'application de volumes importants à l'hectare et les matières actives utilisées) assuraient non seulement un bon contrôle des ravageurs des organes fructifères, mais qu'elles n'étaient pas non plus sans effet sur des insectes piqueurs suceurs, ce qui pouvait contribuer à maintenir les populations à un niveau tolérable.

Dans les années 80, les problèmes rencontrés avec les insectes piqueurs suceurs, qu'il s'agisse de collage de la fibre ou de diffusion de viroses, ont poussé les acteurs des filières cotonnières à envisager une lutte dirigée contre eux. Ses modalités ont été tout simplement calquées sur celles appliquées aux ravageurs des organes fructifères : technique de traitement avec de faibles volumes à l'hectare, programmes d'intervention sur calendrier (protection conseillée), utilisation de pyréthrinoïdes auxquels on ajoutait des matières actives aphicides et aleurodicides (notamment des organophosphorés et des carbamates). Cette lutte ne s'est pas révélée satisfaisante et les problèmes dus aux piqueurs suceurs n'ont fait que croître.

Vis-à-vis des pucerons et aleurodes, les années 90 ont été marquées par plusieurs aspects :

– le développement de la lutte chimique raisonnée : diversification des matières actives, augmentation des volumes épandus à l'hectare (mais souvent ne dépassant pas 10 $L.ha^{-1}$), utilisation de seuils d'intervention ;

– la poursuite des recherches sur d'autres techniques de lutte et leur développement en conditions agricoles. Par exemple, on a développé le traitement de semences aphicide ou aleurodicide (contre les infestations précoces avant la floraison et le début du programme de protection) ou encore l'utilisation de variétés, de techniques culturales visant à mieux lutter contre les insectes piqueurs suceurs, mais toujours insérées dans un cadre de lutte chimique.

Malgré tout, les dégâts des insectes se sont encore aggravés, les problèmes ont continué de s'amplifier et l'efficacité de cette protection s'est également révélée non satisfaisante (Deguine *et al.*, 1994 et 2000) : apparition de nouvelles maladies, généralisation des phénomènes de résistance aux insecticides, incidence accrue des infestations sur la production, pullulation de pucerons en début de cycle, augmentation du nombre de biotypes d'aleurodes aux caractéristiques particulières, accentuation du phénomène de collage à l'échelle planétaire.

Le bilan de la protection contre les insectes piqueurs suceurs peut être fait sans concession. On doit d'abord reconnaître que les mesures de lutte contre ces ravageurs ont été prises dans l'urgence, sans connaissances ni recul suffisants, en se

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

basant sur la lutte contre d'autres ravageurs aux caractéristiques différentes, dans un contexte de lutte chimique contre les ravageurs. Il était donc légitime de s'interroger sur les pratiques employées. On se situe aujourd'hui dans une approche différente, celle du développement durable, notamment avec une prise en compte d'autres critères que les aspects socio-économiques, notamment ceux de la durabilité, d'un meilleur respect de l'environnement et d'une préservation de la biodiversité.

2. *La situation phytosanitaire actuelle : analyse, conséquences et perspectives*

2.1. Les raisons du changement de statut de ces nouveaux ravageurs

Les niveaux d'abondance des populations d'insectes piqueurs suceurs en culture cotonnière dépendent directement de facteurs abiotiques, comme le climat, et ils interagissent avec l'environnement végétal et les biocénoses environnantes (figure 1). Les récentes pullulations de ces insectes sont la conséquence d'une rupture de l'équilibre établi auparavant entre eux, leur environnement et leur cortège d'ennemis naturels. Les raisons de ce déséquilibre sont évoquées ci-dessous, sans qu'il soit aisément possible ni de les hiérarchiser ni d'être assuré de leur exhaustivité.

En premier lieu on rappellera les caractéristiques bio-écologiques déjà évoquées de ces insectes. On soulignera en outre la forte variabilité intraspécifique de ces

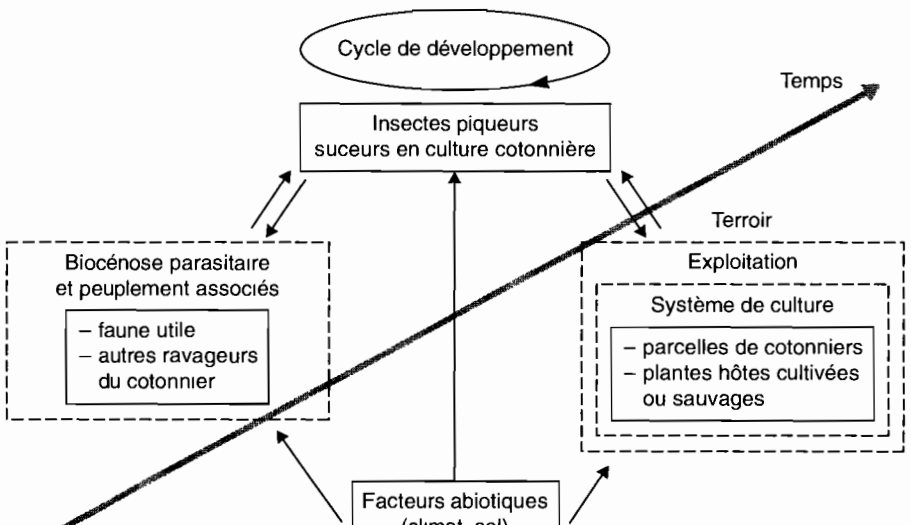


Figure 1 ■ Relations spatio-temporelles entre les insectes piqueurs suceurs (pucerons et aleurodes) et leur environnement (modifié, d'après Audemard, 2003).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

deux espèces (clones chez le puceron, biotypes chez l'aleurode), facteur favorable à leur adaptation à des conditions environnementales modifiées ou différentes. La destruction des populations de leurs ennemis naturels par des applications de pesticides peu spécifiques est par ailleurs un élément favorable à leurs pullulations.

Il convient sans doute d'évoquer également l'évolution des facteurs abiotiques de l'environnement, en particulier le déficit pluviométrique observé dans de nombreuses régions tropicales depuis les années 70. Or, il est établi que ce facteur climatique, associé à des températures élevées, est favorable au développement des insectes piqueurs suceurs (Leclant et Deguine, 1994).

L'évolution des pratiques agricoles est également à prendre en considération. L'augmentation des surfaces cotonnières et le développement d'autres cultures, comme les cultures maraîchères, ont sensiblement accru la ressource alimentaire offerte aux pucerons et aleurodes. Cette évolution a eu un effet à tous les niveaux, local, régional et continental, sans connaître de rupture dans le temps.

L'évolution des itinéraires techniques, des pratiques culturales et des modalités de protection phytosanitaire a contribué également à la rupture de l'équilibre préexistant dans l'entomofaune :

– l'augmentation des doses d'engrais minéraux, en particulier azotés, assure la production d'une masse foliaire importante et d'excellente qualité nutritive, favorable à l'implantation de populations importantes d'insectes piqueurs suceurs ;

– les techniques de traitement phytosanitaire à faible volume à l'hectare (ultra bas volume et très bas volume), qu'il s'agisse de pulvérisations par moyens aériens, terrestres ou manuels, n'assurent pas un recouvrement suffisant de la face inférieure des feuilles, et ne sont donc pas adaptées à la lutte contre les ravageurs qui y vivent (pucerons, aleurodes, mais aussi acariens, punaises, etc.). En outre, certaines des matières actives utilisées, comme les pyréthrinoïdes, n'ont qu'une efficacité réduite sur ces insectes en climat tropical ;

– le choix des variétés cultivées n'est sans doute pas le plus favorable à la conservation des populations d'auxiliaires. Lorsqu'elles sont pileuses, pour leur conférer une résistance à d'autres ravageurs comme les *Jassidae*, cette pilosité nuit à l'activité des ennemis naturels des pucerons et aleurodes (Baloch *et al.*, 1982). Ceci peut ainsi rendre ces variétés plus vulnérables aux insectes piqueurs suceurs, les niveaux de populations de leurs prédateurs et parasitoïdes étant réduits. Inversement, lorsque les variétés sont glabres, elles favorisent l'implantation et le développement des populations de piqueurs suceurs. Par ailleurs, certaines variétés ont un fort développement végétatif, notamment pour permettre l'élaboration d'une fibre de qualité dans les capsules, et un indice foliaire élevé, facteurs attractifs pour les insectes phyllophages ;

– l'utilisation massive, et parfois anarchique, de produits insecticides en cultures maraîchères, souvent voisines sinon associées à la culture du cotonnier, et dont les producteurs sont peu encadrés, aggrave le déséquilibre général observé entre les insectes piqueurs-suceurs et leurs ennemis naturels ; en outre ces pratiques sont de nature à favoriser l'apparition de phénomènes de résistance, fréquemment

© Lavoisier - La photocopie non autorisée est un délit

induits par l'intensification des traitements chimiques. Des programmes de gestion de la résistance sont souvent proposés, mais sont aussi assez contraignants pour les praticiens. Palumbo *et al.* (2001) en donnent quelques exemples en ce qui concerne le cas de *B. tabaci*.

2.2. Rompre avec les pratiques ou habitudes passées pour éviter une aggravation de la situation

À défaut de pouvoir mettre en œuvre rapidement les techniques de lutte appropriées, il n'est pas exclu que l'on assiste à une aggravation d'une situation phytosanitaire pourtant déjà considérée comme critique. Ces insectes piqueurs suceurs pourraient bien devenir en effet des ravageurs plus dangereux encore qu'ils ne le sont aujourd'hui, tant par un accroissement supplémentaire de leurs niveaux de pullulation, que par une généralisation de leur résistance aux insecticides, ou par la sélection de biotypes nouveaux, vecteurs de maladies ou de syndromes plus dommageables que ceux qui sont actuellement connus.

Avant leurs récentes pullulations, pucerons et aleurodes étaient en situation d'équilibre écologique avec leurs ennemis naturels, dans des systèmes de culture différents. Les modifications de leur environnement, notamment par des pratiques inadaptées, ont rompu cet équilibre. Il convient donc, en premier lieu, de marquer une rupture dans les démarches et les habitudes adoptées depuis une vingtaine d'années pour lutter contre les nuisances des insectes piqueurs suceurs et empêcher une aggravation du problème. Un tel changement nécessite une évolution des mentalités de l'ensemble des acteurs des filières cotonnières, notamment les chercheurs (accepter de réorienter les axes de recherches), les techniciens (accepter de privilégier des mesures à long terme par rapport aux mesures à court terme) et les producteurs (accepter la présence de ravageurs dans leurs champs).

2.3. Adopter une démarche et des pratiques nouvelles, permettant un retour à une situation d'équilibre

À l'avenir, une gestion raisonnée des agroécosystèmes doit donc avoir pour objectif de ramener les populations de ravageurs potentiels à des niveaux économiquement supportables pour les cultures considérées, tout en tenant compte de considérations environnementales ou sociales (figure 2). Compte tenu des expériences malheureuses du passé, il est devenu nécessaire de gérer ces populations et non plus de les combattre, non seulement en abandonnant le réflexe du recours facile à la protection chimique, mais surtout en anticipant l'apparition du risque grâce à un ensemble de techniques agronomiques impliquant une démarche globale et durable. Les mesures préventives acquièrent ainsi une place prépondérante.

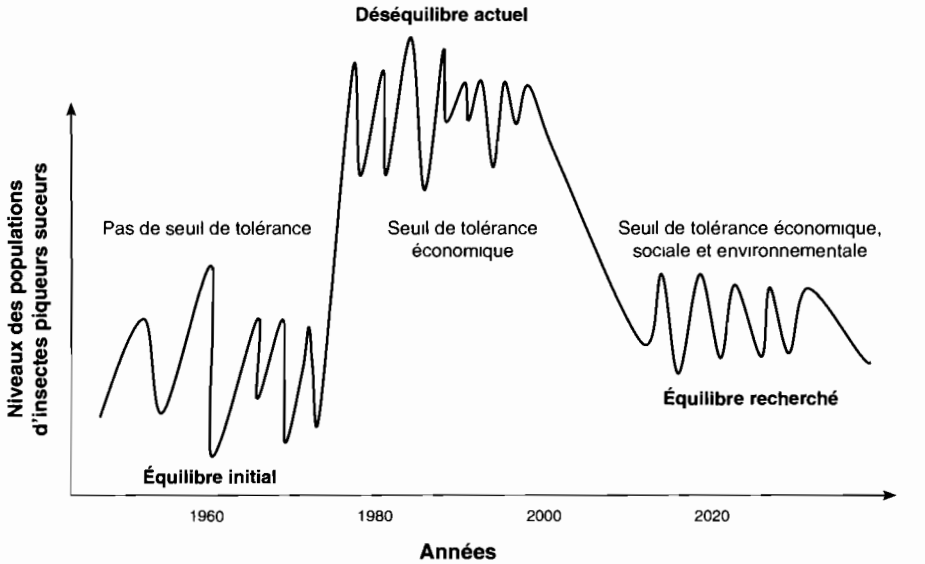


Figure 2 ■ Représentation schématique de l'évolution des situations d'équilibre ou de déséquilibre entre les populations de piqueurs suceurs en culture cotonnière et leur environnement, et de l'évolution des seuils de tolérance pour l'agriculteur.

3. *Stratégie de protection et mesures à mettre en œuvre*

3.1. La démarche et les étapes

À partir de ces observations, expériences et réflexions, les bases d'une gestion durable des populations de ces insectes piqueurs suceurs sont proposées ci-dessous. Elles s'appuient sur le concept de protection intégrée dans le contexte d'une agriculture durable, qui s'efforce de concilier les avantages de deux stratégies différentes. L'une, considérée comme prioritaire, privilégie une approche écologique de la régulation des populations et considère de ce fait l'agroécosystème comme le niveau d'organisation et d'interventions préventives. L'autre repose sur l'emploi curatif, au niveau de la parcelle, de techniques variées, parmi lesquelles les pesticides de synthèse, très efficaces mais peu sélectifs, faciles d'emploi et relativement peu coûteux ne doivent être utilisés qu'en dernier recours.

Il est clair que le succès d'une telle approche ne peut être assuré que par le strict respect d'une démarche unitaire, véritablement intégrée, dont chaque étape doit obligatoirement être conduite à son terme avant de passer à la suivante, ce qui la rend difficile et très contraignante pour le praticien (Ferron, 2003). Une formation de base, une assistance technique et une aide à la décision aussi indépendante que performante lui sont donc nécessaires.

L'étape initiale de cette stratégie intégrée vise à réduire autant que faire se peut les risques phytosanitaires par un ensemble de mesures agrotechniques préventives,

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

actualisées à partir des connaissances les plus récentes sur la dynamique et la gestion des populations. La seconde étape a pour objet le diagnostic de l'état sanitaire de la parcelle et de son environnement, voire de l'ensemble de l'exploitation ou des exploitations concernées par un même système de culture (notion de territoire) et implique donc une connaissance du risque phytosanitaire dans un contexte socio-économique donné. La troisième et dernière étape est de nature curative, visant la mise en œuvre des mesures d'intervention les moins dommageables pour l'environnement (santé humaine et diversité biologique). Il s'agit donc au total d'un véritable cahier des charges visant à assurer la rentabilité et donc la pérennité de l'exploitation, la conservation du potentiel agronomique des sols et la préservation des systèmes biologiques indigènes, suivant le concept de développement durable.

3.2. Les mesures préventives

Ayant pour objet d'éviter les risques phytosanitaires, les mesures préventives visent donc à empêcher les populations d'organismes potentiellement nuisibles aux cultures, de provoquer des dégâts économiquement sensibles. Elles s'appuient sur des techniques agronomiques éprouvées, mais le plus souvent abandonnées au profit d'un recours systématique aux intrants. Rotation des cultures, assolement, choix de variétés résistantes, façons culturales, prophylaxie, fertilisation raisonnée, aménagement des habitats, cultures pièges et intercalaires sont autant de techniques qui visent à créer simultanément des conditions défavorables pour les ennemis des cultures et favorables à leurs antagonistes.

Dans le cas particulier des pucerons et aleurodes des cultures cotonnières, des stratégies préventives peuvent être envisagées aussi bien au niveau de la parcelle que du système de culture, voire de l'exploitation dans son ensemble.

En premier lieu, à l'échelle de la parcelle et du cycle annuel, on peut recourir à une stratégie d'échappement de la plante aux attaques de ses ravageurs piqueurs suceurs, notamment en limitant leur incidence tant au début qu'en fin de campagne, grâce aux techniques suivantes :

– installation aussi rapide que possible de la culture par un semis précoce, de manière à limiter dans le temps la coïncidence des stades physiologiques de la plante, les plus attractifs et les plus sensibles, d'une part et des populations d'insectes d'autre part (Slosser *et al.*, 1992 ; Parajulee *et al.*, 2002). Les techniques favorisant l'installation rapide de la culture sont les systèmes de culture sur couverture végétale (SCV), avec semis direct (Séguy *et al.*, 1998) ou après un travail réduit du sol, solution réduisant d'autant le temps de préparation et d'implantation de la culture (Torrey *et al.*, 2000) ;

– réduction du délai entre le semis et la fructification, suivant la même logique, par différentes techniques telles que :

• le choix de variétés à cycle plus court, à développement végétatif limité, à fructification synchrone et de courte durée,

• un choix judicieux de la densité des semis,

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

- l'enrobage des semences avec des insecticides systémiques,
- l'utilisation de régulateurs de croissance.

De telles solutions sont déjà adoptées dans des situations agroécologiques variées : outre les systèmes de culture sur couverture végétale du Mato Grosso brésilien déjà cités, ceux dits de type UNR (*ultra narrow row*) aux États-Unis (Heitholt *et al.*, 1993) optimisent les interactions entre une haute densité de semis, l'architecture et la taille des plantes en favorisant une récolte mécanique rapide. En Afrique subsaharienne (Lançon *et al.*, 2004), l'installation rapide de la culture dans des conditions pluviométriques pourtant limitantes s'inspire des mêmes principes ;

– réduction du délai d'exposition des capsules déhiscentes aux miellats des pucerons et aleurodes, si besoin par des techniques curatives décrites plus loin, mais aussi par des récoltes précoces ou fractionnées, ou bien encore par le choix de variétés, soit à défoliation rapide, soit facilitant et réduisant le temps des récoltes manuelles (grosses capsules facilitant la cueillette) ou mécaniques (architecture de la plante et fructification groupée) ;

– limitation de la ressource alimentaire offerte aux ravageurs à tout moment de la campagne cotonnière, par la sélection de variétés produisant un feuillage moins appétent et moins nutritif, aussi bien en qualité (couleur ou texture de la feuille, richesse en acides aminés et sucres par exemple) qu'en quantité (indice foliaire, forme et taille des feuilles) ainsi que par une gestion appropriée de la fumure organique (Balasubramanian et Muralibaskaran, 2000), minérale, notamment en azote (Cisneros et Godfrey, 2001 ; Crafts et Brandner, 2002) et de l'approvisionnement en eau. Une bonne gestion des résidus de culture, pouvant héberger les populations de piqueurs suceurs pendant quelques jours, est également recommandée.

À l'échelle du système de culture ou même de l'exploitation, des stratégies préventives peuvent être également préconisées à une échelle spatiale certes différente, en recourant à des pratiques essentiellement agronomiques. Celles-ci ont pour objet de limiter les pullulations de ravageurs tout en favorisant leurs populations d'auxiliaires : le choix des rotations et des assolements, les associations raisonnées de plantes cultivées (Gabr et Sourial, 2001), l'introduction de cultures pièges pour les ravageurs et de plantes refuges pour la faune auxiliaire, les systèmes « *push-pull* », basés sur la répulsion et l'attraction d'insectes dans certains systèmes de cultures (Nielsen, 2001 ; *cf.* chapitre 33), ainsi que la gestion des plantes réservoirs pendant les inter-campagnes, sont autant de voies à explorer.

Enfin, il apparaît évident que de telles méthodes préventives, qu'il est indispensable de privilégier aujourd'hui vis-à-vis des pucerons et des aleurodes, n'ont de sens que si elles sont pérennisées sur un long pas de temps dans une situation donnée.

L'utilisation de cotonniers génétiquement modifiés pour leur permettre d'exprimer des gènes de résistance aux ravageurs s'inscrit logiquement dans une telle démarche préventive. En effet, sous réserve de la confirmation des résultats préliminaires obtenus aux États-Unis avec des variétés exprimant la toxine entomopathogène

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

de *Bacillus thuringiensis* (Shelton *et al.*, 2002), le recours à des variétés de cotonnier génétiquement modifiées pour leur résistance à certains ravageurs (« coton *Bt* » contre les Lépidoptères par exemple) pourrait assurer une réduction sensible des traitements insecticides. Des interrogations sur les possibles pullulations induites de *Miridae* et autres *Pentatomidae* pourraient être levées (Greene et Turnipseed, 1998). Dans ces conditions, on pourrait s'attendre à une réduction de l'incidence des insecticides sur les organismes auxiliaires des insectes piqueurs suceurs, ce qui serait évidemment un résultat favorable à l'efficacité de la lutte biologique exercée par les auxiliaires indigènes. Encore faudrait-il que des programmes de recherche appropriés soient lancés pour mettre cette propriété en évidence, de la même façon qu'il serait non moins nécessaire de démontrer que la diversité biologique globale des biocénoses considérées n'est pas affectée par cette pratique agronomique nouvelle. Cependant, il convient de prendre en compte certaines observations pertinentes, qui montrent que les populations de piqueurs suceurs peuvent augmenter sensiblement et devenir dominantes en culture de cotonniers transgéniques (avec gène *Bt*), aussi bien pour *B. tabaci* (Wilson *et al.*, 1992) que pour *A. gossypii* (Cui et Xia, 2000).

En conclusion, on soulignera l'importance qu'il faut réserver, d'une façon générale, à la dimension spatio-temporelle des facteurs biologiques étudiés pour une gestion raisonnée des peuplements. On ne manquera pas de remarquer, en outre, que la place prépondérante et déterminante ainsi donnée aux mesures préventives dans cette nouvelle stratégie de protection des cultures implique une intégration des démarches des phytiatres et des agronomes, sans doute insuffisamment recherchée jusqu'à présent (Papy, 2001 ; Ferron, 2003). Ces considérations sont parfaitement cohérentes avec les recommandations de Hilje *et al.* (2001), qui donnent aux méthodes agronomiques une place prépondérante dans les perspectives de gestion des populations de *B. tabaci* sur plusieurs cultures.

Une gestion révisée des mauvaises herbes, susceptibles d'être considérées d'une façon positive comme des habitats de la faune auxiliaire associée, en serait sans doute une approche complémentaire prospective (Norris et Kogan, 2000).

3.3. Le diagnostic et l'aide à la décision

Dans un tel contexte, le suivi des populations a une place particulière, puisqu'il permet de déterminer le risque de la manifestation de dégâts sur les cultures. Dans l'hypothèse où ceux-ci seraient effectivement d'une ampleur susceptible de compromettre le bénéfice attendu de la récolte, des interventions curatives deviendraient nécessaires. Dans les pays où l'agriculture est intensive, des systèmes d'avertissement alertent les praticiens quand de tels risques sont prévisibles sur la base de données fournies par un réseau local d'observations. Il revient alors aux agriculteurs eux-mêmes de contrôler l'état sanitaire de chacune de leurs parcelles pour valider ou infirmer cette mise en garde. Cette démarche individuelle implique de mettre à la disposition des praticiens des critères simples de diagnostic, tant pour l'identi-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

fication des insectes nuisibles que pour l'évaluation de leurs effectifs. Ces observations doivent alors être rapportées aux seuils de tolérance économique, établis en principe pour chaque région, en fonction des conditions du marché et de paramètres biologiques et techniques, et au-delà desquels il est nécessaire de déclencher des mesures de lutte directes ou curatives. Cette démarche est considérée comme fondamentale, aussi bien par les adeptes de la protection raisonnée que par ceux de la protection intégrée (Audemard, 2003). Elle implique une éducation et un encadrement des praticiens.

La conception et la mise au point de techniques d'estimation des populations de pucerons et d'aleurodes ont été l'objet de nombreux travaux de recherche. Les solutions proposées concernent aussi bien les formes ailées des aleurodes (Munir et Muhammad, 2002) et des pucerons (Deguine et Leclant, 1996 ; Chu et Henneberry, 1998) que les formes aptères, mobiles ou fixes, larves des pucerons (Slosser *et al.*, 2002), larves et nymphes des aleurodes. La mise en œuvre de ces techniques a permis d'améliorer nos connaissances sur le suivi spatio-temporel des populations étudiées. La compréhension de leur dynamique, en fonction des différents facteurs biotiques et abiotiques, en a été facilitée, tant dans le temps que dans l'espace, favorisant d'autant la mise au point d'une stratégie de protection intégrée de ces ravageurs. En particulier, la mise en évidence des mécanismes de leurs déplacements à différentes échelles, de celle de la parcelle de culture à celle du continent, s'est avérée déterminante pour la gestion de leurs populations.

La mise au point de seuils de tolérance du cotonnier permet bien sûr de porter un diagnostic objectif sur l'état phytosanitaire de la culture et donc de décider ou non de l'opportunité d'interventions curatives raisonnées, aussi bien pour *B. tabaci* (Chu et Hennebery, 1998) que pour *A. gossypii* (Gozé et Deguine, 2000). On utilise à cet effet des critères de niveaux de populations dénombrées *in situ*, mais aussi de proportions relatives de plants ou d'organes végétatifs infestés. Dans la pratique, ce diagnostic est cependant peu employé, en raison du faible impact des techniques de lutte chimique raisonnée sur les populations de ces insectes piqueurs suceurs des cultures cotonnières. Certains modèles d'aide à la décision s'efforcent cependant de prendre en compte ces ravageurs particuliers dans une approche globale de gestion des itinéraires techniques, mais il faut reconnaître que leurs applications sont encore limitées.

3.4. Les mesures curatives

S'il est effectivement nécessaire de recourir à des techniques curatives, les tenants d'une protection raisonnée préconisent de puiser en premier lieu dans l'arsenal des moyens non chimiques, puis, à défaut, dans la gamme des matières actives insecticides dont l'utilisation est autorisée pour effectuer des traitements. Dans ce dernier cas, il est vivement recommandé de choisir la ou les matières actives réputées les moins nuisibles pour l'environnement. On sait malheureusement que dans la plupart des cas, les praticiens ne sont pas réellement en situation de choix, même dans les pays dits développés, ce qui réduit d'autant la portée de cette stra-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

tégie. Pour les autres, adeptes de la protection intégrée, il leur revient de donner la priorité aux mesures alternatives de lutte à leur disposition. Certains accordent de plus en plus de place aux méthodes physiques de lutte : Orozco-Santos *et al.* (2002) pour *A. gossypii* et *B. tabaci*, Vincent *et al.* (2003) de manière plus générale pour les insectes. Tous visent à préserver autant que faire se peut la faune auxiliaire indigène, le recours aux matières actives chimiques n'étant toléré qu'en tout dernier recours ! Or, chacun sait que ces mesures alternatives (lutte biologique ou « *applied biological control* », moyens biotechniques et éthologiques, lutte autocide) sont en nombre limité, le plus souvent adaptées à des conditions biologiques et agronomiques particulières, et trop rarement disponibles (Blum, 2002).

Le cas du cotonnier ne déroge pas à ce constat, même si la plupart des techniques de protection contre les pucerons et les aleurodes sont de nature chimique. Ainsi, l'utilisation de champignons entomopathogènes, de prédateurs ou de parasitoïdes, qui se révèle adaptée à des cultures sous serre ou dans des systèmes de production agricole particuliers, est rarement couronnée de succès dans le cas de la culture cotonnière en plein champ. Les récentes synthèses sur les exemples de contrôle biologique de *B. tabaci* par des champignons (Faria et Wraight, 2001) ou des prédateurs et parasitoïdes (Gerling *et al.*, 2001) ou d'*A. gossypii* en Australie (Waterhouse et Sands, 2001), illustrent bien ce constat. Rappelons enfin que les ennemis naturels des pucerons et des aleurodes sont extrêmement nombreux, qu'il s'agisse de champignons entomopathogènes, de prédateurs, ou de parasitoïdes (Butler et Henneberry, 1994 ; Deguine et Leclant, 1997), mais leur impact devient négligeable si les traitements chimiques aériens sont effectués dans une démarche qui n'est pas raisonnée (Naranjo, 2001). La priorité donnée aux mesures préventives n'en est que plus justifiée, et c'est donc dans ce domaine qu'il est recommandé de s'investir pleinement.

Conclusion et perspectives

Les caractéristiques intrinsèques des pucerons et des aleurodes ainsi que leurs capacités d'adaptation et de réaction aux conditions de culture ont fait de ces insectes des ravageurs majeurs, souvent mal maîtrisés, des systèmes de culture cotonniers. Le changement de leur statut correspond à un déséquilibre biologique entre ces insectes, leur environnement et leur faune auxiliaire, et l'analyse des raisons de ce changement de statut permet d'envisager une gestion enfin raisonnée et durable de ces ravageurs.

Après le constat d'échec des techniques curatives de lutte par application foliaire d'insecticides, une démarche nouvelle, privilégiant nettement la méthode préventive, est proposée (tableau 1). Celle-ci, qui vise le retour à un équilibre biologique, ne s'évalue que sur un pas de temps et une échelle de grande dimension. Elle implique en outre d'avoir une vision globale de gestionnaire des peuplements concernés, aussi bien potentiellement nuisibles qu'utiles, dans une démarche globale suivant le concept de développement durable. Les techniques correspondantes ne

sont que très progressivement mises en œuvre, dans un contexte où la rentabilité immédiate prime encore sur la gestion de l'avenir. Elles sont certes difficiles à appliquer, car elles concernent avant tout des décisions de type agronomique et impliquent un changement de mentalité des utilisateurs, dont le réflexe est souvent de s'en remettre exclusivement à la solution chimique. Dans la démarche exposée, cohérente avec les principes de l'IPM (*integrated pest management*), le recours aux insecticides chimiques constitue la toute dernière étape envisageable. Celui-ci ne peut être acceptable qu'au cas par cas et de manière limitée, sur la base d'une évaluation des populations et des chances objectives de succès du traitement envisagé, aussi bien en ce qui concerne la réduction de l'effectif des populations visées que des risques économiques, environnementaux et sociaux encourus.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau 1 ■ Gestion agro-écologique des populations d'insectes piqueurs suceurs (pucerons et aleurodes) en culture cotonnière.

Mesures réglementaires	
Échelles : internationales, nationales, régionales	
Mesures préventives (indirectes)	
Stratégies : – permettre aux stades sensibles du cotonnier d'échapper aux infestations des insectes piqueurs suceurs – réduire ou diluer les effectifs des insectes piqueurs suceurs – favoriser ou préserver les ennemis naturels	
Échelle : parcelle de coton	Échelle : système de culture, exploitation, terroir
Installation rapide de la culture – semis précoce – systèmes réduisant le temps d'installation (semis direct, minimum tillage) **Réduction du délai entre semis et fructification** – choix de la variété (cycle court, développement végétatif limité, fructification synchrone et courte) – densité de semis – régulateurs de croissance – enrobage de semences – optimisation des interactions (UNR, etc.) **Réduction du délai d'exposition des capsules aux miellats** – récolte précoce – récoltes fractionnées – choix variété (grosses capsules, architecture du plant, fructification synchrone, défoliation rapide) **Limitation de la ressource alimentaire** – choix de la variété (pour feuillage : couleur, texture, forme, taille, indice foliaire, richesse en sucres et acides aminés)	– systèmes de culture pouvant être favorables (SCV, UNR) – cas des cultures génétiquement modifiées – rotations – assolements – forme et taille du parcellaire – prophylaxie – fertilisation raisonnée – aménagement des habitats – résidus de culture – plantes réservoirs d'intercampagne – associations raisonnées – cultures pièges – plantes refuges – juxtaposition de cultures – haies, corridors – systèmes de « *push and pull* »

– gestion de la fumure (organique et minérale) – gestion de l'approvisionnement en eau – gestion des résidus de culture **Autres itinéraires techniques** – cotonniers génétiquement modifiés – gestion de l'enherbement	
Évaluation des risques	
– Surveillance de la culture (parcelle ou groupes de parcelles) – Outils d'aide à la prévision et à la décision – Seuil de tolérance économique, sociale, environnementale	
Mesures curatives (directes)	
– utilisation d'huiles, de détergents naturels – utilisation d'extraits végétaux (ex. : neem) – arrosage ou lavage avec de l'eau – récoltes supplémentaires fractionnées – défoliation, étêtage manuel – lutte chimique raisonnée (dernier recours), • avec des insecticides de synthèses, des huiles ou détergents de synthèses, des défoliants de synthèse pour défolier ou étêter (avec des produits choisis en fonction de critère de moindre incidence écologique : spécificité, toxicité, sélectivité, effets secondaires, respect de l'environnement) • en adoptant de nouvelles techniques d'application (qui remuent le feuillage par exemple et qui permettent d'atteindre les faces inférieures des plantes)	

Références bibliographiques

Audemard H. (2003). Protection raisonnée et protection intégrée des cultures : concept et bases. *Adalia*, **50** : 22-25.

Balasubramanian A., Muralibaskaran R.K. (2000). Influence of organic amendments and inorganic fertilizers on the incidence of sucking pests of cotton. *Madras Agr J*, **87** : 359-361.

Baloch A.A., Soomro B.A., Mallah G.H. (1982). Evaluation of some cotton varieties with known genetic markers for their resistance/tolerance against sucking and bollworm complex. *Turkiye Bitki Koruma Dergisi*, **6** : 3-14.

Blum B. (2002). Méthodes durables de protection des plantes. Sommes nous prêts ? *Actes AFPP – 6e Conférence Internationale sur les Ravageurs en Agriculture*, Montpellier, 4-6 décembre 2002, **2** : 593-598.

Butler G.D., Henneberry T.J. (1994). *Bemisia* and Trialeurodes (*Hemiptera Aleyrodidae*). *In* Matthews G.A., Tunstall J.P. *Insect pests of cotton*. Cabi., Wallingford (UK) : 325-352.

Chu C.C., Henneberry T.J. (1998). Development of a new whitefly trap. *J Cotton Sci*, **2** : 104-109.

Cisneros J., Godfrey L. (2001). Midseason pest status of the cotton aphid (*Homoptera: Aphididae*) in California cotton: Is nitrogen a key factor? *Environ Entomol*, **30** : 501-510.

Crafts Brandner S.J. (2002). Plant nitrogen status rapidly alters amino acid metabolism and excretion in *Bemisia tabaci*. *J Insect Physiol*, **48** : 33-41.

Cui JinJie, Xia JingYuan (2000). Effects of *Bt* (*Bacillus thuringiensis*) transgenic cotton on the dynamics of pest population and their enemies. *Acta Phytoph Sin*, **27** : 141-145.

Deguine J.-P., Gozé E., Leclant F. (1994). Incidence of early outbreaks of the aphid *Aphis gossypii* Glover in cotton growing in Cameroon. *Int J Pest Manag*, **40** : 132-140.

Deguine J.-P., Leclant F. (1996). Description et mode d'emploi d'un dispositif de piégeage des formes ailées du puceron du cotonnier *Aphis gossypii* Glover (*Hemiptera : Aphididae*) au Cameroun. *Ann Soc Entomol Fr*, **32** : 427-443.

Deguine J.-P., Leclant F (1997). *Aphis gossypii* Glover 1877 (*Hemiptera, Aphididae*). CIRAD-CA, Montpellier.

Deguine J.-P., Gozé E., Leclant F. (2000). The consequences of late outbreaks of the aphid *Aphis gossypii* Glover in cotton growing in central Africa. Towards a possible method for the prevention of cotton stickiness. *Int J Pest Manage*, **46** : 85-89.

Faria M., Wraight S.P. (2001). Biological control of *Bemisia tabaci* with fungi. *Crop Prot.*, **20** : 767-778.

Ferron P. (2003). Protection des cultures : éléments de prospective. *Adalia*, **50** : 2-7.

Gabr A.M., Sourial L.S. (2001). Studies on the effect of traditional intercropping cucumber with cotton or kidney bean on aphids and whitefly abundance. *Egypt J Agr Res*, **79** : 431-433.

Gerling D., Alomar O., Arno J. (2001). Biological control of *Bemisia tabaci* using predators and parasitoids. *Crop Prot*, **20** : 779-799.

Gozé E., Deguine J.-P. (2000). Spatial and Probability Distribution of *Aphis gossypii* Infestation in West Africa. Application to Non Random Field Sampling. *Proceedings of the Second World Cotton Research Conference*. Athens (Greece), September 6-12 1998, **2** : 885-886.

Greathead A.H. (1986). Host plants. *In* Cock M.J.W. *Bemisia tabaci. A litterature survey*. CAB/FAO, Wallingford 17-25.

Greene J.K., Turnipseed S.G. (1998). Managing stink bugs in *Bt* cotton. *Proceedings Beltwide Cotton Conferences*, San Diego, USA, vol 2, 1174-1177.

Heitholt J.J., Pettigrew W.T., Meredith W.R. (1993). Growth, boll opening rate and fiberproperties of narrow-row cotton. *Agron J*, **85** : 590-594.

Hilje L., Costa H.S., Stansly P.A. (2001). Cultural practices for managing *Bemisia tabaci* and associated viral diseases. *Crop Prot*, **20** : 801-812.

Hunter W.B., Polston J.E. (2001). Development of a continuous whitefly cell line (*Homoptera: Alyrodidae. Bemisia tabaci* (Gennadius)) for the study of Begomovirus. *J Invertebr Pathol*, **77** : 33-36.

Inaizumi M. (1980). Studies on the life-cycle and polymorphism of *Aphis gossypii* Glover (*Homoptera, Aphididae*). *Special Bulletin of the College of Agriculture, Utsunamiya University*, **37** : 132 p.

Lançon J., Wéry J., Rapidel B., Angokaye M., Ballo D., Brévault T., Cao V., Deguine J.-P., Dugué P., Fadegnon B., Fok M., Gaborel C., Gérardeaux E., Klassou C., Yattara A. (2004). Prototyping cropping systems for specific cotton growing conditions. *Proceedings of the Third World Cotton Research Conference*. Cap Town (South Africa), March 9-13 2003, 657-666.

Leclant F., Deguine J.-P. (1994). Cotton aphids. *In* Matthews G.A., Tunstall J.P. *Insect pests of cotton*. CABI, Wallingford (UK), 285-323.

Munir A., Muhammad A. (2002). Evaluation of different pest scouting methods for monitoring whitefly population in cotton fields at Multan. *Arab J Plant Prot*, **20** : 52-54.

Naranjo S.E. (2001). Conservation and evaluation of natural enemies in IPM systems for *Bemisia tabaci*. *Crop Prot*, **20** : 835-852.

Nibouche S., De Chazeaux R., Deguine J.-P., Martin J., Vaissayre M. (1998). Dégâts dus à l'aleurode *Bemisia tabaci* (Gennadius) en culture cotonnière : évolutions récentes en Afrique de l'Ouest. *Agriculture et Développement*, **20** : 13-18.

Nielsen F. (2001). The Push-Pull system. A viable alternative to *Bt* Maize. *Leisa Magazine*, December 2001 : 17-18.

Norris R.F., Kogan M. (2000). Interactions between weeds, arthropod pests, and their natural enemies in managed ecosystems. *Weed Sci*, **48** : 94-158.

Orozco-Santos M., Farias-Larios J., Lopez-Aguirre J.G. (2002). Evaluacion de coberturas plasticas para el manejo de plagas en el occidente de Mexico. *Manejo Integrado de Plagas*, **64** : 48-54.

Palumbo J.C., Horowitz A.R., Prabhaker N. (2001). Insecticidal control and resistance management for *Bemisia tabaci*. *Crop Prot*, **20** : 739-765.

Parajulee M.N., Slosser J.E., Bordovsky D.G. (2002). Planting patterns affecting the abundance of cotton aphids and bandedwinged whiteflies in dryland cotton. [CD-Rom]. *Proceedings Beltwide Cotton Conference* – January. National Cotton Council, Atlanta.

Papy F. (2001). Pour une théorie du ménage des champs : l'agronomie des territoires. *CR de l'Acad Agric de Fr*, **87** : 139-149.

Perring T.M. (2001). The *Bemisia tabaci* species complex. *Crop Prot*, **20** : 725-737.

Séguy L., Bouzinac S., Maeda E., Maeda N. (1998). Large scale mechanized direct drilling of cotton in Brazil. *The ICAC Recorder, Technical information Section*, **16** : 11-17.

Shelton A.M., Zhao J.Z., Roush R.T. (2002). Economic, Ecological, Food Safety, and Social Consequences of the Deployment of *Bt* Transgenic Plants. *Annu Rev Entomol*, **47** : 845-881.

Slosser J.E., Parajulee M.N., Hendrix D.L., Henneberry T.J., Rummel D.R. (2002). Relationship between *Aphis gossypii* (*Homoptera: Aphididae*) and sticky lint in cotton. *J Econ Entomol*, **95** : 299-306.

Slosser J.E., Pinchak W.E., Frank W.A. (1992). Effect of planting date on cotton aphid and bandedwinged whitefly populations in dryland cotton. *Southwest Entomol*, **17** : 89-100.

Torrey K., Fife H., Leonard B.R., Hutchinson R.L. (2000). Effect of conservation tillage systems on cotton aphid populations *Proceedings of the Second World Cotton Research Conference*. Athens (Greece), September 6-12 1998, 1208-1209.

Vincent C., Hallman G., Panneton B., Fleurat-Lessard F. (2003). Management of Agricultural Insects with Physical Control Methods. *Annu Rev Entomol*, **48** : 261-282.

Waterhouse D.F., Sands D.P.A. (2001). Classical biological control of arthropods in Australia. ACIAR Monograph.

Wilson F.D., Flint H.M., Deaton W.R., Fishhoff D.A., Perlak F.J., Armstrong T.A., Fuchs R.L., Berberich S.A., Parks N.J., Stapp B.R. (1992). Resistance of cotton lines containing a *Bacillus thuringiensis* toxin to pink bollworm (*Lepidoptera: Gelechiidae*) and other insects. *J Econ Entomol*, **85** : 1516-1521.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

17

Le contrôle des rongeurs non commensaux : impasse du tout chimique et perspectives de lutte intégrée

Pierre Delattre, Patrick Giraudoux

Les rongeurs non commensaux rassemblent une diversité d'espèces qui toutes, peu ou prou, constituent une menace potentielle pour les productions agricoles ou forestières. Il s'agit le plus souvent de campagnols (*cf.* encadré « Campagnols responsables de dégâts aux productions agricoles et forestières en France »). Dans quelques cas, les dégâts concernent des édifications humaines telles que digues ou ouvrages d'art, occasionnellement fragilisés par des rongeurs aquatiques (ragondins et rats musqués).

La demande de contrôle des populations de rongeurs est motivée soit par la nécessité de protéger une production, soit par l'augmentation du risque de transmission de maladies communes aux rongeurs et à l'homme (Gratz, 1994 ; Viel *et al.*, 1999). Dans les deux cas, le degré de risque augmente en fonction, soit de changements dans les comportements des rongeurs et/ou de l'Homme, soit de variations dans les niveaux d'abondance des rongeurs. Dans le premier cas, les mesures de prévention relèvent davantage de l'information et de la communication que de l'application de méthodes de lutte répétitives et/ou mal ciblées (Delattre *et al.*, 1998). Dans le second cas, la connaissance des facteurs qui déterminent les variations d'abondance est indispensable pour raisonner et faire évoluer les stratégies de lutte. Sur ce point, l'attente concernant les rongeurs est d'autant plus forte que les méthodes de lutte chimique sont actuellement dans une impasse suscitée par la mortalité d'espèces non-cibles due à des intoxications secondaires. Le problème touche à la fois des espèces gibiers (sanglier, lièvres, lapins) ou réglementairement protégées (castor, vison) consommatrices d'appâts empoisonnés et d'autres, plus nombreuses et consommatrices de rongeurs intoxiqués, participant à la régulation des populations de rongeurs (rapaces, carnivores). La connaissance du fonctionnement des popula-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un delit

tions de rongeurs, de leurs interactions avec l'environnement et des circonstances dans lesquelles elles causent des dégâts apporte des réponses aux problèmes posés.

Hiérarchiquement parlant, les mécanismes qui interviennent de façon prépondérante dans l'augmentation des risques liés aux populations de rongeurs sont ceux qui déterminent leur succès de reproduction, leur dispersion et la survie des individus. Les études concernant la régulation de ces mécanismes par des phénomènes de compétition, de prédation et de parasitisme sont donc concernées en première ligne. Les processus impliqués se déroulent à différentes échelles d'espace et de temps. Le biologiste des populations doit donc prioritairement déterminer comment, à ces différentes échelles, varient les structures spatiales et temporelles des populations de rongeurs et analyser ces variations pour identifier les points de rupture, ou les seuils de déclenchement, à partir desquels apparaissent les risques de dégâts. Cette connaissance fonde les actions préventives intégrables dans une stratégie de développement durable. Elle permet également de poser, dans leur contexte, des hypothèses réalistes sur les processus de régulation et de les tester ensuite par des méthodes appropriées.

Nous nous proposons de montrer successivement comment ces connaissances expliquent les échecs de la lutte chimique et apportent les bases nécessaires à l'élaboration de nouvelles stratégies de lutte.

L'exemple de deux rongeurs des prairies (le campagnol des champs et le campagnol terrestre) et des problèmes qu'ils posent dans deux types de production (herbagère et fruitière) servira d'illustration à cette approche.

Campagnols responsables de dégâts aux productions agricoles et forestières en France

- **En production herbagère** : le campagnol des champs (*Microtus arvalis* Pallas, 1778) et le campagnol terrestre (*Arvicola terrestris* Linnaeus, 1758).
- **En plantation forestière** (semences et jeunes plants) : le campagnol roussâtre (*Clethrionomys glareolus* Schreber, 1780) et le campagnol agreste (*Microtus agrestis* Linnaeus, 1761).
- **En production fruitière** : outre les campagnols des champs, terrestres et agrestes, le campagnol provençal (*Microtus duodecimcostatus* de Sélys-Longchamps, 1839) et occasionnellement le campagnol souterrain (*Microtus subterraneus* de Sélys-Longchamps, 1836).
- **En production maraîchère** : l'ensemble des espèces précitées.

1. *Historique des luttes collectives et limites des méthodes de lutte chimique*

Le potentiel de reproduction des campagnols est considérable. La capacité théorique de multiplication des effectifs du campagnol des champs est probablement la plus élevée de tous les mammifères (tableau 1).

Tableau 1 ■ Potentiel de reproduction et de multiplication du campagnol des champs.

Avril	**1 couple**			
Mai	6 jeunes			
Juin	6 jeunes	**3 couples issus des jeunes nés en mai**		
Juillet	6 jeunes	6 jeunes	**3 couples issus des jeunes nés en juin**	
Août	6 jeunes	6 jeunes	6 jeunes	**3 couples issus des jeunes nés en juillet**
Septembre	6 jeunes	6 jeunes	6 jeunes	6 jeunes
Octobre	6 jeunes	6 jeunes	6 jeunes	6 jeunes
Production d'avril à oct.	**36 individus**	**24 individus**	**18 individus**	**12 individus**
Total				**90 individus**

L'âge à la maturité sexuelle (un à deux mois selon les phases du cycle d'abondance) et la faible durée de gestation (21 jours) du campagnol des champs signent un record chez les mammifères. Selon la situation géographique, la durée de la saison de reproduction varie en France de sept mois (d'avril à octobre sur les hauts plateaux franc-comtois par exemple) à 10 mois (de février à novembre dans les polders vendéens). En Franche-Comté où nous avons étudié cette espèce, les performances reproductrices d'un couple produisent une centaine d'individus au cours de la saison de reproduction, soit un potentiel de multiplication des populations de 50 par saison. Un seul couple par ha au printemps peut dans ces conditions conduire à des densités de 100 individus/ha en automne, en absence de régulation (ce qui peut advenir localement pendant la phase de croissance dans les systèmes à fluctuations périodiques marquées). En Vendée, et avec une saison de reproduction de 10 mois, un seul couple peut être à l'origine de 200 individus/ha dès la fin de la première saison et, en théorie, plus de 20 000 vingt-deux mois plus tard, à la fin de la saison de reproduction suivante.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Chez le campagnol terrestre, des performances reproductrices proches de celles du campagnol des champs, alliées à une saison de reproduction plus longue (10 mois, voire davantage pendant la phase de croissance), conduisent à une production annuelle potentielle proche d'une centaine d'individus par couple.

Les pullulations de campagnols sont connues depuis des siècles et ont été signalées dans différentes régions de France et d'Europe (Delattre *et al.*, 2000). Leur ampleur, parfois considérable, peut concerner plusieurs centaines de milliers d'hectares dans une région. Elles ont rapidement déclenché des actions de luttes collectives. L'une des premières, suscitée par les travaux de l'Institut Pasteur, s'appuya sur des moyens de lutte biologique et des procédés de multiplication d'un bacille typhique murin, mis au point dès la fin du XIX^{e} siècle et provoquant la mort des campagnols cinq ou six jours en moyenne après l'infection (Régnier et Pussard, 1926). Avec l'aide des services agricoles, plusieurs unités de production de ce bacille furent établies directement dans les zones de pullulation. En 1912, un millier de communes, appartenant à 25 départements différents, furent concernées par des traitements à base de « virus Danisz » (nom donné au bacille). En Haute-Normandie, au cours de la période 1924-1926, 80 000 hectares furent traités, une à plusieurs fois, avec un succès apparent. L'utilisation du « virus » se poursuivit après la Première Guerre mondiale mais fut interdite au cours des années 50, suite à plusieurs constats de mortalité chez des animaux domestiques et chez l'homme (au moins un cas certifié par Leetsch, 1948, cité par Pelz et Sturhan, 1996). À cette époque, deux instances, nationale (Commissions d'étude de la toxicité des produits antiparasitaires) et internationale (Organisation mondiale de la santé, OMS) ont proscrit l'expérimentation de tout germe pathogène vis-à-vis des vertébrés (Pelz et Sturhan, 1996).

Au cours des années 60, la fréquence des pullulations du campagnol des champs s'est accrue dans de nouvelles régions (Lorraine et Vendée notamment), tandis que celles d'une espèce voisine et de plus grande taille, le campagnol terrestre (d'un poids moyen de 100 g contre 20 g en moyenne pour le campagnol des champs) se développaient dans différentes régions de moyenne montagne à vocation herbagère (Franche-Comté, Massif Central, Savoie). La prise en charge de cette question par les services de Protection des végétaux (SPV) du ministère de l'Agriculture français conduisit à l'application de méthodes de luttes à large échelle. Les premières campagnes firent appel à des produits chimiques de toxicité élevée, tels que l'arsenic ou le phosphure de zinc. Ces produits présentaient des risques importants pendant la préparation des appâts. Pour cette raison, leur manipulation fut confiée d'abord à des professionnels de santé (pharmaciens), puis, dans le cadre de campagnes de luttes collectives, à des SPV et des organisations professionnelles (Fédérations régionales de défense contre les ennemis des cultures, FREDEC). L'abandon des produits les plus toxiques (phosphure de zinc, etc.) s'est fait au profit de substances moins dangereuses pour le manipulateur : anticoagulants de première génération (chlorophacinone) puis de la seconde (bromadiolone). Il s'est accompagné d'une réglementation et d'un durcissement des conditions d'application des appâts empoisonnés.

Un bulletin d'avertissement agricole, fondé pour la première fois sur l'estimation des niveaux de densité des populations à l'échelle de chaque commune de la région, fut diffusé en Franche-Comté dès le début des années 70. Les campagnes de lutte collective, préconisées au cours des années 80 et 90, concernèrent alors des superficies importantes et croissantes (7 000 ha pendant la pullulation 1980-1981 ; 17 000 ha pendant la pullulation 1991-1993 ; plus de 50 000 ha pour la seule année 1998). Elles se soldèrent par un bénéfice au niveau des récoltes mais par des impacts négatifs sur la faune sauvage, révélés par l'analyse des résidus d'anticoagulants dans des cadavres de prédateurs (Berny *et al.*, 1997 ; Giraudoux *et al.*, 1997). L'ampleur réelle de ces effets secondaires sur les effectifs de populations prédatrices n'a pas pu être évaluée, même si une diminution importante et durable des effectifs de populations de renard a été formellement observée dans les zones traitées (Raoul *et al.*, 2003). Certaines propriétés des anticoagulants expliquent cependant leur impact :

– la demi-vie du produit est estimée à 5-6 jours dans les sillons de distribution ;

– des concentrations de plus de 10 ppm de bromadiolone peuvent être trouvées sur les appâts (blé) plusieurs dizaines de jour après traitement (Trémolières, 2003) ;

– la cinétique de disparition du produit est considérablement ralentie dans les stocks de grains accumulés par les campagnols dans des réserves, cavités drainées et sèches du terrier (Sage, 2004).

Les actions simultanées des associations de protection de la nature et des chasseurs, jointes aux arguments apportés par les scientifiques, ont suscité la remise en cause des méthodes de lutte collective appliquées jusqu'alors.

Deux questions essentielles se sont alors posées :

– sur quelles bases de connaissances peut-on faire évoluer les méthodes de lutte ?

– quelles sont les solutions de substitution ?

Les développements suivants se proposent de répondre respectivement à ces deux questions.

2. *Connaissances nécessaires à l'élaboration des stratégies de lutte*

2.1. Mécanismes adaptatifs et genèse des pullulations

Chez les rongeurs, et au cours de leur évolution, la compétition entre espèces pour le partage des ressources (espace, nourriture, etc.) s'est exercée de façon particulièrement intense. Il en résulte un degré de spécialisation élevé vis-à-vis des milieux qui permet de distinguer des espèces de prairie, forestières, aquatiques, de lisières, etc. Des modes particuliers d'utilisation des ressources définissent un deuxième degré de spécialisation de chaque espèce dans son milieu ; espèces arbo-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

ricoles ou souterraines ; diurnes ou nocturnes ; à régime granivore ou herbivore. Cette organisation permet de réduire davantage encore la pression de compétition interspécifique. De ces adaptations, il résulte que, dans un écosystème donné, la proportion d'habitat favorable à une espèce est régulièrement l'élément déterminant le mode de fonctionnement de ses populations. À l'échelle des paysages, la distinction entre habitats favorables et défavorables et la notion de « source » et de « puits » qui s'appuie sur cette distinction ont été mises à profit pour associer tel type de distribution spatiale d'habitats à l'un ou l'autre des processus de régulation-déstabilisation des populations (Lidicker, 1995).

La figure 1 illustre, à l'aide de situations extrêmes et simplifiées, comment un arrangement spatial paysager peut interférer avec des mécanismes biologiques comme la prédation et la dispersion individuelle.

Dans le premier cas (figure 1, schéma A), l'espace n'est constitué que de prairies favorables au campagnol terrestre (paysage composé uniquement de milieux sources). L'augmentation des densités dans les prairies ne peut pas, dans ce cas, être compensée par la dispersion des individus vers des zones défavorables (puits) et par la mortalité qui en découlerait. Cette situation conduit à une pullulation chronique, rythmée par les seules fluctuations saisonnières d'abondance (déclin hivernal, recrutement printanier et estival).

Dans le deuxième cas (figure 1, schéma B), une surface de milieux défavorables, fonctionnant comme un « puits », existe à proximité des zones favorables (par exemple des cultures annuelles et des labours alternent avec des prairies). L'augmentation de densité dans les prairies est compensée par l'émigration vers les cultures annuelles qui jouent le rôle de « puits » et les variations démographiques sont alors de faibles amplitudes (et d'autant plus faibles que la proportion de milieux de type « puits » est importante par rapport aux milieux « sources »).

Dans le troisième cas (figure 1, schéma C), les milieux favorables jouxtent des structures boisées qui servent de refuges à des prédateurs de type généraliste (renard ; blaireau ; chat ; buse, etc.). Ce type de prédateur est capable d'utiliser d'autres ressources que les campagnols (fruits, autres mammifères, déchets, etc.) quand les populations de campagnols sont en densité trop faibles pour assurer son équilibre énergétique. Une population de prédateurs subsiste donc pendant les phases de faible densité et est toujours présente dans la zone quand les densités de campagnols augmentent à nouveau dans les prairies. Une régulation s'exerce ainsi de façon continue et se traduit par une amplitude des fluctuations pluriannuelles modérée (pics jamais très élevés et faibles densités jamais très basses).

Dans le dernier cas (figure 1, schéma D), les prairies ne jouxtent que des milieux refuges de taille limitée n'hébergeant que des prédateurs de type spécialiste (pierriers, murgers, haies étroites, utilisables seulement par l'hermine et la belette, spécialistes de campagnols). Ces prédateurs sont capables de pénétrer dans les réseaux de galeries et de conduire les populations de campagnols à s'éteindre localement. Pendant les phases d'extinction locale, les prédateurs désertent la zone et sont absents lorsqu'elle est à nouveau colonisée par quelques campagnols. La population

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

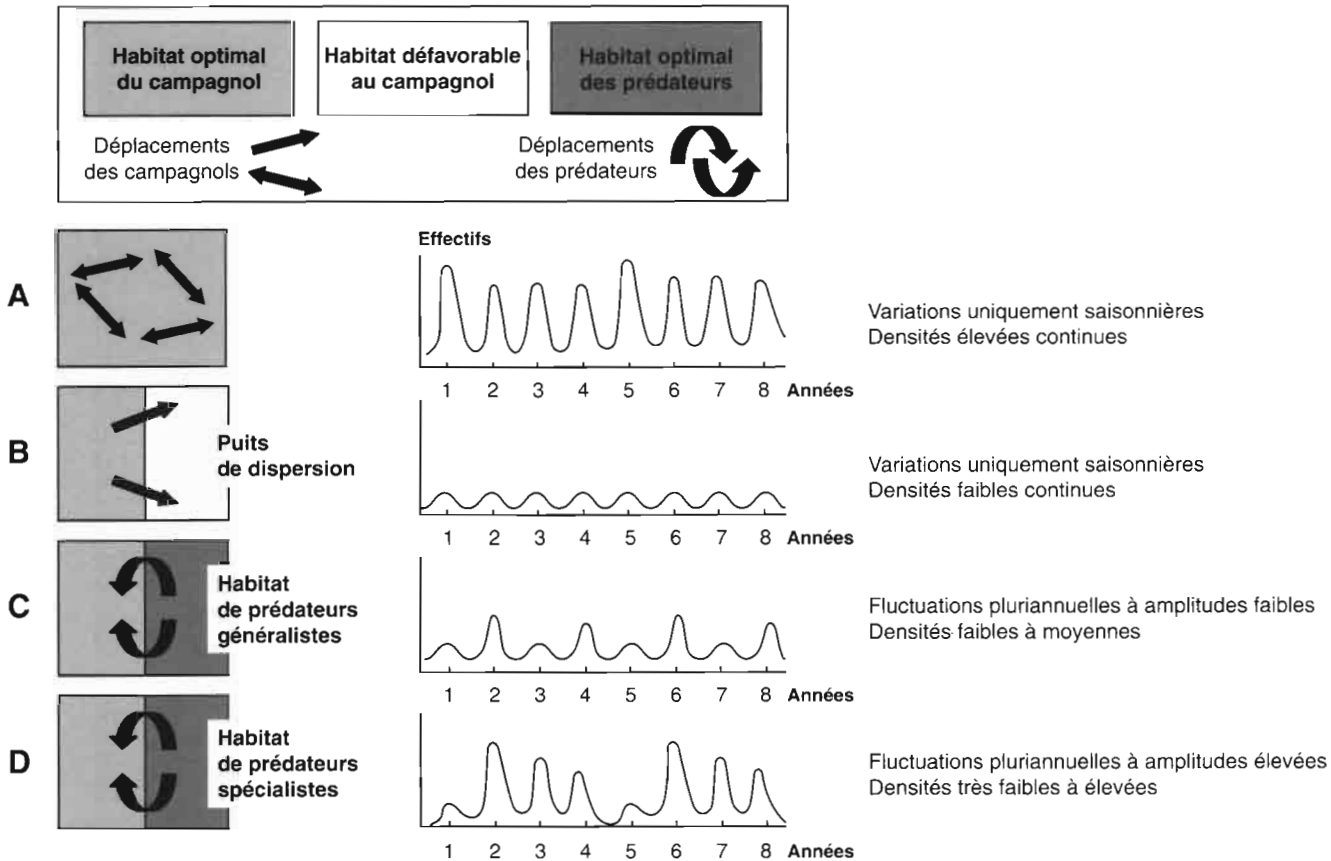


Figure 1 ■ Relations entre habitats et modes de fonctionnement des populations (modifié, d'après Lidicker, 1995).

peut alors se développer de manière exponentielle en exprimant pleinement son potentiel de reproduction. Dans ce cas, le système est fortement déstabilisé. Les extinctions virtuelles (locales) alternent avec des périodes de fortes densités.

2.2. Importance de la proportion d'habitat favorable dans l'environnement

Pour les campagnols de prairie, inféodés aux milieux herbagers, c'est la proportion de surfaces toujours en herbe (STH) dans la matrice paysagère qui détermine le risque de pullulation. Un taux important de STH induit un risque élevé. Le pourcentage de STH dans la surface agricole utile (SAU) est facilement accessible dans les résultats d'enquêtes réalisées pour les recensements généraux agricoles en France ou dans des bases de données thématiques (TerUtil, CORINE Land Cover). Il permet d'établir rapidement une relation entre les différents modes de fonctionnement des populations et les proportions de surfaces en herbe (figure 2).

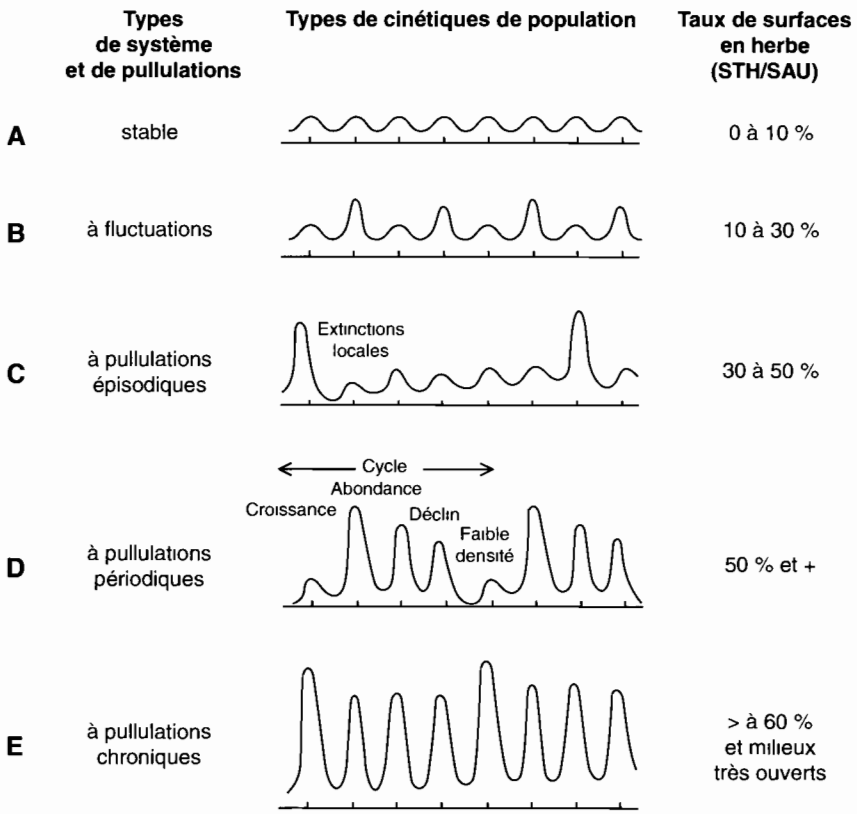


Figure 2 ■ Modes de fonctionnement des populations du campagnol des champs en fonction du taux de surfaces en herbe (= ratio STH/ SAU) (modifié, d'après Delattre *et al.*, 1992).

Chez le campagnol des champs, les mécanismes qui président au développement des pullulations se mettent en place lorsque la part des milieux herbacés dépasse le seuil de 50 % (ratio STH/SAU supérieur à 50 %). À STH égale, ce seuil est plus faible si une part importante de la SAU est consacrée à la production de légumineuses fourragères (trèfle, luzerne, etc.) (Delattre *et al.*, 1992). Il est plus élevé au contraire sous l'influence d'un surpâturage généralisé maintenant le sol compact et l'herbe très rase (cas du Pays basque en France et des prairies du Ningxia et du Gansu, en Chine, pour d'autres espèces similaires par exemple ; Delattre et Giraudoux, observation personnelle).

Pour des niveaux de STH très faibles (0 à 10 % ; figure 2, schéma A), le système est d'abord dans un état stable. Il se caractérise par de très faibles niveaux de densité de population (quelques individus par hectare) et par de faibles variations, uniquement saisonnières.

Un système à fluctuations pluriannuelles se superposant aux variations saisonnières apparaît dès que le seuil de 10 à 30 % de STH est franchi (figure 2, schéma B).

À partir de 30 % de STH, des périodes à niveaux d'abondance élevés surviennent épisodiquement (figure 2, schéma C). Elles conservent le plus souvent un caractère sporadique et ne s'accompagnent pas de dégâts importants dans les prairies. Nous les avons définies sous le terme de pullulations épisodiques, mais elles sont parfois qualifiées de pullulations locales. En effet, dans cette catégorie, les surfaces concernées par les pullulations restent généralement modestes et leur durée n'excède pas quelques mois. Par convention, on distingue dans le déroulement des fluctuations pluriannuelles quatre phases différentes (faible densité, croissance, abondance et déclin). Dans le système épisodique, la période de pullulation est généralement limitée à la phase d'abondance.

Lorsque le seuil de 50 % est franchi (figure 2, schéma D), le risque de pullulations sévères devient rapidement important (plusieurs mois par an et plusieurs années successives). Outre une amplitude des cinétiques de population élevée et une durée des phases d'abondance longue, les surfaces touchées s'accroissent également. Elles intéressent à présent l'échelle sectorielle (plusieurs dizaines de km^2). Simultanément, le phénomène de pullulation se répète régulièrement selon un rythme propre au lieu et à l'espèce : tous les quatre ans par exemple chez le campagnol des champs en Lorraine depuis les années 60 ; tous les six ans, à un seuil de déclenchement différent (STH/SAU = 80 %), chez le campagnol terrestre en Franche-Comté depuis les années 70. Cette régularité des fluctuations est désignée dans la littérature sous le terme de cycle. Nous la traduisons ici sous le terme de pullulations périodiques.

Chez le campagnol des champs, la durée moyenne des cycles est de quatre ans mais peut varier, selon les situations, de trois à cinq ans. Au cours d'un cycle de quatre ans, la durée des pullulations varie de quelques mois à trois ans, au cours desquelles les densités de population dépassent fréquemment 500 individus/ha à l'échelle de plusieurs km^2.

Chez le campagnol terrestre, la durée moyenne des cycles est de sept ans mais varie selon les situations entre six et huit ans, avec des périodes de pullulation

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

variant de quelques mois à plus de quatre ans et des densités de population dépassant également 500 individus/ha à l'échelle de plusieurs km^2 (Saucy, 1994).

L'expérience montre que la cyclicité du phénomène et sa durée perdurent localement tant que les modes d'utilisation des sols sont conservés. Dans quelques cas extrêmes, correspondant à des taux de STH élevés et des situations particulières d'ouverture du milieu, décrites dans le chapitre suivant, la croissance des populations est, dès le printemps et chaque année, exponentielle. Elle établit un système à pullulations chroniques rencontrées jusqu'à présent uniquement chez le campagnol des champs et dans certains polders (Spitz, 1972 ; Jobsen, 1988). Dans ces situations, des densités de population de plusieurs milliers d'individus/ha sont quelquefois observables : jusqu'à 5 000 individus/ha dans certaines prairies artificielles (Spitz, 1972).

Le taux de STH constitue ainsi un indicateur de risque appréciable, utilisable cependant uniquement à l'échelle sectorielle (plusieurs dizaines de km^2, soit généralement la surface de plusieurs communes françaises). À une échelle plus fine, celle des communes, cet indicateur ne discrimine qu'imparfaitement les communes à risque de pullulations (Delattre *et al.*, 1992).

2.3. Importance de la structuration paysagère

La mise au point d'outils indiciaires permettant d'échantillonner les populations de campagnols à l'échelle des paysages (*cf.* encadré « Nécessité et intérêt des techniques d'échantillonnage indiciaires ») a permis de développer une approche comparative et spatialisée, et d'identifier les descripteurs du milieu qui intègrent l'action des facteurs de régulation et de déstabilisation (Delattre *et al.*, 1996, 1999). Un exemple de l'utilisation de cette technique indiciaire illustre l'intérêt de ce type d'outil intégré à une démarche spatialisée (figure 3).

Un transect a été réalisé au cours d'un cycle démographique du campagnol des champs sur le territoire de deux communes voisines dont le taux de STH/SAU est proche de 100 %. Il traverse successivement un *openfield* de 2 km de large, une forêt de résineux et une zone bocagère de plusieurs km^2. L'analyse des données montre qu'une pullulation se développe en 18 mois dans l'*openfield* mais n'affecte pas la zone bocagère. La forme des histogrammes de densités des populations en *openfield* révèle par ailleurs qu'un gradient de densité de population croissant s'établit lorsqu'on s'éloigne soit du village, soit de la forêt. Le bocage, le village et la forêt intègrent donc des facteurs de régulation qui s'exercent jusqu'à plusieurs centaines de mètres de ces structures.

Chez le campagnol terrestre, l'influence de ces structures est plus difficile à déceler. Elle a été révélée en comparant la structuration paysagère de communes où se développent des pullulations précoces et longues à celle de communes où les pullulations apparaissent plus tardivement et sont plus brèves (Duhamel *et al.*, 2000). Dans le premier type de commune où se développent les pullulations les plus graves, le paysage est très ouvert (50 % de leur surface) et peu boisé (22 %), comparé au second type fortement boisé (46 %).

Nécessité et intérêt des techniques d'échantillonnage indiciaires

Les techniques d'échantillonnage utilisées aux échelles fines (parcellaires) s'appuient le plus souvent sur le piégeage, le marquage individuel et les recaptures successives. Elles ne sont pas utilisables aux échelles larges (paysage, région, continent). Les processus biologiques qui expliquent le fonctionnement des populations et que nous devons étudier et comprendre, se déroulent en effet à ces échelles larges (dispersion individuelle à l'échelle des paysages ; diffusion des vagues de pullulation à l'échelle régionale ; synchronisation des évolutions des populations aux échelles continentales, voire mondiale). Pour réaliser ces changements d'échelle, des techniques d'échantillonnage légères doivent être inventées et validées.

Pour les rongeurs, elles s'appuient généralement sur l'observation d'indices de présence des animaux (terriers, tumuli, fèces, couloirs de circulation, traces typiques de dégâts ou de consommation, etc.). Leur dénombrement se fait le plus utilement le long de transects traversant les différents types d'habitats ou de paysages. Différentes techniques sont déjà disponibles, tant pour des rongeurs de prairies (Delattre *et al.*, 1990 ; Giraudoux *et al.*, 1995 ; Quéré *et al.*, 2000) que forestiers (Royer, 1997 ; Teivainen, 1979), ou désertiques (Fichet-Calvet *et al.*, 1999).

Ces techniques fournissent des valeurs relatives (indices rapportés à une unité de longueur) dont les conversions en valeurs absolues (nombre d'individus par unité de surface) sont parfois possibles (sous quelques contraintes et en acceptant des biais qui limitent drastiquement la fiabilité de l'estimation), mais souvent inutiles. En effet, la connaissance des variations des populations qui est recherchée ne nécessite pas cette conversion. Par ailleurs, les données apportées par les techniques indiciaires sont plus fiables que celles apportées par les opérations de piégeage biaisées à la fois par les variations de comportement des animaux (déplacements limités pendant les périodes de gel ou au contraire plus importants pendant les périodes de pluie par exemple), et par les interactions qui se produisent aux échelles englobantes (processus d'émigration et d'immigration difficilement évaluables entre deux périodes de piégeage par exemple). Compte tenu des amplitudes régulièrement importantes des variations de densité des populations de rongeurs, les cinétiques établies à partir de techniques indiciaires apportent respectivement les bases de réflexion et de décision pour les recherches fondamentales et les opérations de gestion des populations.

Si l'utilisation des sols et l'ouverture des paysages déterminent ainsi le risque de pullulations, il devrait être assez facile de trouver des coïncidences entre leurs évolutions passées ou récentes et l'apparition ou la disparition de ce phénomène de pullulation. Une étude historique de ces évolutions apporte effectivement de nombreux exemples démonstratifs et vérifie le caractère systématique du phénomène. En Franche-Comté (Giraudoux *et al.*, 1997), comme en Auvergne (Fichet-Calvet

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

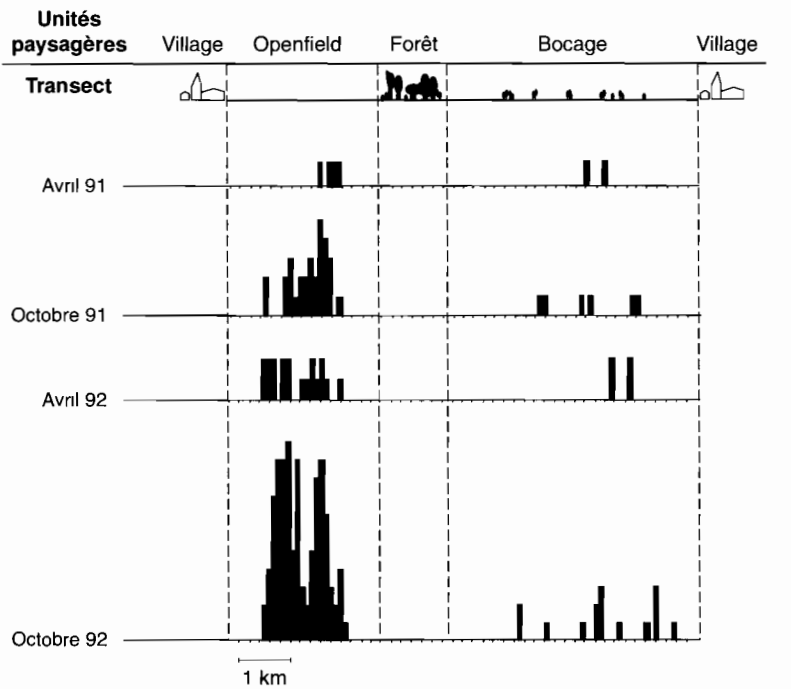


Figure 3 ■ Comparaison des dynamiques de population du campagnol des champs le long d'un transect de 7 km traversant les différents contextes paysagers d'un système herbager où la totalité des parcelles cultivées sont des prairies (modifié, d'après Delattre *et al.*, 1996).

et al., 2000), l'augmentation de la productivité des exploitations, amorcée au cours des années 50, a été accompagnée par une spécialisation orientée vers l'élevage et par la conversion quasi-totale des terres labourées en prairies. Des pullulations de campagnols terrestres de type épisodique sont apparues au cours des années 60, dès que l'abandon des cultures annuelles au profit de la production d'herbe a déterminé un taux de STH/SAU voisin de 80 % à échelle sectorielle. Dans ces deux régions, le régime des pullulations est devenu périodique à partir des années 70 pour la Franche-Comté et 80 pour l'Auvergne, lorsque le seuil de 90 % a été atteint. À l'inverse, les pullulations chroniques du campagnol des champs, au cours des années 60 dans les polders vendéens (Delattre *et al.*, 1992) et hollandais (Jobsen, 1988), sont devenues épisodiques lorsque les changements d'utilisation des sols se sont traduits par une diminution du taux de STH (figure 4).

Plusieurs autres exemples d'évolution de systèmes stables vers des systèmes à pullulation, puis d'un retour à un système stable ont été observés en France (en régions Nord-Pas-de-Calais et Normandie notamment). Ils montrent que le phénomène est réversible. Les mesures de gestion doivent en conséquence s'appuyer prioritairement sur une lecture des paysages aux échelles sectorielles et locales. L'évaluation du niveau de risque et la recherche de stratégies de lutte associant des mesures à court et long terme en découlent logiquement.

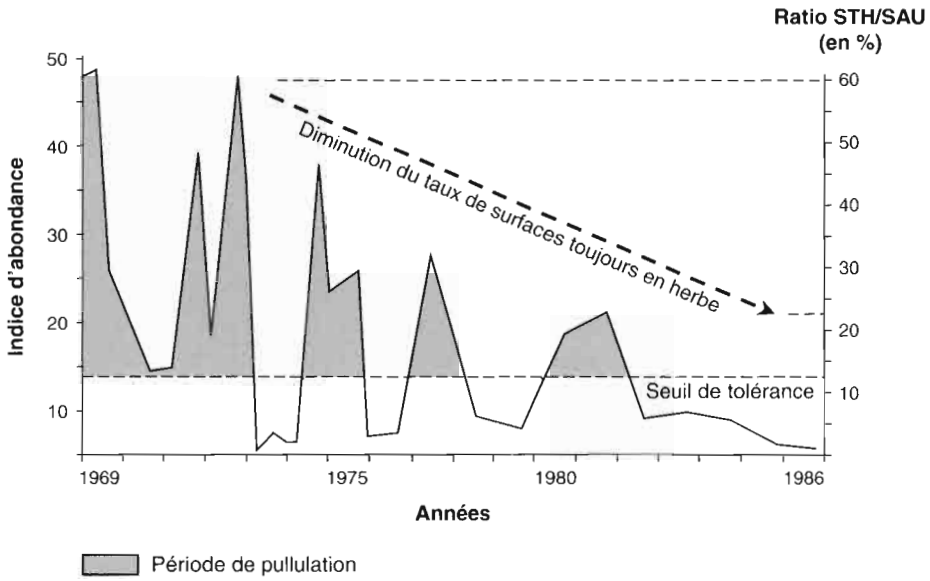


Figure 4 ■ Diminution de la fréquence et de l'intensité des pullulations du campagnol des champs dans le Marais poitevin au fur et à mesure de la diminution du taux de surfaces toujours en herbe (modifié, d'après Delattre *et al.*, 1992 et données SRPV Poitou-Charentes).

2.4. Mécanismes explicatifs du fonctionnement des populations

Pour mieux raisonner les stratégies de lutte, l'interprétation des résultats de l'analyse spatio-temporelle précédente doit être complétée par l'analyse des mécanismes biologiques sous jacents aux facteurs de risque ou indicateurs identifiés. Comme évoqué précédemment, deux types de mécanismes doivent être distingués :

– ceux qui favorisent le développement des populations ; ils concernent en particulier la reproduction, la dispersion des individus et la diffusion des populations (*cf.* encadré « Mécanismes de dispersion et de diffusion ») ;

– ceux qui, au contraire, les régulent ; il s'agit essentiellement de la prédation, du parasitisme et de la compétition interspécifique (*cf.* 2.1.).

Reproduction et dispersion individuelle s'expriment, et s'analysent par la force des choses, à l'échelle parcellaire. Leur étude implique en effet la capture, techniquement lourde, de nombreux individus. Les recherches basées sur les méthodes de la génétique des populations pourraient cependant permettre de dépasser cette limite dans les prochaines années. Diffusion des populations, prédation et parasitisme s'étudient nécessairement à des échelles plus larges (celle des mouvements de dispersion et des populations de prédateurs). Des va-et-vient entre les échelles sont ensuite indispensables, en particulier pour relier les effets des différents mécanismes.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Mécanismes de dispersion et de diffusion

- **Dispersion individuelle** : il s'agit d'un mécanisme lié aux individus dont les déplacements satisfont quotidiennement des besoins qui leurs sont propres (besoins alimentaires, territoriaux ou exploratoires). Dans certaines circonstances, la dispersion permet à l'espèce soit de coloniser de nouveaux milieux et d'étendre ainsi l'aire de distribution de l'espèce, soit plus couramment de recoloniser des milieux temporairement désertés par l'espèce, suite à des phénomènes d'extinctions locales. Le statut des individus qui se dispersent (juvéniles, sub-adultes, femelles gestantes, etc.) varie selon les espèces et souvent, pour une même espèce, selon la phase du cycle d'abondance de la population.
- **Diffusion des populations** : il s'agit d'un mécanisme démographique donnant lieu à une augmentation perceptible des densités de population et à une diffusion progressive de ces niveaux élevés de densité dans l'espace des milieux déjà colonisés par l'espèce. L'image des vagues de pullulation (figure 7) illustre parfaitement ce mécanisme. La dispersion massive d'individus peut contribuer, voire être à l'origine de cette diffusion. Une explication alternative fait cependant appel à des levées de contraintes locales (diminution du nombre de prédateurs par exemple), laissant s'exprimer le potentiel de reproduction des individus déjà présents et aboutissant rapidement à des niveaux de densité élevés. La diffusion des vagues de pullulation serait alors dépendante de la vitesse de diminution des contraintes en cause (Giraudoux *et al.*, 1997).

2.4.1. Mécanismes de dispersion individuelle

Le degré de connectivité entre parcelles d'habitats enherbés augmente rapidement en fonction du taux de STH (figure 5).

Au-dessous de 30 % de STH (figure 5, schéma A), un paysage est pratiquement « étanche » à la dispersion du fait d'un relativement faible nombre de sources ainsi que de barrières naturelles (cultures annuelles régulièrement labourées par exemple, réalisant ce que l'on appelle des « puits de dispersion »). Le paysage devient totalement perméable lorsque le taux de STH atteint ou excède 50 % chez le campagnol des champs, 80 % chez le campagnol terrestre (figure 5, schéma C). Les sources se multiplient lorsque la disponibilité de bordures, de bermes ou de talus herbeux augmente la connectivité entre parcelles, en particulier pour le campagnol des champs. Chez cette espèce, la taille limitée des réseaux de galeries et leur forme généralement allongée lui permettent en effet de tirer plus facilement profit de la disponibilité des bordures que le campagnol terrestre. Ceci explique probablement la différence entre les seuils de déclenchement des pullulations pour les deux espèces (STH/SAU = 50 % pour le campagnol des champs et 80 % pour le campagnol terrestre).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

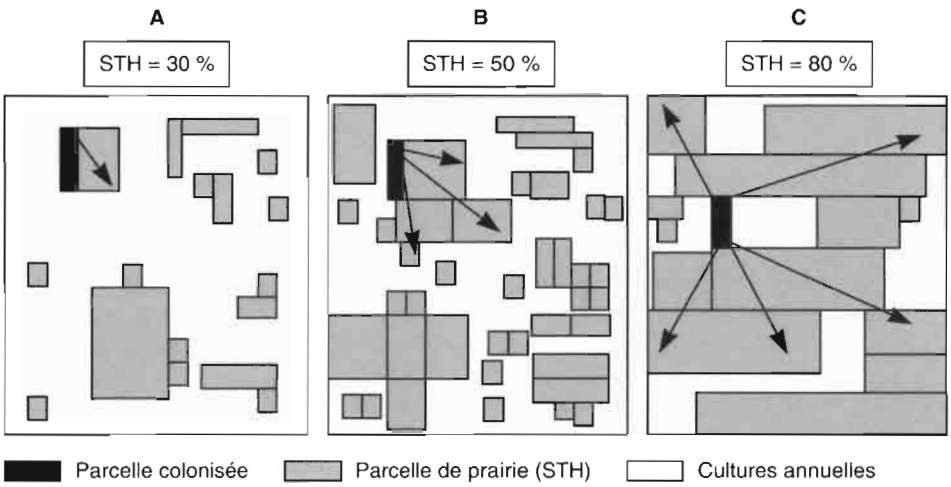


Figure 5 ■ Comparaison des degrés de connectivité entre parcelles de prairie et des risques de dispersion des campagnols terrestres au fur et à mesure de l'augmentation des surfaces toujours en herbe (STH).

Deux facteurs physiques et un facteur de nature climatique favorisent par ailleurs la dispersion et le succès de colonisation ou de recolonisation des parcelles.

Les facteurs physiques sont la hauteur moyenne de l'herbe au cours de l'année (valable pour les deux espèces) et la disponibilité de réseaux de galeries souterraines (facteur mis en évidence pour le campagnol terrestre). Concernant le rôle joué par la hauteur de l'herbe, la comparaison entre différents types de prairies montrent que :

– les prairies artificielles, composées de graminées fourragères et/ou de légumineuses, fauchées seulement épisodiquement, présentent les densités moyennes de population les plus élevées ;

– les prairies de fauche, qui présentent une végétation sur pied importante pendant une partie importante du printemps, voire de l'été, présentent des niveaux également élevés ;

– les prairies pâturées, dont l'herbe est régulièrement tondue, présentent des densités beaucoup plus faibles (deux à trois fois plus faibles dans des contextes paysagers comparables).

L'expérience montre que les régions à élevage ovin et/ou pâturage intensif ne sont jamais exposées à des pullulations de campagnols (Pays basque par exemple). De simples changements dans les pratiques agricoles concourrant à diminuer les hauteurs d'herbe moyennes (fauches répétées ; pâturage régulier des parcelles ; fauche automnale) contribuent ainsi à réguler efficacement les populations locales. La protection vis-à-vis des prédateurs, assurée par un couvert végétal important, facilite les déplacements, favorise la dispersion et explique pour une large part ces résultats.

Les réseaux de galeries préexistants, jouent apparemment un rôle protecteur comparable. Ceux des taupes en particulier, accélèrent considérablement la vitesse

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

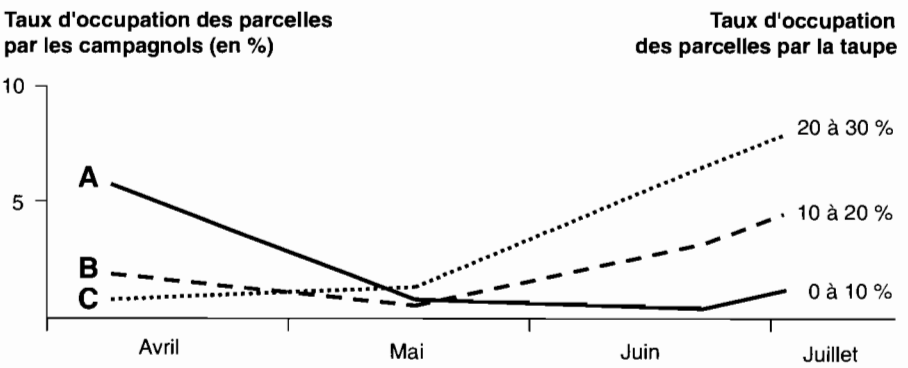


Figure 6 ■ Vitesse de colonisation des parcelles par le campagnol terrestre en fonction du taux initial de galeries de taupes.
(Trois classes de taux d'occupation des parcelles par la taupe en avril ont été retenues : 0 à 10 ; 10 à 20 ; > à 20 %.)

de recolonisation des prairies par le campagnol terrestre pendant la phase de croissance de ses populations (figure 6).

Dans une parcelle donnée, lorsque la surface colonisée par les taupes est inférieure à 10 % (figure 6, courbe A), les populations de campagnols régressent au cours du printemps (d'avril à juin dans cet exemple) et se développent tardivement ensuite. Au-delà de ce seuil et jusqu'à 20 %, la colonisation par les campagnols est lente et tardive (figure 6, courbe B). Elle est précoce et rapide lorsque ce taux dépasse 20 % (figure 6, courbe C). Il est probable qu'une forte disponibilité de galeries assure à la fois une bonne protection vis-à-vis des prédateurs et une économie d'énergie transférable vers la reproduction.

Concernant le rôle des facteurs climatiques, des épisodes de pluies importants s'accompagnent régulièrement de déplacements actifs des individus des deux espèces (Saucy et Schneiter, 1997, pour le campagnol terrestre ; observation personnelle pour le campagnol des champs). En diminuant le risque individuel de prédation, la synchronisation de la dispersion induite par ce facteur déclenchant, rendrait ainsi plus probable la colonisation de sites éloignés.

2.4.2. Mécanismes de diffusion des pullulations

Dans le cas des systèmes à pullulations périodiques (cycliques), les observateurs ont constaté que les pullulations prennent régulièrement naissance dans les mêmes zones et diffusent ensuite à partir d'elles, à l'échelle régionale, selon un schéma identique d'un cycle à l'autre (figure 7).

En Franche-Comté, le phénomène a été suivi pendant plus de 20 ans. Les pullulations du campagnol terrestre s'y développent en vagues régulières à partir des premiers plateaux (entre 400 et 700 m d'altitude) et diffusent ensuite rapidement vers les altitudes supérieures, plus lentement vers les altitudes inférieures.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

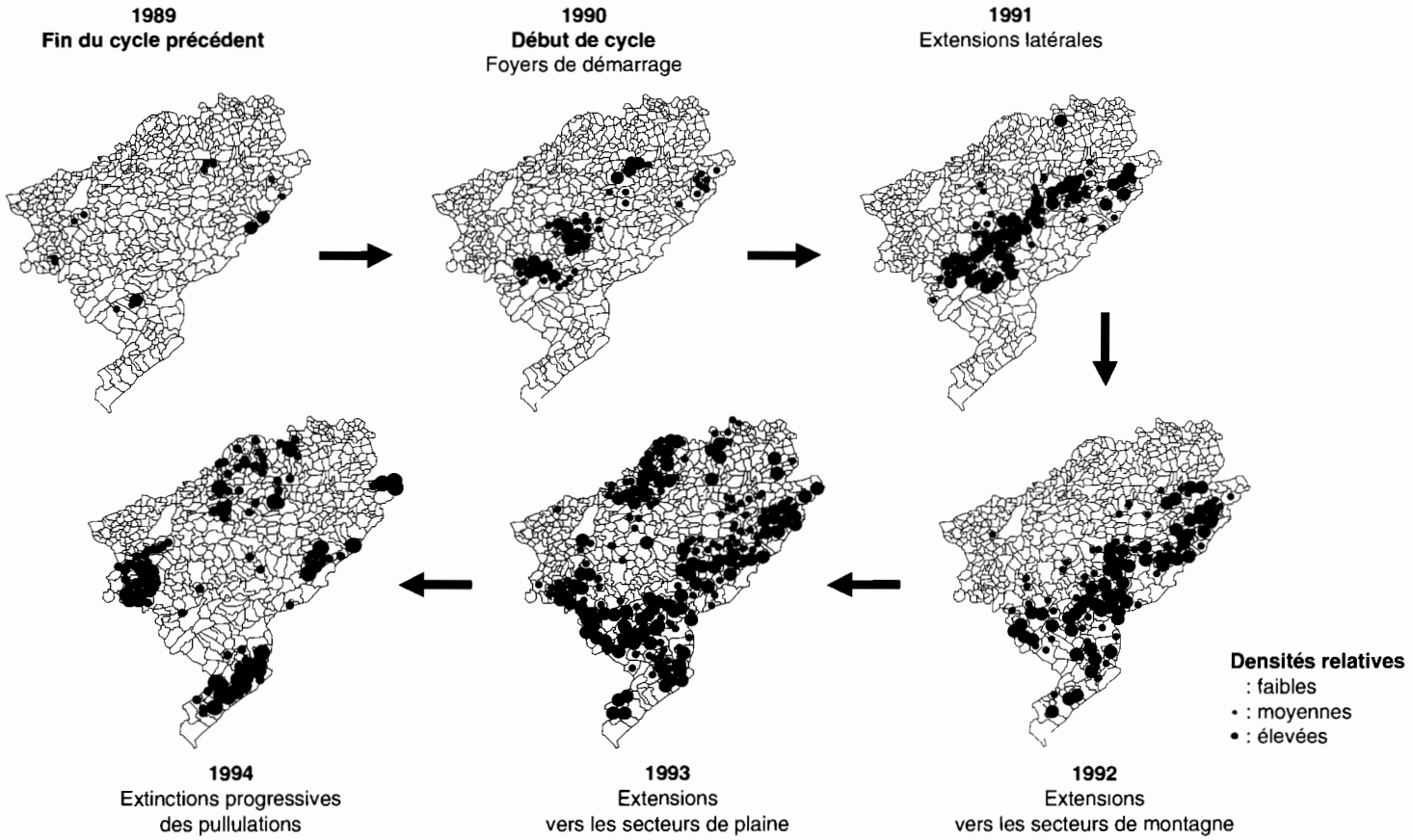


Figure 7 ■ Cycle et diffusion des pullulations du campagnol terrestre à l'échelle du Doubs (Franche-Comté) (d'après Giraudoux *et al.*, 1997).

À l'échelle régionale, les zones de démarrage des pullulations peuvent être considérées comme des « départs » et les zones de diffusion comme des situations où les pullulations tantôt se « perdent » (« puits »), tantôt se développent avec une intensité variable, fonction des conditions locales d'occupation des sols et de pratiques culturales (de la même manière qu'un incendie se développe ou s'éteint en fonction du stock de matière végétale sèche disponible).

À des échelles plus fines, une analyse encore préliminaire de la propagation de la vague de pullulation d'une commune à l'autre laisse suspecter l'existence de sous ensembles géographiques différenciés. Leurs liens fonctionnels mutuels sont en cours d'exploration par des approches combinant les outils de la génétique des populations et ceux de la cartographie (Foltête *et al.*, communication personnelle).

2.4.3. Hypothèses explicatives du fonctionnement des populations

Le concept « source-puits » et les mécanismes qui lui sont liés intègrent les différents facteurs de régulation et de déstabilisation des populations qui s'exercent à une échelle donnée ainsi que la complexité des interactions évoquées précédemment. Il s'applique à différentes échelles spatiales et temporelles. De ce fait, il apporte un cadre théorique adéquat pour expliquer comment la distribution des différents habitats dans une matrice paysagère détermine le fonctionnement des populations.

La synergie des facteurs de régulation précités avec d'autres, encore peu étudiés, comme les parasites (bactéries, virus, protozoaires, vers, etc.) ou le mode de distribution spatiale des habitats, est encore très mal connue. Les taux de parasitisme dépendent des densités de populations des campagnols et de leurs prédateurs (Cerqueira, 2001 ; Fichet-Calvet *et al.*, 2004). Le parasitisme est donc vraisemblablement impliqué dans une hiérarchie de facteurs dont l'analyse est complexe. Le tableau 2 résume l'état actuel des connaissances sur ce point. Les concepts d'écologie du paysage et les approches spatialisées apportent ainsi les contextes dans lesquels chaque hypothèse explicative nouvelle doit être présentée et peut être testée. Cet indispensable préalable et mise en contexte des études expérimentales fournit également un cadre adéquat pour expliquer plus avant les causes biologiques du phénomène de pullulation (Lidicker, 2000).

Au plan appliqué, le cadre spatial donne prise à des interventions raisonnées visant un contrôle des populations plus respectueux de l'environnement. Ce qui suit résume les possibilités de contrôle des populations de campagnols de prairie pour deux types de production présentant des seuils de tolérance à ces ravageurs très différents :

– les systèmes herbagers qui subissent les prélèvements réalisés par des populations de plusieurs centaines de campagnols/ha ;

– les productions fruitières pour lesquelles la sensibilité des arbres aux attaques des racines et à l'écorçage des collets est grande et définit des seuils d'intervention très bas (quelques individus/ha).

Tableau 2 ■ Hiérarchie des facteurs de contrôle en fonction des échelles spatiales, des processus biologiques identifiés ou pressentis et des effets observés.

Niveau de perception	Facteur de contrôle (= facteur de risque)	Processus sous-jacents	Effets mesurables
Échelle régionale	Composition des paysages 1) % STH 2) % milieux boisés	Diffusion Prédation	Diffusion des vagues de pullulation
Échelle du paysage	Structure des paysages 1) mosaïques boisées 2) réseaux de haies 3) formes des lisières, etc.	Prédation Dispersion Production primaire (quantité) Parasitisme	Type de pullulation et vitesse de colonisation
Échelle parcellaire	1) hauteur d'herbe moyenne 2) réseaux de galeries (de taupes, etc.) ou travail du sol 3) composition prairiale (% de légumineuse, % de pissenlit, etc.)	Dispersion Production primaire (qualité) Reproduction Parasitisme	Dynamique de la reproduction

3. *Stratégies de lutte développées contre les campagnols de prairie*

Peu de nouveautés sont attendues à court terme dans les domaines de la lutte chimique et de la lutte biologique *stricto sensu*.

Concernant la lutte chimique, la recherche de molécules nouvelles, plus spécifiques et moins dommageables pour l'environnement, n'est pas à l'ordre du jour faute de rentabilité prévisible pour les firmes. En tout état de cause, et considérant l'ensemble des molécules utilisées pour lutter contre les pestes agricoles, aucune ne se révèle sans conséquence pour l'environnement quand son usage est durablement généralisé. Quelques recherches sont initiées pour développer des procédés de stérilisation (par chimio-stérilisants notamment). En raison des effets secondaires prévisibles de ces produits et de différents aspects éthiques déjà très vivement débattus (en particulier en Australie), il paraît peu probable que ces procédés trouvent prochainement une application dans la lutte contre les campagnols. Chez ces espèces en effet, les taux de reproduction et d'émigration assurent localement un renouvellement des populations élevé qui impliquerait une fréquence de traitements telle que leur usage ne pourrait être au mieux qu'intégré dans un plan de lutte précoce. L'homologation du phosphure d'hydrogène pour la lutte contre le campagnol terrestre (PH_3, déjà autorisé pour la taupe) peut constituer un progrès, sous réserve, comme pour la lutte chimique, d'être également intégré dans une stratégie de lutte

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

précoce et de protocoles garantissant la protection de l'applicateur. Peu rémanent et neutralisant simultanément taupes et campagnols, il serait un atout certain dans ce contexte. En effet, la lutte précoce est subordonnée au contrôle préalable des populations de taupes en prairie. Leurs galeries favorisent non seulement la colonisation des parcelles par le campagnol terrestre, mais empêchent également la détection des indices de présence du campagnol quand il est encore à basse densité.

Des tentatives de contrôle du campagnol terrestre par piégeage à l'échelle de plusieurs communes ont été effectuées en Franche-Comté, mais n'ont pas bénéficié d'un suivi scientifique adéquat (Bazoge, 2001). Elles ont conduit à la capture en deux ans de plus de 9 000 campagnols terrestres sur une zone test de près de 33 ha et d'environ 20 000 campagnols à l'échelle de la commune de Mouthe (Doubs). Mobilisant une personne et un réseau d'agriculteurs pour quelques milliers d'hectares, l'utilisation du piégeage en lutte précoce est actuellement en cours d'évaluation. Les résultats préliminaires obtenus en phase de faible densité montrent un effet très significatif de cette méthode sur le niveau des populations comparé à celui des communes voisines.

Concernant la lutte biologique, nous avons rappelé précédemment l'interdiction d'utiliser des germes pathogènes (*cf.* 1.1.). Des procédés de stérilisation par vaccination font actuellement l'objet de recherches. Ils pourraient en priorité trouver des débouchés dans la lutte contre des espèces à faible taux de renouvellement des populations (ragondin, rat musqué, écureuil pour les rongeurs). Ils sont plus spécifiques que les chimio-stérilisants. Toutefois, la performance de tels produits et la faisabilité de leur application vis-à-vis des populations de campagnols restent encore hypothétiques. Les lâchers massifs de prédateurs posent quant à eux des problèmes techniques et de coût, auxquels s'ajoutent les résultats d'inter-actions prévisibles avec les faunes sauvage et domestique. Leur mise en œuvre est de ce fait totalement irréaliste. Le développement des populations des prédateurs naturels indigènes paraît la voie à privilégier, à la fois par des mesures de protection (aux échelles locales et nationales) et des aménagements paysagers (bosquets ; haies) ou structuraux (abris artificiels ; points d'alimentation hivernale) intégrables dans des stratégies globales.

3.1. En production herbagère

L'alternative à l'application de procédés de lutte chimique, employés jusqu'à présent essentiellement de façon curative, consiste à développer une lutte ciblée, à la fois dans le temps (très précoce par rapport au début du cycle pluriannuel de population) et dans l'espace (focalisée sur les sources repérées aux différentes échelles). La lutte devrait en conséquence être raisonnée en terme de perspectives (du court au long terme), d'échelles (du local au régional) et de contextes biologiques (phases du cycle de population ; faible densité ; croissance ; abondance ou déclin). Le tableau 3 explicite pour chacun de ces niveaux les mesures pratiques qui peuvent être développées pour maintenir les densités de population au-dessous des seuils de tolérance.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau 3 ■ Principes d'une lutte raisonnée contre les rongeurs en système herbager.

***Termes* et échelles**	**Contextes (phases du cycle)**	**Mesures pratiques**
Court terme Échelle parcellaire	Toutes phases Déclin	– Entretien des prairies ; – Coupes rases en automne (ou pacage) ; – Hersages et rabotages fréquents, déstabilisation régulière des sols dans les zones à risque (piétinement par pacage, travail du sol, roulage, etc.) ; – Travail du sol et régénération des prairies si dégâts.
Court terme Échelle paysagère	Faible densité Toutes phases	– Luttes contre les taupes (PH_3 ou piégeage) ; – Luttes ciblées sur les premières colonies de campagnols ; – Opérations intégrées présentant un bon niveau de sécurité environnementale dans le cadre de groupements d'agriculteurs voisins (rassemblant des surfaces de plusieurs centaines d'ha).
Moyen terme Échelles régionale et paysagère		– Focalisation des actions préventives (itinéraires techniques agricoles) et des traitements précoces sur les « sources » : • ciblage sur communes de démarrage • ciblage sur milieux particuliers du paysage (*openfields*)
Long terme Échelles régionale et paysagère		Focalisation des aménagements de milieux sur les « sources » ; remplacement des espaces les plus ouverts par des mosaïques boisées et des réseaux de haies.

L'expérience acquise en Franche-Comté depuis plusieurs dizaines d'années montre de plus en plus clairement que le contrôle des populations de campagnol terrestre passe, dans les court et moyen termes, par un système de mesures convergentes et solidaires menées sur plusieurs centaines d'hectares de parcelles géographiquement connectives. Ces mesures, mises en œuvre dans la commune de Byans-les-Usiers (Doubs) par un groupement d'agriculteurs, prennent en compte le contexte paysager local, qu'elles peuvent faire évoluer. Elles s'appuient sur une connaissance de l'histoire des pullulations antérieures (d'où l'importance des systèmes de surveillance) et concernent les pratiques (rotation du pâturage, travail du sol, etc.), le contrôle raisonné des populations de taupe et une lutte précoce et continue ciblés sur les premières colonies.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

3.2. En production fruitière

La vulnérabilité des arbres fruitiers aux attaques de campagnols s'assortit de seuils d'intervention nécessairement très bas. À nouveau, et bien plus encore qu'en système de production herbager, le mot d'ordre est la prévention, associée à une prise en compte de l'ensemble des risques évaluables à différentes échelles. Il s'agit d'abord de tenir compte de la structuration de l'environnement aux échelles régionales et paysagères et, en fonction du risque évalué à ces échelles, d'investir plus ou moins, tant dans la surveillance du niveau des populations (action continue dans un contexte de lutte préventive) que dans l'aménagement de l'environnement immédiat du verger (action sur les causes pour une recherche de solutions durables).

Cette situation contraint :

– à des choix, lorsqu'ils sont possibles au moment de l'installation du verger, relatifs aux caractéristiques environnementales des alentours du verger ;

– à une surveillance continue dans et autour des vergers pour évaluer le risque de recolonisation ;

– à une lutte continue à l'intérieur du verger pour limiter les effets de la reproduction *in situ*.

Une série de mesures peut ainsi être préconisée au moment de la plantation et pendant la période de production (*cf.* encadré « Mesures de luttes préventives et continues en arboriculture »).

Conclusion et perspectives

Dans les stratégies de lutte proposées pour les deux systèmes évoqués précédemment (milieux herbagers, vergers), la recommandation commune, et principale, porte sur la prévention. Les interventions précoces et leur ciblage spatial raisonnés constituent les deux clés de voûte de la lutte contre les rongeurs. Ce constat identifie :

– pour l'application : des besoins d'informations et de formation nécessaires à la mise en place des luttes ;

– pour la recherche : des lacunes dans les connaissances actuelles.

L'attention est portée dans les deux cas sur l'aspect spatial des données. Quelles que soient l'espèce et la situation, les connaissances relatives à la structure spatiale des populations et à la répartition des différents habitats dans l'écosystème sont déterminantes pour raisonner et appliquer les stratégies de lutte. L'accès à ces connaissances passe par la disponibilité de techniques d'échantillonnage indiciaire (*cf.* encadré « Nécessité et intérêt des techniques d'échantillonnage indiciaires » ; *cf.* 2.3.) et la maîtrise des outils cartographiques. Leur utilisation optimale dépend de la capacité des chercheurs à hiérarchiser les facteurs de déstabilisation ou de régulation et à fournir aux gestionnaires les indicateurs qui intègrent ces facteurs (descripteurs paysagers tels qu'habitats ou structures paysagères favorables ou

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Mesures de luttes préventives et continues en arboriculture

Choix de l'environnement du verger

– à l'échelle régionale ; éviter les régions à vocation herbagère (STH/SAU supérieure à 50 %) ;

– à l'échelle des paysages ; se placer le plus près possible, voire à l'intérieur, d'un massif boisé, d'un réseau bocager ou d'une mosaïque boisée ; éviter le voisinage des prairies temporaires, des luzernes, des zones à végétation hygrophile et les sols argileux à forte capacité de rétention en eau ;

– à l'échelle du verger ; mettre en place des surfaces boisées en périphérie du verger ; assurer sa connectivité avec les éléments boisés les plus proches par des réseaux de haies, des alignements de bosquets ou, à défaut, des murets rustiques. Au-delà de 8 ha d'un seul tenant, morceler le verger par des haies larges (5 à 15 m).

Au moment de la plantation

– préparer le sol, en automne, par labour ou hersage ;

– maintenir le sol nu pendant l'hiver précédant la plantation ;

– planter les scions de préférence en fin d'hiver et poser des gaines ou des colliers à la base des troncs.

Entretien du verger

– maintenir le sol nu (si incompatibilité avec la gestion du verger, semer l'herbe plusieurs mois avant la plantation des pommiers) ;

– choisir des plantes peu appétentes pour les campagnols (éviter les plantes et graminées à rhizomes, le chiendent, les pissenlits et les légumineuses) ;

– rouler fréquemment pour tasser le sol ;

– maintenir le sol nu au minimum sur les rangées d'arbres (au moins sur 1 m de large) ;

– maintenir l'herbe rase sur les inter-rangs (à moins de 10 cm de haut) ;

– éviter tout mulch végétal et paillage du sol (préférer un mulch de pierres broyées) ;

– éloigner les résidus de taille et les déchets de tous ordres.

Moyens de lutte

– lutter de façon préventive et permanente : repérer les premiers indices de présence, détruire les réseaux de galeries et piéger ;

– prendre des mesures de protection et de « favorisation » des auxiliaires naturels ; ni chasse, ni piégeage ; réalisation d'aménagements spécifiques (zones refuges, corridors boisés ; perchoirs artificiels ; écartements suffisants entre les rangées d'arbres fruitiers ; tas de pierres ou de bois ; conservation des arbres âgés et élevés, etc.) ;

– assurer la quiétude des lieux.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

défavorables à la reproduction, à la dispersion des campagnols et/ou à la diffusion de leurs populations).

Plusieurs conséquences et perspectives en découlent. Concernant les gestionnaires et responsables des services d'application, un effort important doit être réalisé pour qu'ils s'approprient les techniques d'observation des populations et transposent leurs résultats sur des supports cartographiques gérés dans un système d'information géographique. La constitution de cartes thématiques associant les indices d'abondance des espèces et les types d'habitat des zones à traiter est un passage incontournable pour répondre aux exigences actuelles de réduction d'emploi des pesticides (exigences contenues dans les arrêtés de janvier 2002 pour le campagnol terrestre et de juillet 2003 pour le ragondin et le rat musqué). De telles cartes permettent en effet non seulement d'orienter plus efficacement les interventions, mais aussi de tirer un parti utile des expériences précédentes, de mieux comprendre comment fonctionnent les populations locales et d'adapter, en les allégeant progressivement, les méthodes utilisées. Elles constituent parallèlement un outil de communication des plus performants qui autorise et facilite les travaux d'équipe. Le coût important des investissements initiaux acceptés dans cette démarche trouve sa compensation sur le long terme à la fois dans l'acquis de connaissances pertinentes pour la gestion et la transmission de compétences ainsi que dans la diminution progressive des besoins en personnel et en matériel qui l'accompagne.

Parallèlement, un effort important doit être réalisé par les chercheurs pour identifier, dans une large diversité de paysages et d'écosystèmes, les habitats, les structures et les pratiques (agropastorales notamment) qui exercent des influences dynamisantes ou régulatrices sur les populations. Les seuils de déclenchement de ces influences varient en fonction des échelles où elles sont évaluées. Ce phénomène résulte d'interactions, souvent complexes, qui s'exercent de manière différente en fonction, non seulement de la proportion des différents habitats, mais aussi de leur type de répartition spatiale (celui-ci définit en effet des degrés de connectivité et donc des risques de dispersion différents). Cette complexité doit être acceptée et abordée par une analyse spatiale et prioritaire de l'occupation des sols et des processus de croissance et de dispersion des populations. Les outils de description des milieux (logiciels cartographiques ; systèmes d'information géographique (SIG) ; bases de données, banques d'informations géographiques) sont devenus accessibles à la plupart des équipes. Les techniques d'analyse de données spatialisées progressent par ailleurs régulièrement. Avec ces outils et ces compétences nouvelles, les chercheurs ont pour enjeu de fournir aux gestionnaires des outils d'aide à la décision qui intégreront la hiérarchie des facteurs de régulation et/ou de déstabilisation aux différentes échelles où s'exercent leurs influences. La validation de techniques d'observation indiciaires constitue complémentairement une de leur mission prioritaire.

L'adaptation des techniques de lutte apportée par les études descriptives constitue la première étape d'une démarche de nature écosystémique. La seconde étape, en se focalisant sur l'étude des processus biologiques les plus actifs dans le déve-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

loppement des populations, renseigne sur la diversité de leurs modes de fonctionnement. Elle apporte une meilleure connaissance des mécanismes générant les pullulations de rongeurs. Alliés à la connaissance des milieux, ces acquis sont directement utilisables pour proposer, dans le cadre de pratiques respectueuses de l'environnement, des projets associant des modifications de milieux et de pratiques à risque en vue de réguler durablement les populations.

Références bibliographiques

Bazoge F. (2001). Étude prospective du piégeage manuel des campagnols terrestres. *DIREN, Franche-Comté*,14 p.

Berny P.-J., Buronfosse T., Buronfosse F., Lamarque F., Lorgue G. (1997). Field evidence of secondary poisoning of foxes (*Vulpes vulpes*) and buzzards (*Buteo buteo*) by bromadiolone: a 4 years survey. *Chemosphere*, **35** : 1817-29.

Cerqueira D. (2001). *Implications des communautés parasitaires dans les cinétiques des populations de rongeurs*. Thèse de Doctorat, Université de Montpellier, 159 p.

Delattre P., Giraudoux P., Damange J.-P., Quéré J.-P. (1990). Recherche d'un indicateur de la cinétique démographique des populations du campagnol des champs (*Microtus arvalis*). *Rev Ecol Terre et Vie*, **45** : 375-384.

Delattre P., Giraudoux P., Baudry J., Musard P., Toussaint M., Truchetet D., Stahl P., Lazarine-Poule M., Artois M., Damange J.-P., Quéré J.-P. (1992). Land use patterns and types of common vole (*Microtus arvalis*) population kinetics. *Agr Ecosyst Environ*, **39** : 153-169.

Delattre P., Giraudoux P., Baudry J., Quéré J.-P., Fichet E. (1996). Effect of landscape structure on Common Vole (*Microtus arvalis*) distribution and abundance at several space scales. *Land Ecol*, **11** : 279-288.

Delattre P., Duplantier J.-M., Fichet-Calvet E., Giraudoux P. (1998). Pullulation de rongeurs ; agriculture et santé publique. *Cahiers Agriculture*, **7** : 285-298.

Delattre P., De Sousa B., Fichet-Calvet E., Quéré J.-P., Giraudoux P. (1999). Vole outbreaks in a landscape context: evidence from a six year study of *Microtus arvalis*. *Land Ecol*, **14** : 401-412.

Delattre P., Chaste B., Silvy C. (2000). Lutte biologique et rongeurs. *Dossiers de l'Environnement, INRA*, **19** : 35-47.

Duhamel R., Delattre P., Quéré J.-P., Giraudoux P. (2000). Landscape effect on the population dynamics of the fossorial form of the Water vole (*Arvicola terrestris* Sherman). *Land Ecol*, **15** : 89-98.

Fichet-Calvet E., Jomâa I., Giraudoux P., Ashford R.W. (1999). Estimation of sand rat abundance by using surface indices. *Acta Ther*, **44** : 353-352.

Fichet-Calvet E., Pradier B., Quéré J.-P., Giraudoux P., Delattre P. (2000). Landscape composition and vole outbreak; evidence from an eight year study of *Arvicola terrestris*. *Echography*, **23** : 659-668.

Fichet-Calvet E., Giraudoux P., Quéré J.-P., Ashford R.W., Delattre P. (2004). Is the prevalence of *Taenia taeniaeformis* in *Microtus arvalis* dependent on population density? *J Parasitol*, **89** : 1147-1152.

Giraudoux P., Pradier B., Delattre P., Deblay S., Salvi D., Defaut R. (1995). Estimation of water vole abundance by using surface indices. *Acta Ther*, **40** : 77-96.

Giraudoux P., Delattre P., Habert M., Quéré J.-P., Deblay S., Defaut R., Duhamel R., Moissenet M.-F., Salvi D. (1997). Population dynamics of fossorial water vole (*Arvicola terrestris* Scherman) at regional scale: a land usage and landscape perspective. *Agr Ecosyst Environ*, **66** : 47-60.

Gratz N.G. (1994). *Rodents as carriers of disease in Rodent pests and their control*. Buckle A.P. & Smith R.H. Eds, CAB International, Wallingford. 405 p.

Jobsen J. (1988). Plagues of *Microtus arvalis* in grassland areas in the Netherlands. *Bull. OEPP*, **18** : 271-276.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Lidicker W.Z.J. (1995). The Landscape Concept: Something Old, Something New. *In* Lidicker W.Z.J., « *Landscape Approaches in Mammalian Ecology and Conservation* », University of Minnesota Press, 3-19.

Lidicker W.Z.J. (2000). A food web/landscape interaction model for microtine rodent density cycles. *Oikos*, **91 :** 435-445.

Pelz H.J., Sturhan D. (1996). Aussichten einer biologischen Bekampfung von Nagetieren mit Nematoden. *In « Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt Für Land- und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem »*. Verlag Paul Parey, Berlin, Germany, 317, 22-34.

Quéré J.-P., Raoul F., Giraudoux P., Delattre P. (2000). An index method applicable at landscape scale to estimate relative population densities of the common vole (*Microtus arvalis*). *Rev Ecol Terre et Vie*, **55** : 1-8

Raoul F., Michelat D., Ordinaire M., Décoté Y., Aubert M., Delattre P., Deplazes P., Giraudoux P. (2003). *Echinococcus multilocularis* : secondary poisoning of fox population during a vole outbreak reduces environmental contamination in a high endemicity area. *Int J Parasitol*, **33** : 945-954.

Régnier R., Pussard R. (1926). Le campagnol des champs (*Microtus arvalis* Pallas) et sa destruction. *Ann Epiphyties*, **12** : 385-525.

Royer P.-D.-C. (1997). *Mise au point d'une méthode d'échantillonnage indiciaire des populations de petits rongeurs forestiers (*Apodemus flavicollis *et* sylvaticus, Clethrionomys glareolus, Microtus agrestis*)*. ANPP 4e Conférence Internationale sur les ravageurs en agriculture, Montpellier.

Sage M. (2004). *Variabilité environnementale de la cinétique de dégradation de la bromadiolone lors des opérations de contrôle contre les campagnols terrestres.* Mémoire de DEA de l'Université de Franche-Comté.

Saucy F. (1994). Density dependence in time series of the fossorial form of the water vole, *Arvicola terrestris*. *Oikos*, **74** : 381-392.

Saucy F., Schneiter B. (1997). Juvenile dispersal in the vole *Arvicola terrestris* during rainy nights: a preliminary report. *Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles*, **84** : 333-345.

Spitz F. (1972). *Démographie du campagnol des champs,* Microtus arvalis, *en Vendée*. Thèse de Doctorat, Université de Paris VI.

Teivainen T. (1979). Vole damage to forest tree seedlings in reforested areas and fields in Finland in the years 1973-1976. *Folia Forestalia*, **387** : 1-25.

Trémolières C. (2003). *Cinétique d'intoxication d'*Arvicola terrestris *par la bromadiolone dans le cadre de la lutte collective*. Thèse d'École Nationale Vétérinaire de Lyon.

Viel J.-F., Giraudoux P., Bresson-Hadni S., Abrial V. (1999). Water vole *(Arvicola terrestris* Scherman*)* density as risk factor for human alveolar echinococcosis. *Am J Trop Med Hyg*, **61** : 559-565.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

18

Stratégies de protection intégrée contre les adventices des cultures : le retour de l'agronomie

Nicolas Munier-Jolain, Bruno Chauvel,
Jacques Gasquez

L'herbicide est probablement l'innovation technique agricole de la deuxième moitié du XX^{e} siècle qui a le plus contribué à l'évolution des systèmes de culture dans les pays développés au cours de cette période. L'application d'un herbicide est un acte technique rapide, relativement peu coûteux, et d'une très bonne efficacité. L'efficacité recherchée lors de l'application d'un herbicide est généralement supérieure à 95 % de mortalité des espèces visées, et bien souvent proche de 100 %. Par ailleurs, les mauvaises herbes (ou herbes considérées comme « mauvaises ») sont présentes sur toutes les parcelles cultivées. La technique est donc très largement utilisée – presque toutes les parcelles cultivées en grandes cultures en Europe de l'Ouest sont traitées une, deux, trois voire quatre fois à chaque campagne agricole – et elle est devenue bien souvent l'unique moyen de lutte contre les infestations. L'usage intense de la technique et son efficacité ont permis aux systèmes de culture d'être considérablement simplifiés, homogénéisés, tant sur le plan de la diversité des rotations des cultures que sur le plan du travail du sol.

Or, ces pratiques de désherbage chimique intensives sont remises en cause pour diverses raisons, tant techniques que sociétales : la flore adventice évolue sous l'effet des pratiques vers une flore souvent qualifiée de « difficile », soit parce que peu de solutions herbicides efficaces existent sur les espèces sélectionnées par le système (c'est le cas par exemple des bromes dans les systèmes céréaliers sans labour), soit parce que des biotypes résistants apparaissent et se développent. Par ailleurs, les résidus d'herbicides et leurs métabolites constituent une des contributions majeures de l'agriculture à la dégradation de la qualité des eaux des rivières et des nappes phréatiques. La pression sociétale sur ce sujet se traduit par des changements de réglementation, des interdictions des matières actives considérées

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

comme les plus polluantes, et, pour l'agriculteur, par une gamme de solutions techniques limitée, et globalement plus chère. Les citoyens et les agriculteurs s'accordent donc pour souhaiter une réduction du recours aux herbicides de synthèse, les uns pour des motivations écologiques, les autres pour des motivations économiques et techniques.

L'objectif de ce chapitre est de montrer que la réduction de l'usage des herbicides est un objectif difficile à atteindre, et surtout très lourd de conséquences pour l'agriculture. Dans une première partie, on montre pourquoi le concept de seuil d'intervention, pourtant largement utilisé pour la lutte raisonnée contre de nombreux ravageurs, n'est pas adapté à la gestion des infestations de plantes adventices. Dans une deuxième partie, on illustre les effets de techniques agronomiques prophylactiques, anciennes ou innovantes, en insistant sur les interactions complexes entre techniques et sur la diversité des caractéristiques biologiques des espèces. La conclusion tente de faire la synthèse en donnant des éléments de réflexion sur la gestion stratégique et tactique des infestations, qui sont des pistes pour développer les outils d'aide à la décision de demain.

1. *Le seuil d'intervention : un concept inadapté à la gestion de la flore adventice*

Le concept de seuil d'intervention est la base des ajustements de la lutte « raisonnée » contre de nombreux ravageurs et maladies des cultures. Pour un ravageur donné (par exemple, les méligèthes, insectes mangeurs de boutons floraux du colza), les organismes de développement agricole proposent des seuils d'infestation fondés sur des études de nuisibilité (seuil : un méligèthe par plante de colza au stade « boutons floraux »). Pour des infestations plus fortes, le risque que les pertes de rendement dépassent le coût du traitement devient non négligeable, et il est préconisé de traiter.

Les malherbologues ont été tentés d'adapter ce concept à la lutte contre les mauvaises herbes (Caussanel, 1996), mais ils sont confrontés à deux problèmes :

– d'une part, la variabilité inter-annuelle et inter-site de la nuisibilité des mauvaises herbes, en fonction des ressources du milieu (eau, lumière, azote) et de la date relative de levée de la culture et des plantes adventices, est très forte (Spitters *et al.*, 1989). Cette variabilité est telle qu'il est difficile de fixer un seuil pertinent pour optimiser la prise de décision ;

– d'autre part – et c'est la raison la plus importante –, la recherche d'un seuil d'intervention « idéal » n'a pas de sens en raison de la persistance des semences dans le sol, et des effets à long terme d'une prise de décision au cours d'une campagne agricole donnée sur le niveau d'enherbement des cultures suivantes.

Diverses expérimentations de longue durée ont permis de vérifier ces effets et leurs conséquences. Par exemple, au cours d'une expérimentation en Allemagne (Marienstein) visant à tester des principes de protection intégrée (PI), Steinmann

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

et al. (1997) ont proposé des seuils d'intervention différents pour un système de référence (intitulé « bonnes pratiques ») et un système « intégré ». Le seuil « intégré » était plus élevé, en cohérence avec l'espoir d'économiser des traitements herbicides. Au cours des premières années, ces règles de décision différentes ont permis de réduire la quantité d'herbicide appliquée sur le système intégré (par rapport au système de référence). Mais la production de semences des individus laissés sur la parcelle a induit une rapide dégradation du niveau d'enherbement. Après quatre ans, l'état de l'infestation était tel que les quantités d'herbicides nécessaires à la maîtrise des infestations ont été très supérieures aux quantités appliquées au début de l'essai, et supérieures aux quantités appliquées dans le système de référence.

Une étude théorique donne une analyse des relations entre l'ajustement du seuil d'intervention et les conséquences à long terme (Munier-Jolain *et al.*, 2002). Cette étude compare, pour un système de culture donné (par exemple, une monoculture de blé labourée tous les ans), des simulations de stratégies de lutte fondées sur divers seuils d'intervention, sur une gamme très large (de 0,01 à 1000 plantes par m^2). Les simulations sont réalisées avec un modèle démographique qui rend compte des effets des rotations de culture, du travail du sol, des traitements herbicides, sur la densité de semences du sol à différentes profondeurs, sur la densité de plantules et de plantes adultes, chaque année dans chaque culture, et sur la production semencière qui retourne au sol à chaque campagne (Doyle *et al.*, 1986). Le modèle est paramétré pour une espèce, le vulpin des champs (*Alopecurus myosuroïdes*).

D'après ces simulations, après quelques années d'évolution démographique contrastées entre les stratégies jusqu'à ce que le système atteigne son équilibre, la fréquence des traitements herbicides générés par la décision fondée sur un seuil d'intervention ne dépend pas du niveau de seuil choisi, dans une très large gamme de seuil de 0,01 à 100 plantes par m^2 environ (figure 1). Autrement dit, pour un système de culture donné, il faut appliquer la même pression de désherbage pour stabiliser le niveau d'infestation autour de 0,01 plante par m^2 ou autour de 100 plantes par m^2.

Fondamentalement, ce résultat est dû au fait que tous les processus biologiques ou biophysiques impliqués dans l'évolution d'une population adventice (mouvement de semences dans le sol sous l'effet des outils, germination, levée, mortalité liés aux herbicides ou aux accidents climatiques...) ne sont pas dépendants de la densité des plantes. Seule la concurrence entre adventices peut limiter la production de semences par individu en cas d'infestation dense, mais cette autorégulation de la population ne devient non négligeable qu'à des niveaux d'infestation très concurrentiels des cultures, et donc incompatibles avec la production agricole.

Il serait donc illusoire de rechercher un seuil d'intervention « optimum » ou d'accepter un enherbement plus élevé dans l'espoir d'économiser des traitements. Cela ne veut pas dire pour autant que l'application systématique d'herbicide est nécessaire. La bonne stratégie consiste, pour un système de culture donné, à définir

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

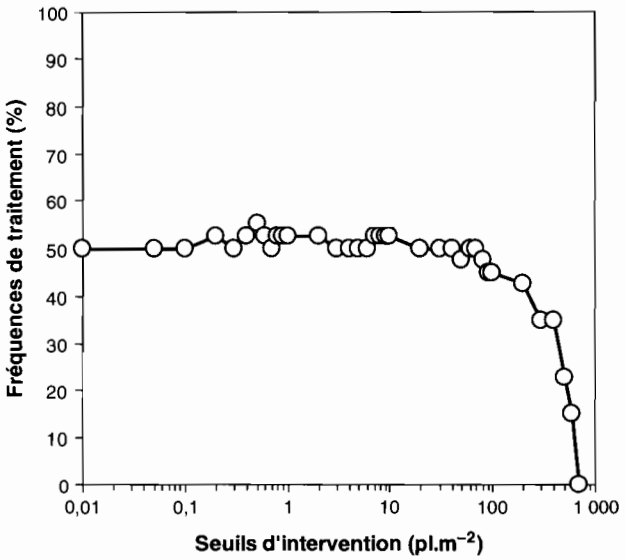


Figure 1 ■ Relation entre le seuil d'infestation de mauvaises herbes pilotant la décision de traiter (seuil d'intervention) et la fréquence de traitement générée par la règle de décision. Résultats de simulations utilisant un modèle démographique, pour différentes stratégies de désherbage fondées sur une gamme de seuils d'intervention (cas du vulpin des champs dans une monoculture de blé labourée tous les ans). La fréquence du traitement correspond au rapport entre le nombre d'années où la règle de décision a généré un traitement et le nombre total d'années de simulations (40 ans), pour un système à l'équilibre (d'après Munier-Jolain *et al.*, 2002).

un niveau d'enherbement jugé acceptable, et de ne traiter que les années où ce niveau d'enherbement est dépassé, avec l'objectif de stabiliser l'infestation autour de ce niveau jugé acceptable. Chaque agriculteur définit alors son propre seuil pour chacune de ses parcelles.

Il serait cependant dangereux de définir un objectif d'enherbement trop élevé, car des variations inter-annuelles de densités liées à des variations non maîtrisées de taux de levée, d'efficacité des herbicides ou de niveau de production semencière, risqueraient alors d'induire certaines années des densités élevées, et donc des pertes de rendement significatives.

Le principe de l'optimisation d'un seuil d'intervention est donc peu adapté à la gestion des mauvaises herbes. Ce constat d'apparence anodine est très lourd de conséquence pour la définition de nouveaux modes de gestion des infestations, et au-delà pour l'ensemble des systèmes agricoles. En effet, dans les systèmes de culture actuels, on ne peut envisager de réduire la dépendance vis-à-vis du désherbage, car toute baisse de la pression de désherbage se traduirait par l'augmentation plus ou moins rapide des niveaux d'infestation. La réduction des impacts environnementaux liés aux utilisations d'herbicide ne peut donc être envisagée si les modifications des modalités de désherbage « curatif » ne sont pas accompagnées de modifications profondes des systèmes de culture visant à réduire préventive-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

ment le potentiel de levées d'adventices dans chaque culture (prophylaxie). Dans ces conditions, les risques écotoxicologiques peuvent être réduits par des ajustements des programmes de désherbage :

– utilisation exclusive d'herbicides à bon profil écotoxicologique, souvent plus coûteux, et inexistants dans certaines cultures (herbicides anti-dicotylédones dans les pois et le soja, par exemple) ;

– augmentation de la fréquence des impasses de désherbage ;

– réduction de la quantité d'herbicide appliquée par unité de surface par application localisée sur les tâches de mauvaises herbes dans le cadre d'une agriculture « de précision », ou sur les rangs de culture en association avec du désherbage mécanique des inter-rangs. Le désherbage mécanique est évidemment utilisable comme seule technique curative, à faible risque écotoxicologique, en particulier dans le cadre de l'agriculture biologique, mais aussi dans le cadre de mode de protection « intégrée ».

Comme on le verra dans la suite de ce chapitre, l'efficacité de chaque technique envisageable pour le désherbage ou la prophylaxie est faible par rapport à l'efficacité attendue d'un traitement herbicide. La modification des systèmes pour compenser la baisse de pression herbicide doit donc résulter d'une combinaison de plusieurs techniques « à effet partiel ». Ces combinaisons de techniques doivent être raisonnées à l'échelle pluri-annuelle, et le raisonnement doit tenir compte des effets à long terme liés à la persistance du stock semencier.

2. *Mesures prophylactiques de réduction du potentiel d'infestation : principes de protection intégrée*

2.1. Des techniques agronomiques à effets partiels

2.1.1. Effets du travail du sol : le rôle du labour

Un des effets du labour est d'enfouir les semences de mauvaises herbes récemment produites et tombées à la surface du sol. En fonction des caractéristiques du labour – plus ou moins profond, plus ou moins dressé, avec ou sans rasette – les semences en surface sont majoritairement placées par le labour à une profondeur supérieure à 10 cm (Colbach *et al.*, 2000b), c'est-à-dire à une profondeur à laquelle aucune éventuelle germination de graine ne peut donner lieu à une levée de plantule. Pour un grand nombre d'espèces, la profondeur maximale d'enfouissement compatible avec la levée est inférieure à 5 cm. L'exception la plus fréquemment citée est celle de la folle avoine (*Avena sp.*), dont des levées peuvent être observées depuis des semences enfouies à 8 à 10 cm (Murdoch, 1983 ; Peters, 1986). Le labour limite donc considérablement la contribution des semences récemment produite à l'infestation dans la culture suivante. Cette technique a par exemple permis de diviser par 10 la densité de levées de vulpin des champs

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

dans une culture de blé au cours d'une expérimentation menée sur une parcelle très infestée (Chauvel *et al.*, 2001b).

Évidemment, le labour remonte des semences plus anciennes des horizons profonds vers la surface, les plaçant ainsi en position de germer et de contribuer à l'infestation dans la culture suivante. Cependant, le nombre de semences remontées peut être faible par rapport au nombre de semences enfouies en raison de la mortalité pendant le séjour en profondeur. Le taux annuel de mortalité du stock semencier varie selon les espèces et les conditions, mais peut atteindre 80, voire 90 % pour les espèces les moins persistantes, et donc les plus sensibles à l'enfouissement (Barralis *et al.*, 1988). Les espèces les moins persistantes sont, *grosso modo*, les graminées à germination automnale et hivernale – vulpin, bromes (*Bromus sp.*) – ainsi que quelques dicotylédones également préférentiellement à germination automnale – gaillet (*Galium aparine*), matricaires (*Matricaria sp.*). Ce sont typiquement des espèces infestant les céréales d'hiver. Ce sont également les espèces qui sont souvent mal maîtrisées dans les systèmes céréaliers en techniques culturales simplifiées (TCS), dans les régions où les cultures sont majoritairement semées en automne.

2.1.2. Diversifier la rotation pour diversifier les dates de semis

Presque toutes les espèces adventices des champs cultivés en Europe de l'Ouest présentent des périodes préférentielles de levée marquées, déterminées par la saisonnalité de l'évolution des taux de dormance des semences, et par les gammes de température favorables à la germination. À part quelques exceptions notables de plantes capables de lever toute l'année – pâturin annuel (*Poa annua*), stellaire (*Stellaria media*) –, les espèces qui se développent et se multiplient ne sont pas les mêmes dans les cultures de céréales d'hiver, dans les cultures semées tôt au printemps (orge de printemps, pois de printemps) et dans les cultures semées en avril-mai (tournesol, soja, maïs). En diversifiant autant que possible les dates de semis à l'échelle de la rotation, on augmente la durée moyenne entre deux générations successives, réduisant ainsi le potentiel de levée. Pour une espèce donnée, le stock semencier diminue au cours des années où le cycle biologique ne correspond pas au cycle cultural, sous l'effet de la mortalité naturelle des semences et des germinations n'aboutissant à aucune production semencière en raison des perturbations des techniques culturales (travail du sol avant le semis, récolte antérieure à la période de dissémination de l'espèce). Selon Munier-Jolain et Chauvel (2003), l'introduction d'une culture de printemps (pois) dans une rotation 100 % hivernale (colza-blé-orge) permettrait de maîtriser une infestation de vulpin alors qu'une application systématique d'un herbicide ayant une efficacité estimée à 98 % tous les ans n'est pas suffisante pour stabiliser la population à un niveau convenable dans la rotation colza-blé-orge. Dans les systèmes céréaliers, la diversification des rotations pose cependant le problème de l'introduction de cultures associées à des traitements phytosanitaires à fort risque écotoxicologique (herbicides anti-dicotylédones associés aux légumineuses, insecticides associés à la

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

culture de moutarde). La réflexion théorique fondée sur des stratégies à rotations diversifiées doit donc s'accompagner de recherche de mode de conduite de ces cultures plus économes en intrants phytosanitaires et plus respectueux de l'environnement.

2.1.3. Maîtriser la technique du faux-semis

Le faux-semis est une technique à laquelle il est souvent fait référence dans le domaine de la lutte contre les mauvaises herbes (Rasmussen, 2004). Elle consiste à affiner la structure du sol en surface plusieurs semaines avant la date de semis prévue, afin de favoriser autant que possible la germination et la levée de plantules, qui sont ensuite détruites juste avant le semis de la culture. La technique vise à diminuer le nombre de semences aptes à germer dans les horizons superficiels de sol, et donc le potentiel d'infestation dans la culture.

Cette technique peut s'avérer très efficace sous certaines conditions :

– le faux semis doit être calé sur la période de levée préférentielle des espèces visées. Pour les céréales infestées par des espèces comme le vulpin ou le gaillet gratteron, qui lèvent préférentiellement au mois d'octobre, les levées pendant le faux semis sont plus importantes si le faux-semis est réalisé début octobre, et le semis de la culture est retardé de plusieurs semaines par rapport aux dates de semis classiques. La figure 2 (d'après Colbach *et al.*, 2000a) montre, à partir de simulations, comment le retard de date de semis du blé peut diminuer de façon importante la densité des levées de vulpin ;

– certaines espèces, comme les bromes, présentent une photosensibilité très forte, et ne germent donc pas si elles sont enfouies à quelques centimètres. Les travaux de préparation de la structure du sol du faux-semis doivent donc être très superficiels en cas de présence de ce type d'espèce pour assurer une bonne efficacité ;

– la destruction des plantules levées après le faux-semis est une étape cruciale. Elle doit être totalement efficace car toute plantule non détruite présenterait un décalage de stade favorable par rapport à la culture, et donc un avantage concurrentiel important (Cousens *et al.*, 1991). Elle doit avoir lieu juste avant le semis de la culture, pour éviter une nouvelle levée de plantules avant le semis. Si la destruction est mécanique, le passage d'outil doit en outre être très superficiel pour éviter de remonter des semences en surface juste avant le semis, et réduire d'autant l'intérêt du « déstockage » superficiel. La destruction mécanique présente l'avantage d'affecter non seulement les plantules levées, mais aussi les plantules germées non encore levées. La destruction peut également être chimique, par application d'un herbicide à large spectre, ce qui assure généralement une bonne efficacité, mais ne touche que les plantules levées au moment du traitement ; et elle est peu compatible avec un objectif de réduction des intrants de synthèse et de leurs impacts environnementaux potentiels.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

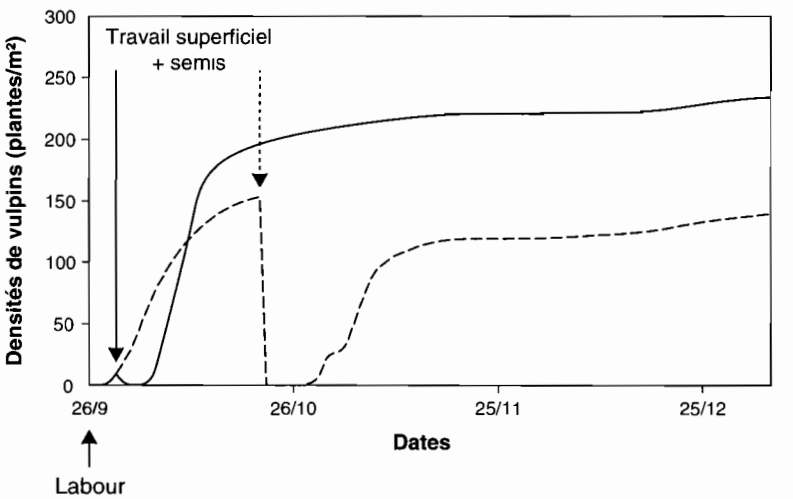


Figure 2 ■ Effets de la date de semis du blé sur la dynamique de levée du vulpin des champs.
Semis du 1er octobre (——) et du 21 octobre (- - -). Résultats de simulation, d'après Colbach *et al.*, 2000a.

2.1.4. Adapter la conduite des cultures pour augmenter leur aptitude concurrentielle

Toute augmentation de l'aptitude concurrentielle des cultures permet non seulement de réduire leur sensibilité et de limiter les pertes de rendement dues à la présence de mauvaises herbes, mais aussi de limiter aussi la croissance et la production de semences de celles-ci, et donc le potentiel d'infestation dans les cultures suivantes. Les semis à forte densité réduisent la croissance des mauvaises herbes (Le Corre et Assémat, 2000), mais présentent l'inconvénient de ne pas être compatibles avec une réduction des risques de maladies. À densité équivalente, les cultures implantées avec un faible écartement entre les rangs, et donc une répartition sur la surface de la parcelle plus homogène, sont plus concurrentielles (figure 3).

L'aptitude à la concurrence variétale peut également être un critère de choix de la variété implantée. Lecomte *et al.* (2000) ont mis en évidence les différences de sensibilité à la concurrence de variété de blé vis-à-vis d'infestation de *ray grass* (*Lolium perenne*). Une part de ces différences est expliquée par des variations de précocité de montaison. D'autres critères sont proposés pour expliquer cette diversité, comme le port planophile des feuilles, l'aptitude au tallage, la vigueur des plantes dans les phases précoces du cycle, critères qui ne sont pas encore fréquemment renseignés dans les catalogues variétaux. Les variétés hautes sont également plus concurrentielles, mais sont souvent associées à des risques de verse élevés. Elles peuvent cependant être envisagées dans le cadre d'itinéraires

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

techniques à faible niveau de fertilisation azotée, facteur important de gestion du risque de verse. Enfin, le critère « résistance aux maladies » est également un critère qui peut être pris en compte dans le cadre de la protection intégrée contre les mauvaises herbes, dans la mesure où les variétés résistantes peuvent plus facilement être semées à forte densité, sans pour autant augmenter de façon trop importante les risques sanitaires.

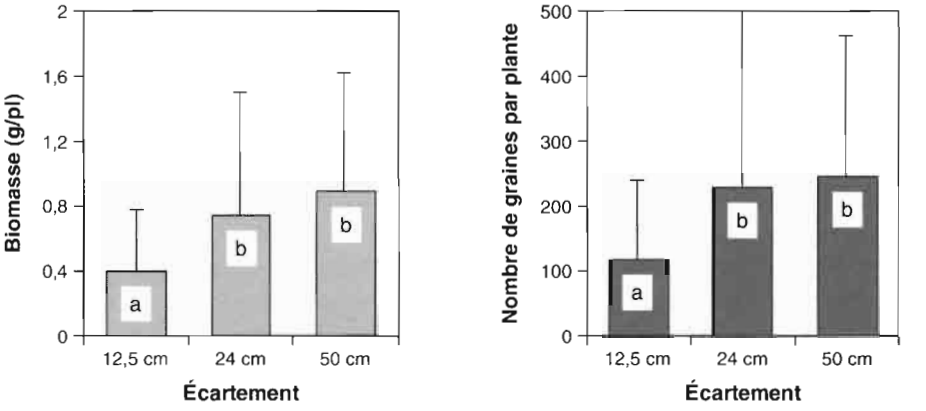


Figure 3 ■ Effet de l'écartement entre les rangs de lupin blanc sur la croissance et la production semencière des adventices (Panic pied-de-coq).
Les densités de lupin par m^2 sont identiques entre les 3 traitements. Les histogrammes associés à des lettres différentes correspondent à des valeurs significativement différentes au seuil de 5 % (d'après Munier-Jolain, 2001).

Le niveau de fertilisation azotée affecte en outre les relations de concurrence entre la culture et les mauvaises herbes, en favorisant ou défavorisant la croissance et la production semencière de celles-ci. Le sens de l'effet dépend de la nitrophilie relative de la culture et des mauvaises herbes. En effet, une disponibilité limitante en azote du sol réduit la vitesse potentielle de croissance de chaque individu, mais réduit également l'intensité de la concurrence, puisque la croissance des plantes voisines est également affectée. Iqbal et Wright (1997) ont ainsi montré que l'apport d'azote pouvait augmenter ou diminuer l'aptitude à la concurrence, exprimée de façon relative à celle du blé, en fonction des espèces. Cependant, dans le cas de cultures très nitrophiles dont la vitesse de croissance potentielle dépend très fortement de la disponibilité en azote – c'est le cas en particulier du colza (Valantin-Morison *et al.*, 2003) – les situations caractérisées par une bonne nutrition azotée sont celles pour lesquelles la culture est la plus concurrentielle vis-à-vis des mauvaises herbes, dont la biomasse et la production semencière sont fortement réduites.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

2.2. Des innovations agronomiques pour compenser la réduction de la pression herbicide

Les chercheurs qui travaillent sur la protection intégrée contre les mauvaises herbes sont fortement interpellés par la profession agricole pour rechercher et promouvoir des méthodes agronomiques innovantes pour lutter contre les adventices. Les questions posées, émanant souvent d'agriculteurs pratiquant les techniques culturales simplifiées, concernent très régulièrement les possibilités de valorisation de propriétés allélopathiques de couverts végétaux, et l'utilisation de mulchs végétaux, vivants ou morts. Nous présentons ici quelques résultats et éléments de réflexion concernant l'allélopathie.

L'allélopathie est définie comme l'interaction entre végétaux par l'intermédiaire de médiateurs chimiques libérés dans l'environnement par une plante, et affectant (positivement ou négativement) une autre plante de la même espèce ou d'une espèce différente. La libération peut avoir lieu alors que la plante productrice est vivante (allélopathie directe, par exemple par exudation racinaire) ou au moment de la dégradation des résidus de la plante productrice, après la mort de celle-ci (allélopathie indirecte).

De nombreuses études ont permis de mettre en évidence les propriétés allélopathiques de couverts végétaux. Delabays *et al.* (1998) ont par exemple observé, lors d'expérimentations en pots sous serre, que l'adjonction au terreau de culture de 1 % (en poids sec) de résidus végétaux de *Artemisia annua*, de *Bromus tectorum* ou de *Sanguisorba minor*, pouvait inhiber la croissance en biomasse de plantules de mauvaises herbes (amarante et chénopode) de 80 à 90 %. En étudiant les effets inhibiteurs de lignées d'*Artemisia annua* différant uniquement par leur teneur en artémisinine, la même équipe a mis en évidence le rôle de cette molécule dans les effets observés (Delabays et Mermillod, 2001). Ces auteurs soulignent les possibilités de sélection rapide de génotypes à forte teneur en métabolites secondaires à effets allélopathiques potentiels.

Une proposition de valorisation en grande culture de propriétés allélopathiques de couverts végétaux consiste à implanter un couvert végétal à potentiel allélopathique plusieurs mois avant le semis d'une culture. La destruction de ce couvert et l'incorporation des résidus aux couches de sol superficielles juste avant le semis de la culture doivent alors avoir l'objectif d'inhiber la croissance des adventices. Des expérimentations conduites au champ ont ainsi montré l'effet inhibiteur très fort de certains couverts végétaux implantés en interculture, en particulier de couverts d'avoine, sur la croissance des adventices dans la culture suivante (figure 4). Malheureusement, cet effet n'est pas toujours sélectif, car les cultures de maïs et de tournesol sont également inhibées de façon spectaculaire.

Dans la réalité, il semble bien que les inhibitions de croissance observées lors des expérimentations au champ résultent d'une combinaison entre un effet allélopathique et un effet lié au cycle de l'azote du sol : en effet, les couverts végétaux pour lesquels l'effet inhibiteur est le plus grand correspondent à des résidus incorporés à rapport carbone/azote (C/N) relativement élevé (de l'ordre de 40).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

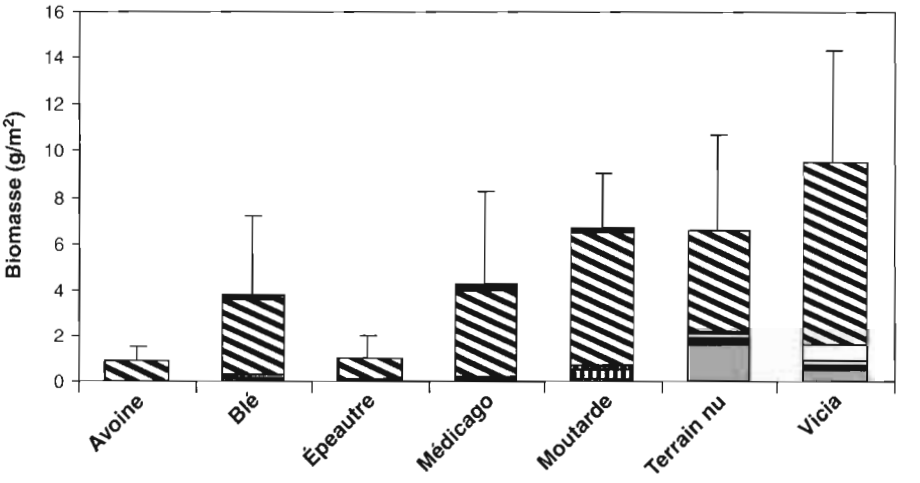


Figure 4 ■ Effet du couvert végétal pendant l'hiver précédant le semis de la culture sur la biomasse des adventices dans le maïs au mois de juillet.
Les couverts végétaux ont été semés au mois d'octobre, détruits par broyage et incorporés au sol juste avant le semis du maïs. Les différents figurés correspondent aux différentes espèces présentes sur la parcelle d'essai, dominées par la renouée liseron (hachures). Les barres verticales représentent 1 écart-type.

L'immobilisation rapide d'azote minéral par la biomasse microbienne sous l'effet de l'incorporation de résidus à forte teneur en carbone pourrait être responsable d'une part importante de l'inhibition – observée au champ – de croissance des cultures et de leurs adventices.

Quelle que soit l'origine de l'inhibition, ces effets « précédents » de couverts végétaux implantés en interculture présentent un intérêt potentiel pour construire des itinéraires de conduite des cultures de légumineuses (soja par exemple, apparemment peu sensible au précédent avoine) sans herbicides. De tels itinéraires représenteraient un intérêt malherbologique et environnemental évident, car les herbicides utilisés sur ces cultures ont un spectre d'efficacité étroit recouvrant souvent imparfaitement la gamme d'espèces adventices présentes, et présentent un profil écotoxicologique défavorable, selon l'indicateur de risque environnemental développé par l'INRA (Institut national de la recherche agronomique) de Colmar (Roussel *et al.*, 2000).

2.3. Analyse et valorisation des interactions entre techniques culturales

Les principes de protection intégrée contre les mauvaises herbes des cultures forment un ensemble divers (voire hétéroclite) de propositions d'adaptation de techniques. Chaque adaptation technique, considérée individuellement, risque de n'avoir qu'une efficacité limitée par rapport à l'efficacité d'un herbicide : il ne

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

faut pas attendre une efficacité supérieure à 50-80 % de mortalité après un passage d'une herse étrille, et les risques que les conditions climatiques ne permettent pas ce passage au bon moment ne sont pas négligeables ; le labour, même s'il est capable d'enfouir en profondeur la totalité des semences produites au cours de la campagne précédente, remonte toujours une proportion de semences en position de germer ; du fait des dormances de semences et des inhibitions de germinations d'origines diverses, un faux semis ne permet jamais d'éliminer 100 % du stock de semences des horizons superficiels.

Pour atteindre le niveau de maîtrise de la flore permis par l'utilisation massive d'herbicides, le raisonnement du système de culture en protection intégrée doit donc combiner entre elles autant d'adaptations techniques que possible, ce qui a des conséquences importantes du point de vue agricole et du point de vue scientifique.

Du point de vue agricole, l'adoption des principes de protection intégrée nécessite une adaptation lourde des systèmes de culture, qui risque de générer des changements d'organisation importants dans la profession agricole. D'une part, les systèmes proposés sont des systèmes requerrant à la fois une bonne technicité et un temps de travail passé par hectare élevé. Par exemple, le temps nécessaire pour le désherbage mécanique avec une bineuse est de l'ordre de 10 fois plus important que pour réaliser un traitement avec une rampe de 24 m de large. Le binage à grande échelle ne peut donc s'envisager sur des exploitations de très grande taille par rapport à la main-d'œuvre disponible. D'autre part, les économies liées à la réduction de l'usage d'herbicide risquent de ne pas pouvoir compenser les surcoûts et les « manques à gagner » générés par les adaptations adoptées. Par exemple, la diversification de la succession des cultures se traduit le plus souvent par l'implantation de cultures dont la marge dégagée est plus faible que celle générée par la rotation simplifiée optimisée sur des bases économiques. La réalisation de faux semis efficace nécessite un retard de date de semis des céréales, et donc un potentiel de rendement diminué. Les herbicides choisis sur des bases écotoxicologiques sont souvent plus coûteux que ceux qui sont choisis sur le critère économique. Si ces surcoûts des systèmes en protection intégrée étaient confirmés, l'adoption de ces systèmes nécessiterait des compensations économiques pour qu'ils puissent rester compétitifs sur les marchés européen et mondial : compensations par un soutien des prix dans le cadre de filières organisées et labellisées, ou compensation liée à l'éco-conditionnalité des soutiens publics à la production agricole.

Du point de vue scientifique, la diversité des adaptations techniques envisageables nécessite d'analyser les interactions entre techniques et biologie des espèces, et entre techniques entre elles. Au regard de la complexité des interactions possibles et des échelles de temps concernées, toutes les interactions ne peuvent être étudiées facilement au plan expérimental. La modélisation des effets cumulatifs des pratiques agricoles sur l'évolution des infestations est alors nécessaire pour

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

élaborer un outil d'analyse qui permet de comparer les performances relatives prévisibles de systèmes de culture.

Jouy et Munier-Jolain (2001) ont ainsi montré, à partir de simulations, que même pour une espèce très sensible au labour comme le vulpin, cette pratique n'est pas nécessaire ni souhaitable tous les ans dans le cas de rotation culturale alternant semis d'automne et semis de printemps. Dans le cas d'une rotation « blé-maïs », par exemple, le vulpin ne peut accomplir son cycle biologique qu'une année sur deux, dans le blé. Le labour après la récolte du blé (année *n*) permet d'enfouir les semences en profondeur. Si un labour est à nouveau pratiqué après la récolte du maïs (année *n+1*), les semences de vulpin de l'année *n* sont remontées en surface, et placées en bonne position pour infester le blé de l'année *n+2*, et accomplir un nouveau cycle biologique avec une nouvelle multiplication de semences. Au contraire, si le blé est implanté sans labour, les semences produites l'année *n* restent en profondeur pendant le blé de l'année *n+2*, sans pouvoir générer une nouvelle génération de porte-graines. Un nouveau labour avant l'implantation du maïs remonte ces graines en surface, avant l'implantation du maïs de l'année *n+3*, mais l'accomplissement d'une nouvelle génération de vulpin avec production de semences n'est possible que dans le blé de l'année *n+4*. La durée entre deux générations successives est donc de 2 ans dans un système labouré tous les ans, contre 4 ans dans un système labouré un an sur deux, ce qui permet de réduire considérablement le potentiel de levée dans chaque blé, du fait de la décroissance annuelle du stock semencier.

2.4. Vérification expérimentale de la performance de méthodes de protection intégrée

Les processus biotechniques impliqués dans l'évolution de la flore adventice sous l'effet des pratiques agricoles sont nombreux, complexes, parfois mal connus (par exemple les processus de dormance et de levée de dormance). C'est pourquoi la performance prédictive exigée des modèles est limitée. Il est donc nécessaire de vérifier de façon expérimentale que les principes de protection intégrée, issus d'analyse théorique et de résultats de simulations, permettent effectivement de contribuer à la maîtrise des infestations dans des conditions réelles.

Une expérimentation a été conduite pendant six ans (1997-2002) dans cet esprit, pour évaluer les performances de systèmes de culture vis-à-vis de la lutte contre une population de vulpin des champs résistante aux herbicides inhibiteurs de l'enzyme acétyl-CoA carboxylase : fénoxaprop-P-éthyl et clodinafop-propargyl (Chauvel *et al.*, 2001a). L'expérimentation a été conduite sur une parcelle agricole infestée de façon homogène à plus de 300 plantes par m^2 avant récolte en 1996. Six systèmes de culture ont été définis et conduits sur des surfaces de 0,2 ha chacun. Les systèmes de culture testés différaient par :

– la succession culturale (100 % semis d'automne ou équilibre entre semis d'automne et de printemps) ;

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

– le type de travail du sol (avec ou sans labour) ;

– la date de semis des céréales (précoce ou tardive pour esquiver la période préférentielle de levée du vulpin au mois d'octobre) ;

– la pression herbicide chimique (intensive ou allégée) (tableau 1).

Tableau 1 ■ Description des systèmes de culture sur une expérimentation de longue durée sur la gestion de vulpins résistants à certains herbicides.
Les dates correspondent aux dates de semis des cultures. Une description plus détaillée des systèmes sera trouvée dans Chauvel *et al.* (2001).

<table>
<tr><th rowspan="2">Système</th><th rowspan="2">Travail du sol</th><th colspan="6">Campagnes (années de récolte)</th></tr>
<tr><th>1997</th><th>1998</th><th>1999</th><th>2000</th><th>2001</th><th>2002</th></tr>
<tr><td>Hiver référence</td><td>Superficiel</td><td>Orge H.
2 oct.</td><td>Blé
2 oct.</td><td>Blé
13 oct.</td><td rowspan="2">Colza
9 sept.</td><td>Blé
5 oct.</td><td>Orge H.
28 sept.</td></tr>
<tr><td>Hiver labour</td><td>Labour</td><td rowspan="2">Orge H.
15 oct.</td><td rowspan="2">Blé
18 oct.</td><td rowspan="2">Blé
22 oct.</td><td rowspan="2">Blé
28 oct.</td><td rowspan="2">Orge H.
14 oct.</td></tr>
<tr><td>Hiver allégé</td><td>Superficiel</td></tr>
<tr><td>Printemps référence</td><td>Superficiel</td><td rowspan="3">Orge P.
3 mars</td><td rowspan="3">Pois P.
19 mars</td><td>Blé
13 oct.</td><td rowspan="3">Orge P.
3 mars</td><td rowspan="3">Colza
26 août</td><td>Blé
28 sept.</td></tr>
<tr><td>Printemps labour</td><td>Labour</td><td rowspan="2">Blé
22 oct.</td><td rowspan="2">Blé
14 oct.</td></tr>
<tr><td>Printemps allégé</td><td>Superficiel</td></tr>
</table>

Au cours des trois premières années (figure 5), le niveau d'infestation a diminué sur toutes les parcelles, en lien avec une bonne efficacité du désherbage très intensif (pendiméthaline 500 g.ha^{-1} + isoproturon 1 500 g.ha^{-1} au semis, puis isoproturon, 1 500 g.ha^{-1} en fin d'hiver pour les céréales). Cependant, la décroissance du niveau d'infestation a été beaucoup plus rapide sur les parcelles labourées, et sur les parcelles intégrant de l'orge de printemps et du pois de printemps dans la rotation. En 1999, toutes les parcelles étaient implantées en blé, ce qui a permis de comparer les niveaux d'infestation : la densité de vulpin était alors 1 000 fois plus faible dans le système combinant tous les facteurs de gestion du vulpin (rotation diversifiée, labour, semis retardés) que dans le système de référence, correspondant aux pratiques agricoles habituelles de la région. À partir de la campagne 1999-2000 et jusqu'à la fin de l'expérimentation en 2002, plus aucun vulpin n'a été observé sur la parcelle combinant les différentes techniques, alors que l'infestation sur la parcelle de référence est remontée progressivement jusqu'à 30 plantes par m^2, en raison de la baisse des doses d'isoproturon appliquées (respect de la réglementation) et de conditions climatiques moins favorables à son efficacité.

Ces résultats confirment donc de façon très démonstrative que les principes de protection intégrée permettent effectivement de contribuer à la répression des mauvaises herbes de façon performante, à condition de combiner les techniques dans le cadre de systèmes de culture profondément modifiés. L'efficacité est suf-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

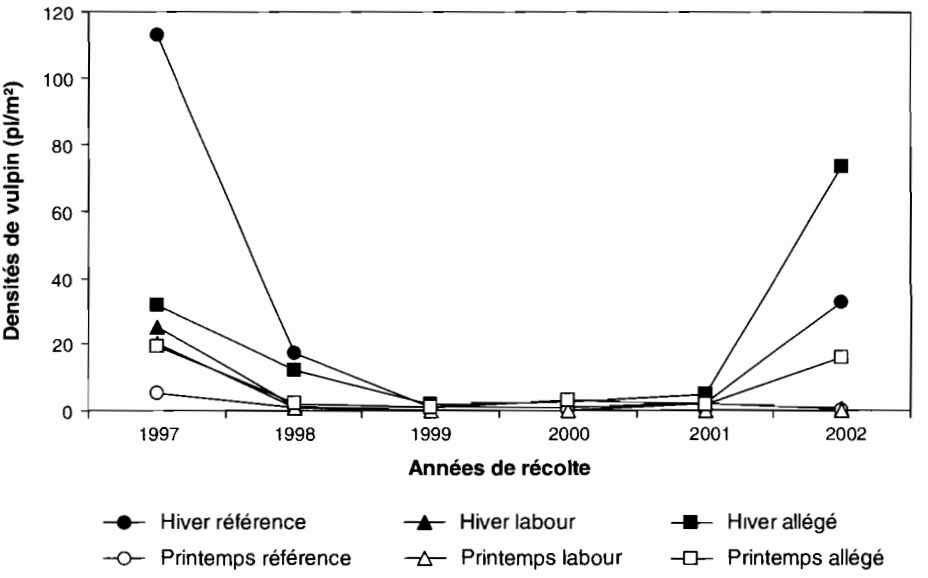


Figure 5 ■ Évolution des densités de vulpin (estimées après désherbage) en fonction du système de culture.
En 1996, la densité de vulpin avant récolte était d'environ 300 plantes par m^2 sur toutes les parcelles. La description des systèmes est donnée dans le tableau 1.

fisante pour permettre d'envisager des impasses de désherbage, au moins pour des espèces comme le vulpin qui sont très sensibles aux techniques culturales du fait de la faible persistance de leurs semences dans le sol et de la saisonnalité de levée bien marquée. La performance de la protection intégrée reste à vérifier pour des espèces à semences plus dormantes et plus persistantes.

3. *Synthèse : quels outils développer pour l'aide au raisonnement tactique et stratégique de la lutte contre les mauvaises herbes ?*

Les outils de pilotage de la lutte contre les adventices des cultures peuvent être classés en 2 catégories :

– sur le plan stratégique – relatif aux adaptations du système, à l'organisation dans le temps des modalités techniques, sur le long terme, dans le but de limiter le potentiel d'infestation de façon préventive –, des modèles simulant les effets des pratiques agricoles sur l'évolution de la flore, permettant d'évaluer et de comparer des choix stratégiques ;

– sur le plan tactique – relatif aux prises de décision ponctuelles en fonction de l'état de la parcelle – des systèmes d'aide à la décision permettant le choix d'une modalité technique dans une gamme de modalités candidates.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

3.1. Des modèles d'évolution de flore encore dans leur phase de développement

La modélisation de l'évolution de la flore est peu avancée à l'échelle mondiale. Des modèles destinés à l'évaluation de stratégies sur des bases économiques ont été développés, mais ont toujours été limités à la gestion d'une seule espèce (Doyle *et al.*, 1986 ; Moss, 1987). Il s'agit de modèles à compartiments (stocks semenciers superficiels et profonds, plantules levées, plantes adultes), à pas de temps annuels. L'évolution de la densité de plantes dépend de relations entre les différents compartiments en fonction des techniques culturales :

– relation entre le stock semencier et la densité de plantules (Roberts et Margaret, 1979 ; Forcella *et al.*, 1997) ;

– relation entre densité de semences des différents horizons de sol avant et après travail du sol (Cousens et Moss, 1990, Colbach *et al.*, 2000b).

Le nombre de facteurs agronomiques pris en compte est relativement limité, et le pas de temps annuel ne permet pas d'analyser les interactions entre techniques à l'échelle de la campagne agricole. C'est la raison pour laquelle des modèles à pas de temps plus fin sont en cours de développement (Colbach *et al.*, 2002) tout en gardant un objectif de robustesse pour pouvoir classer des systèmes de culture en fonction de leur « performance malherbologique » (Colbach et Debaeke, 1998).

Des modèles qualitatifs ont également été développés (Jouy et Guilbert, 1998). Ces modèles sont utiles pour formaliser des conseils dans le cadre des systèmes de culture actuels, mais ne permettent pas d'envisager des scénarios innovants susceptibles de répondre aux enjeux de l'agriculture du futur.

3.2. Vers une nouvelle génération de systèmes d'aide à la décision

Les premiers systèmes d'aide à la décision pour l'optimisation de la lutte contre les mauvaises herbes (Wilkerson *et al.*, 1991 ; Stigliani et Resina, 1993 ; Castro-Tendero et Garcia-Torres, 1995 ; Kwon *et al.*, 1995) préconisaient un programme de désherbage pour une parcelle donnée, en fonction de la flore observée, sur la base d'un bilan économique entre le coût des différentes solutions envisageables et les gains de rendement attendus. L'optimisation était donc limitée à l'échelle annuelle. Les évaluations de ces systèmes, réalisées au champ, ont toujours été menées sur de courtes durées (un à quatre ans) : les résultats sont en apparence favorables (réduction du nombre de traitement, réduction des coûts), mais les observations de flore ou de stock semencier indiquent des ébauches de dérive de flore qui laissent penser que les résultats économiques seraient moins performants à plus long terme (Lybecker *et al.*, 1991 ; Swinton et King, 1994 ; Buhler *et al.*, 1996 ; Wiles *et al.*, 1996). La mauvaise prise en compte des conséquences à long terme des choix techniques est interprétée comme la cause majeure des réticences des agriculteurs à utiliser ces outils (Czapar *et al.*, 1997).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Par ailleurs, ces premiers systèmes présentaient l'inconvénient majeur de ne considérer que trois critères pour guider la décision : le risque malherbologique (exprimé, comme on l'a vu, en terme de perte de rendement), l'efficacité du traitement et son coût. Or, le processus de prise de décision est un processus plus complexe, typiquement multicritère, qui tient compte par exemple :

– de l'organisation du travail et des conflits de chantier : tel agriculteur peut décider de ne traiter ses blés ni en automne (car il est occupé à la récolte des betteraves), ni en hiver (car la portance des parcelles humides n'est pas suffisante), et donc de choisir plutôt un programme de désherbage au printemps ;

– des risques de sélection de résistance des populations aux herbicides – ce critère impose de prévoir des alternances ou des mélanges de matières actives efficaces ;

– des caractéristiques écotoxicologiques des produits, critère à prendre en compte dans le cadre d'une agriculture respectueuse de l'environnement.

Pour se convaincre du caractère multicritère du processus de prise de décision, il suffit de considérer le cas concret suivant : une parcelle de blé de 10 ha, absolument exempte de mauvaises herbes, à l'exception d'un individu – disons de gaillet, par exemple – dont on ne connaîtrait pas la position. L'intuition et le bon sens indiquent clairement de ne pas traiter cette parcelle pour un seul individu, et d'économiser ainsi du temps de travail, le coût du produit, du fonctionnement de tracteur et de pulvérisateur, des risques éventuels pour l'environnement et pour la santé de l'agriculteur. Pourtant, si celui-ci disposait d'un herbicide efficace sur gaillet, gratuit, aussi inoffensif pour l'environnement que de l'eau, et qui s'appliquerait d'un coup de baguette magique, il est probable qu'il déciderait de traiter, pour éviter le risque que cet individu produise des semences capables de reconstituer une infestation qui poserait des problèmes dans quelques années (toute considération sur la biodiversité mise à part !).

Les systèmes d'aide à la décision de nouvelle génération, pour le choix tactique de méthodes de lutte contre les mauvaises herbes à l'échelle de la campagne agricole, devront donc intégrer :

– la prise en compte des risques malherbologiques à long terme, dans les cultures de la rotation, associés à chaque espèce présente, en fonction de la biologie de chaque espèce et du système de culture prévu sur la parcelle dans les années à venir ;

– le caractère multicritère de la prise de décision.

Conclusion

La lutte contre les mauvaises herbes correspond à des enjeux agronomiques, environnementaux et sociétaux très forts, avec la fin des systèmes de gestion reposant intégralement sur la lutte chimique. Ces enjeux génèrent des attentes très fortes vis-à-vis de la protection intégrée, dont les principes sont progressivement

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

définis, avec le soutien des scientifiques agronomes qui investissent ce champ de recherche, après avoir longtemps laissé aux chimistes le soin de trouver des solutions techniques. Les connaissances progressent et s'organisent, mais les modèles et outils facilitant la mise en œuvre pratique de la protection intégrée sont encore à mettre au point. Au regard de la complexité des systèmes étudiés (multiplicité des espèces et de leurs caractéristiques biologiques, multiplicité des facteurs agronomiques à prendre en compte, diversité des innovations techniques et agronomiques à développer et évaluer), la protection intégrée contre les mauvaises herbes apparaît comme un thème scientifique porteur pour le début du XXI[e] siècle.

Références bibliographiques

Barralis G., Chadœuf R., Lonchamp J.-P. (1988). Longévité des semences de mauvaises herbes annuelles dans un sol cultivé. *Weed Res*, **28** : 407-418.

Buhler D.D., King R.P., Swinton S.M., Gunsolus J.L., Forcella F. (1996). Field evaluation of a bioeconomic model for weed management in corn (*Zea mays*). *Weed Sci*, **44** : 915-923

Castro-Tendero A.J., Garcia-Torres L. (1995). SEMAGI: An expert system for weed control decision making in sunflowers. *Crop Prot*, **14** : 543-548.

Caussanel J.-P. (1996). Concurrence, compétition et nuisibilité des mauvaises herbes. *Phytoma*, **484** : 21-24

Chauvel B., Guillemin J.-P., Colbach N., Gasquez J. (2001a) Evaluation of cropping systems for management of herbicide resistant populations of blackgrass (*Alopecurus myosuroides* Huds.). *Crop Prot*, **20** : 127-137.

Chauvel B., Biju-Duval L., Jouy L. (2001b) Gestion des populations de vulpins résistants : quelles possibilités offrent les pratiques culturales ? *Phytoma*, **544** : 30-34.

Colbach N., Chauvel B., Durr C., Richard G. (2002). Effect of environmental conditions on *Alopecurus myosuroides* germination. I. Effect of temperature and light. *Weed Res*, **42** : 210-221.

Colbach N., Debaeke P. (1998). Integrating crop management and crop rotation effects into models of weed population dynamics: a review. *Weed Sci*, **46** : 717-728.

Colbach N., Dürr C., Richard G., Chauvel B. (2000a). Modelling black-grass (*Alopecurus myosuroides* Huds.) germination and emergence, in interaction with seed characteristics and movements and soil climate. *In* XI[e] Colloque International sur la Biologie des Mauvaises Herbes, Dijon, 25-32.

Colbach N., Roger-Estrade J., Chauvel B., Caneill J. (2000b). Modelling vertical and lateral seed bank movements during mouldboard ploughing. *Eur J of Agronomy*, **13** : 111-124.

Cousens R., Moss S.R. (1990). A model of the effects of cultivation on the vertical distribution of weed seeds within the soil. *Weed Res*, **30** : 61-70.

Cousens R., Weaver S.E., Martin T.D., Blair A.M., Wilson J. (1991). Dynamics of competition between wild oats (*Avena fatua* L.) and winter cereals. *Weed Res*, **39** : 203-210.

Czapar G.F., Curry M.P., Wax L.M. (1997). Grower acceptance of economic thresholds for weed management in Illinois. *Weed Technol*, **11** : 828-831.

Delabays N.,Ançay A., Mermillod G. (1998). Recherche d'espèces végétales à propriétés allélopathiques. *Rev suisse Vitic Arboric Hortic*, **6** : 383-387.

Delabays N., Mermillod G. (2001). Mise en évidence, au champ, des propriétés allélopathiques de l'*Artemisia annua* L. *In* 18[e] conférence du COLUMA, Journées Internationales sur la Lutte contre les Mauvaises Herbes, 269-275.

Doyle C.J., Cousens R., Moss S.R. (1986). A model of the economics of controlling *Alopecurus myosuroides* Huds. in winter wheat. *Crop Prot*, **5** : 143-150.

Forcella F., Wilson R.G., Dekker J., Kremer R.J., Cardina J., Anderson R.L., Alm D., Renner K.A., Harvey R.G., Clay S., Buhler D.D. (1997). Weed seed bank emergence across the Corn Belt. *Weed Sci*, **45** : 67-76.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Iqbal J., Wright D. (1997). Effects of nitrogen supply on competition between wheat and three annual weed species. *Weed Res*, **37** : 391-400.

Jouy L., Guilbert F. (1998). Influence des pratiques culturales sur l'évolution de la flore adventice en grandes cultures. *In* 17e conférence du COLUMA, Journées internationales sur la lutte contre les mauvaises herbes, 79-90.

Jouy L., Munier-Jolain N.M. (2001) Gestion de l'interculture, désherbage et protection des cultures. *In* SIMA : du labour au semis direct : enjeux agronomiques. INRA/CTIFL, Paris, 18-20 www.inra.fr/actualités/Dossiers/Sol/labour09.html.

Kwon T.J., Young D.L., Young F.L., Boerboom C.M. (1995). PALWEED:WHEAT: A bioeconomic decision model for postemergence weed management in winter wheat (*Triticum aestivum*). *Weed Sci*, **43** : 595-603.

Lecomte C., Heumez E., Pluchard (2000). Identification de différences génotypiques dans la réponse aux contraintes environnementales : cas de la concurrence due aux mauvaises herbes dans une culture de blé tendre d'hiver. *In* Maillard P., Bonhomme R., *Fonctionnement des peuplements végétaux sous contraintes environnementales*. INRA, Paris, 539-558.

Le Corre V., Assémat L. (2000). Predicting weed seed production from spatialized data : a case study using *Setaria viridis* and *Solanum nigrum* in maize. *In* 11e Colloque International sur la Biologie des Mauvaises Herbes, 297-304.

Lybecker D.W., Schweitzer E.E., King R.P. (1991). Weed management decisions in corn based on bioeconomic modelling. *Weed Sci*, **39** : 124-129.

Munier-Jolain N.M. (2001). Effets de l'écartement entre les rangs sur la croissance et la production semencière des mauvaises herbes. *In* 18e conférence du COLUMA, Journées Internationales sur la Lutte contre les Mauvaises Herbes, 33-40.

Munier-Jolain N.M., Chauvel B., Gasquez J. (2002). Long-term modelling of weed control strategies: analysis of threshold bases options for weed species with contrasted competitive abilities. *Weed Res*, **42** : 107-122.

Munier-Jolain N.M., Chauvel B. (2003). Maîtriser les mauvaises herbes : le pois de printemps, une solution simple et durable. Perspectives Agricoles, **288** : 22-24

Moss S.R. (1987). Influence of soil tillage, straw disposal system and seed return on the population dynamics of *Alopecurus myosuroides* Huds. in winter wheat. *Weed Res*, **27** : 313-320.

Murdoch A.J. (1983). Environmental control of germination and emergence in *Avena fatua*. *Aspects of Applied Biology*, **4** : 63-69.

Peters N.C.B. (1986). Factors affecting seedling emergence of different strains of *Avena fatua* L. *Weed Res*, **26** : 29-38.

Rasmussen I.A. (2004). The effect of sowing date, stale seedbed, row width and mechanical weed control on weeds and yields of organic winter wheat. *Weed Res*, **44** : 12-20.

Roberts H.A., Margaret E. (1979). Quantitative relationships between the weed flora after cultivation and the seed population in the soil. *Weed Res*, **19** : 269-275.

Roussel O., Cavelier A., van der Werf H. (2000). Adaptation and use of a fuzzy expert system to assess the environmental effect of pesticides applied to field crops. *Agr Ecosyst Environ*, **80** : 143-158.

Spitters C.J.T., Kropff M.J., De Groot W. (1989). Competition between maize and Echinochloa crus-galli analysed by a hyperbolic regression model, *Ann Appl Biol*, **115** : 541-551.

Steinmann H.H., Forstreuter C., Heitefuss R. (1997). Effects of extensifying farming systems on weeds and their regulation. *In* Gerowitt B. et Wildenhayn M., *Ecological and economic effects of extensifying arable farming systems*. Université de Göttingen, Göttingen, 127-154.

Stigliani L., Resina C. (1993). SELOMA : expert system for weed management in herbicide-intensive crops. *Weed Technol*, **7** : 550-559.

Swinton S.M., King R.P. (1994). A bioeconomic model for weed management in corn and soybean. *Agr Syst*, **44** : 313-335.

Valantin-Morison M., Meynard J.-M., Grandeau G., Bonnemort C., Chollet D. (2003). Yield variability of Organic Winter Oil Seed Rape (WOSR) in France: a diagnosis on a network of farmers fields. *In* 11th International Rapeseed Congress Towards Enhanced value of cruciferous oilseed crops by optimal production and use of the high quality seed components. GCIRC, Copenhaguen.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Wiles L.J., King R.P., Schweitzer E.E., Lybecker D.W., Swinton S.M. (1996). GWM: General weed management model. *Agr Syst*, **50** : 355-376.

Wilkerson G.G., Modena S.A., Coble H.D. (1991). HERB : Decision model for postemergence weed control in soybean. *Agron J*, **83** : 413-417.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

19

Quelles méthodes de contrôle pour les plantes parasites ?

Georges Sallé, Christiane Tuquet,
Josiane Paré

Au cours de l'évolution, certaines spermatophytes ont perdu leur autotrophie et sont devenues parasites d'autres plantes supérieures appelées plantes hôtes. Selon les auteurs, le nombre d'espèces de plantes parasites varie. Une mise au point récente (Raynal-Roques et Paré, 1998) l'estime à 4 700, soit moins de 2 % de l'ensemble des spermatophytes. Toutes les plantes parasites sont des dicotylédones appartenant à une vingtaine de familles dont cinq regroupent la quasi-totalité des espèces ayant un impact négatif sur les cultures et les exploitations forestières des zones tempérées et tropicales (*Cuscutaceae*, *Orobanchaceae*, *Scrophulariaceae*, *Loranthaceae* et *Viscaceae*).

Les *Cuscutaceae*, *Loranthaceae* et *Viscaceae* sont des parasites épiphytes (fixés sur les parties aériennes de l'hôte) tandis que les *Orobanchaceae* et *Scrophulariaceae* sont des parasites épirhizes (fixés sur les racines des hôtes). Ces dernières sont de loin les plus nuisibles.

Les pertes économiques entraînées par les plantes parasites sont importantes (*cf.* encadré « L'extension de l'orobanche rameuse en France »). Bien que quelques estimations aient été établies durant ces vingt dernières années, elles sont cependant très difficiles à chiffrer avec précision.

Le *Striga hermonthica*, sur le continent africain, en est un parfait exemple puisqu'il représente un véritable fléau dans 17 pays et concerne 25 autres pays à un moindre degré. Les deux tiers des 73 millions d'hectares cultivés en céréales sur ce continent sont sérieusement infestés (Lagoke *et al.*, 1991). Les pays les plus concernés sont l'Éthiopie, le Mali, le Niger, le Nigeria, le Cameroun, le Tchad et le Soudan (Ouédraogo, 1995). Selon un rapport de la FAO (*Food and Agriculture Organization*) (Mboob, 1989), en Afrique, les pertes annuelles sont estimées à plus de sept milliards de USD. Ces estimations ne concernent que le *S. hermonthica* auquel il faudrait ajouter *S. asiatica*, *S. aspera* et *S. gesnerioides*.

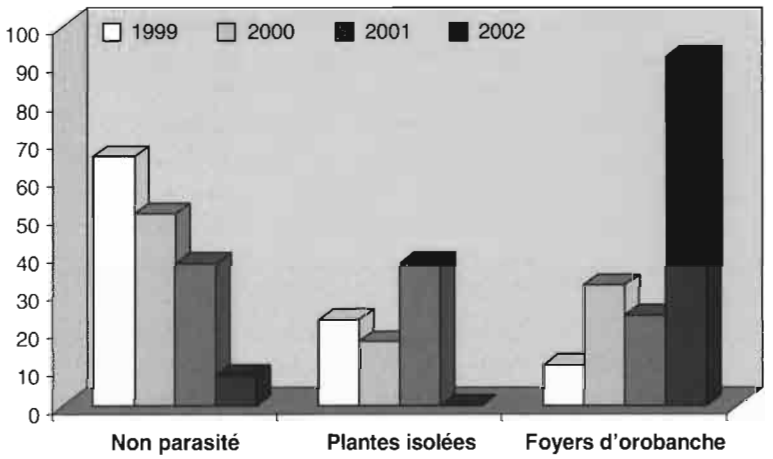
© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

L'extension de l'orobanche rameuse en France

Signalée en France depuis des dizaines d'années sur colza, chanvre et tabac, l'infestation par l'orobanche rameuse connaît depuis quelques années une extension inquiétante.

À la fin des années 90, le CETIOM (Centre technique interprofessionnel des oléagineux métropolitains) a commencé à prendre au sérieux cette infestation dans le secteur de Saint-Jean d'Angély (Charente-Maritime) où quelques champs de colza étaient complètement ravagés.

Depuis cette date, en collaboration avec le CETIOM, nous avons réalisé annuellement des enquêtes dans cette zone (Gibot-Leclerc *et al.*, 2003b). La figure ci-dessous montre l'évolution de l'infestation durant les quatre dernières années. Le pourcentage de parcelles de colza saines ne cesse de diminuer au profit des parcelles moyennement ou fortement infestées. Selon des chercheurs israéliens confrontés au même problème durant les années 70-80, il n'y a aucune raison pour que la tendance s'inverse. Un tel parasite ne disparaît jamais naturellement d'une région où la culture de plantes sensibles se poursuit.



Dernièrement, l'orobanche rameuse a également été signalée dans des champs de tabac et de chanvre. Une enquête, menée par l'ANITTA (Association nationale interprofessionnelle technique du tabac), avec le concours de notre laboratoire, a montré que sur les neuf coopératives tabacoles françaises, huit présentaient des attaques par l'orobanche rameuse avec, en moyenne, 30 à 40 % des terres concernées. Actuellement, en prenant en considération les trois principales cultures parasitées par cette orobanche (chanvre, colza et tabac), sur les 96 départements métropolitains, 22 sont contaminés. De plus, de nouveaux foyers sont régulièrement signalés.

Compte tenu des capacités d'adaptation de ce parasite et de l'absence de méthode de lutte efficace, sa progression dans les cultures est à craindre durant la décennie à venir.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Les orobanches quant à elles sévissent principalement dans les pays du pourtour méditerranéen. Les principales cultures mises en péril sont la fève, le tournesol, la tomate, le colza et le tabac (Gibot-Leclerc *et al.*, 2003b). Malheureusement, les estimations économiques dont on dispose sont très fragmentaires.

Quant aux parasites épiphytes appartenant aux *Loranthaceae* et aux *Viscaceae*, ils posent de véritables problèmes économiques en Afrique et en Asie où des essences forestières ou industrielles très importantes économiquement comme le karité, l'hévéa, le cacaoyer, le caféier ainsi que tous les agrumes sont fortement parasitées.

Les plantes parasites présentent des particularités biologiques et écophysiologiques qu'il est indispensable de rappeler avant d'envisager les principales méthodes de lutte visant à limiter leur impact agroéconomique. Dans ce chapitre, nous comparerons les situations rencontrées dans les pays développés à agriculture intensive à celles des pays en développement à agriculture extensive.

1. *Particularités biologiques et écophysiologiques des plantes parasites*

Parmi les plantes parasites, la grande majorité nécessite la présence d'une plante hôte pour se développer, ce sont des parasites obligatoires. Cependant, certaines dites parasites facultatifs (*Melampyrum*, *Thesium*, *Euphrasia* dans les régions tempérées ; *Buchnera* et *Rhamphicarpa* en régions tropicales) sont capables de pousser en l'absence d'hôte. Elles sont alors plus chétives et moins prolifiques (Ouédraogo *et al.*, 1998).

Les plantes parasites sont divisées en deux grands groupes selon leur niveau d'hétérotrophie : les hémiparasites chlorophylliennes, aptes à effectuer la photosynthèse et les holoparasites, dépourvues de pigments photosynthétiques, donc entièrement tributaires de leur hôte pour les substances carbonées, l'eau et les sels minéraux (Kuijt, 1969 ; Parker et Riches, 1993 ; Sallé *et al.*, 2000). Cependant, depuis quelques années, la limite entre ces deux ensembles n'est pas aussi tranchée puisque les hémiparasites montrent également des déficiences au niveau de leur activité photosynthétique qui les amènent à puiser dans leurs hôtes 30 à 70 % des produits carbonés nécessaires à leur développement (Graves *et al.*, 1990 ; Tuquet *et al.*, 1990, Tuquet et Sallé,1996).

1.1. Cycles biologiques

Deux cycles biologiques résument les principaux aspects opposant parasites épirhizes (*Scrophulariaceae* et *Orobanchaceae*) et parasites épiphytes (*Loranthaceae* et *Viscaceae*), les *Cuscutaceae* ayant un cycle biologique particulier (Sallé 2002 ; Sallé et Neumann, 2003).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1.1.1. Cycle biologique des plantes parasites épirhizes

On prendra l'exemple d'une *Scrophulariaceae* parasite africaine : *Striga hermonthica*. Le cycle biologique de *S. hermonthica* est adapté à son mode de vie parasitaire. Les différentes étapes dépendent des conditions climatiques et de la présence d'un hôte.

Les graines de *S. hermonthica* sont minuscules (moins de 0,3 mm de longueur), légères (4 à 6 µg) et produites en très grand nombre (10 000 à 50 000 graines par plant) sous la forme d'une poussière brunâtre (figure 1). Elles sont facilement disséminées par le vent, les eaux de ruissellement, le bétail, le matériel agricole et les échanges de semences contaminées sur les marchés locaux (Berner *et al.*, 1994). Dans le sol, elles peuvent conserver leur pouvoir germinatif pendant plus de 15 ans. Après une période de maturation, la graine doit subir un pré-conditionnement qui consiste en une imbibition. Ainsi, dès les premières pluies et après l'installation de la culture, les graines germent à condition d'être situées à proximité d'une racine hôte (moins de 3 mm). Les exsudats racinaires de cette plante doivent contenir des substances stimulant la germination des graines (strigol, sorgoléones, sorgolactones pour *Striga*, alectrol pour *Alectra* ou orobanchol pour les orobanches). Toutes ces molécules sont des quinones (Bouwmeester *et al.*, 2003).

Lors de la germination, les graines émettent une radicule très ténue qui, faute de réserves, doit se fixer rapidement (moins de 96 h) sur une racine hôte, sous peine de dégénérescence. À l'issue d'un dialogue moléculaire qui s'installe entre la racine hôte et la germination du *Striga*, des papilles se forment à l'extrémité de la radicule ce qui facilite l'adhérence du parasite sur l'hôte. Après la fixation, un suçoir ou haustorium est mis en place. Il pénètre dans les tissus de l'hôte, jusqu'aux éléments vasculaires, tandis que se développe une tige souterraine, translucide, munie d'écailles dépourvues de pigments chlorophylliens. La tige souterraine pousse verticalement jusqu'à émergence. Pendant la période souterraine, qui dure 35 à 45 jours, le *Striga* se nourrit entièrement aux dépens de l'hôte, il se comporte en holoparasite, particulièrement nuisible. Après l'émergence, le parasite forme des feuilles chlorophylliennes dont l'activité photosynthétique permet de produire une partie des substances carbonées nécessaires à son développement. Cinq à six semaines plus tard, une hampe florale croît, portant de très nombreuses fleurs roses, à l'origine, après fécondation, d'une importante production de graines microscopiques. Dès leur maturité, les graines entrent en dormance pendant 6 mois environ, c'est-à-dire durant la saison sèche dans les pays d'Afrique intertropicale, quand aucune culture ne pousse. Puis un nouveau cycle recommence dès la nouvelle saison humide.

Le cycle biologique des orobanches est comparable à celui des *Striga*, à deux différences près :

– dès le début du développement du suçoir, la partie externe à la racine hôte forme un tubercule volumineux, riche en réserves amylacées ;

– la partie émergée du parasite, charnue, dépourvue de véritables feuilles et de pigments chlorophylliens, se développe rapidement en une hampe florale.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1.1.2. Cycle biologique des plantes parasites épiphytes : Loranthaceae-Viscaceae *(guis ou* mistletoes*, au sens large)*

Les baies des guis (*Viscum album,* Viscacée) au sens large, sont volumineuses, plus ou moins ovoïdes et charnues. Elles ne contiennent qu'une seule graine entourée d'un tissu visqueux et collant, la viscine (figure 1). L'embryon est chlorophyllien et riche en amidon. Les graines sont disséminées par les oiseaux. Une fois déposées à la surface d'une branche hôte, elles germent en émettant un organe cylindrique, chlorophyllien, dont l'extrémité, plus ou moins renflée, est méristématique. Lorsque cette extrémité arrive au contact de la surface de la branche hôte, elle s'aplatit et forme un cône de fixation au centre duquel les cellules se multiplient activement pour former un jeune suçoir qui pénètre en force dans les tissus de l'hôte, à la manière d'un coin. Le suçoir progresse jusqu'au cambium de l'hôte puis établit une surface de contact avec les éléments du bois de l'hôte, facilitant les échanges entre les deux partenaires. Pendant ce temps, la partie aérienne se développe. Alors que chez le gui européen (*Viscum album, Viscaceae*) la floraison ne démarre qu'à la quatrième année, chez les *Loranthaceae* africaines (*Tapinanthus sp., Globimetula sp., Phragmanthera sp.*), elle peut avoir lieu dès la première année. Chaque touffe de gui produit de très nombreuses baies (Sallé et Neumann, 2003).

1.2. Mode de dissémination des graines des plantes parasites

Selon leurs dimensions, les modes de dissémination des graines varient. Les graines volumineuses des *Loranthaceae* et des *Viscaceae* (figure 1), entourées de viscine, sont presque exclusivement disséminées par les oiseaux. Cependant, contrairement à ce que l'on a affirmé pendant longtemps, le passage de la graine dans le système digestif d'un oiseau n'est pas indispensable pour la germination.

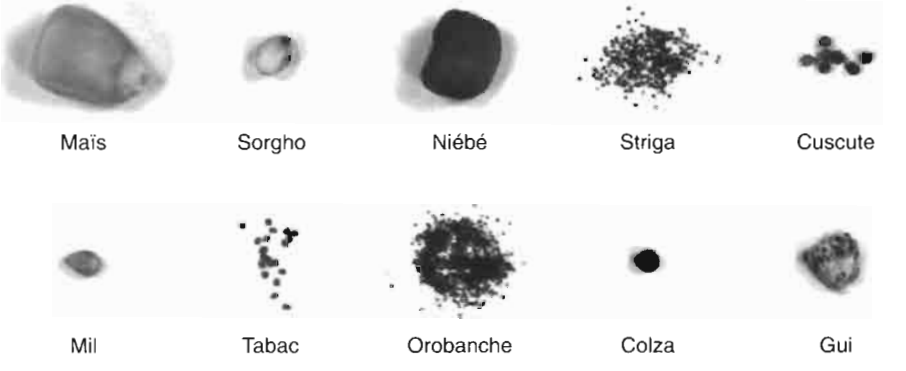


Figure 1 ■ Comparaison de la taille des graines de différentes plantes autotrophes et parasites.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Les graines plus petites des cuscutes (1 à 2 mm) et surtout des *Orobanchaceae* (*Orobanche sp.*) et des *Scrophulariaceae* parasites épirhizes (*Striga*, *Alectra*, *Buchnera*, *Rhamphicarpa*) qui sont microscopiques (0,2 à 0,3 mm), sont généralement disséminées par le vent, les eaux de ruissellement, les animaux et les activités humaines (activités agricoles, échanges nationaux et internationaux, vente de semences contaminées sur les marchés locaux). À ce sujet, il est important de signaler quelques cas d'introduction de graines de parasites épirhizes sur le continent nord-américain : *O. ramosa* a été introduite avec des semences de *Cannabis sativa*, et *S. asiatica* est arrivée en Caroline du Nord avec des semences de maïs au début des années 50.

La présence de graines de *S. hermonthica* parmi les semences de sorgho n'est pas étonnante quand on connaît les modalités de récolte de cette céréale en Afrique : les paysans sectionnent les tiges à leur base puis les couchent sur le sol afin de permettre le séchage des épis. Malheureusement, dans les zones parasitées, ces derniers sont en contact avec des plants de *S. hermonthica* fructifiés. Lors de la récolte des épis, de nombreuses graines du parasite sont piégées dans les épis et les semences de sorgho vendues sur les marchés locaux sont alors contaminées. Ainsi, lors du semis, les paysans sèment simultanément les graines du parasite avec les semences de la céréale. Dans ces conditions, on comprend mieux la rapide extension de ces parasites.

2. *La lutte contre les plantes parasites épirhizes*

L'existence d'une longue phase de développement souterrain chez les plantes parasites épirhizes accroît les conséquences agronomiques car le paysan, insuffisamment informé, ne soupçonne pas la présence du parasite, à moins qu'il ne déterre quelques plants. Ceci complique la lutte contre les plantes parasites épirhizes. La meilleure connaissance de la biologie et de l'écophysiologie des plantes parasites a mis en évidence des périodes déterminantes, comme la germination ou la fixation sur l'hôte, sur lesquelles on peut espérer agir afin de limiter le développement des parasites.

Le mode de vie des parasites épirhizes ainsi que leur adaptation à l'écologie de la zone où elles sévissent, rendent la lutte contre ce fléau très difficile. Actuellement, il n'existe aucun moyen simple pour les éradiquer. La plupart des méthodes proposées ont une application limitée, particulièrement dans les pays en développement. Classiquement, la lutte contre les agents pathogènes fait appel soit à des méthodes préventives visant à réduire les risques d'infection, soit à des méthodes curatives consistant à éliminer le parasite installé. Ce type de présentation amène souvent des répétitions, une même méthode pouvant se retrouver dans les deux rubriques. C'est pourquoi nous préférons distinguer trois principales stratégies de lutte :

- les mesures visant à réduire le stock de graines du parasite dans le sol ;
- les mesures visant à réduire la production de nouvelles graines du parasite ;
- la lutte intégrée.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Dans cette optique, le stock semencier des parasites épirhizes dans le sol est au « cœur du problème ». Les caractéristiques physiques (longévité, petitesse, légèreté, production massive) et biologiques des graines (germination nécessitant un préconditionnement préalable puis une stimulation par des molécules contenues dans les exsudats racinaires des hôtes) sont responsables de leur pouvoir infectieux (*cf.* encadré « Le stock semencier des plantes parasites épirhizes dans le sol »).

Le stock semencier des plantes parasites épirhizes dans le sol : une donnée essentielle trop souvent ignorée

Les graines des parasites épirhizes (*Striga* et orobanches) sont microscopiques et ont l'aspect d'une poussière noirâtre. C'est pourquoi les paysans des zones sahéliennes ignorent généralement l'origine des attaques de *Striga*. Ils n'ont jamais vu les graines.

On dispose actuellement de quelques données sur les graines des parasites épirhizes dans le sol :

– leur distribution dans un champ est très hétérogène. Elle dépend étroitement de la topographie du terrain ;

– elles sont essentiellement localisées dans les 20 premiers centimètres du sol ;

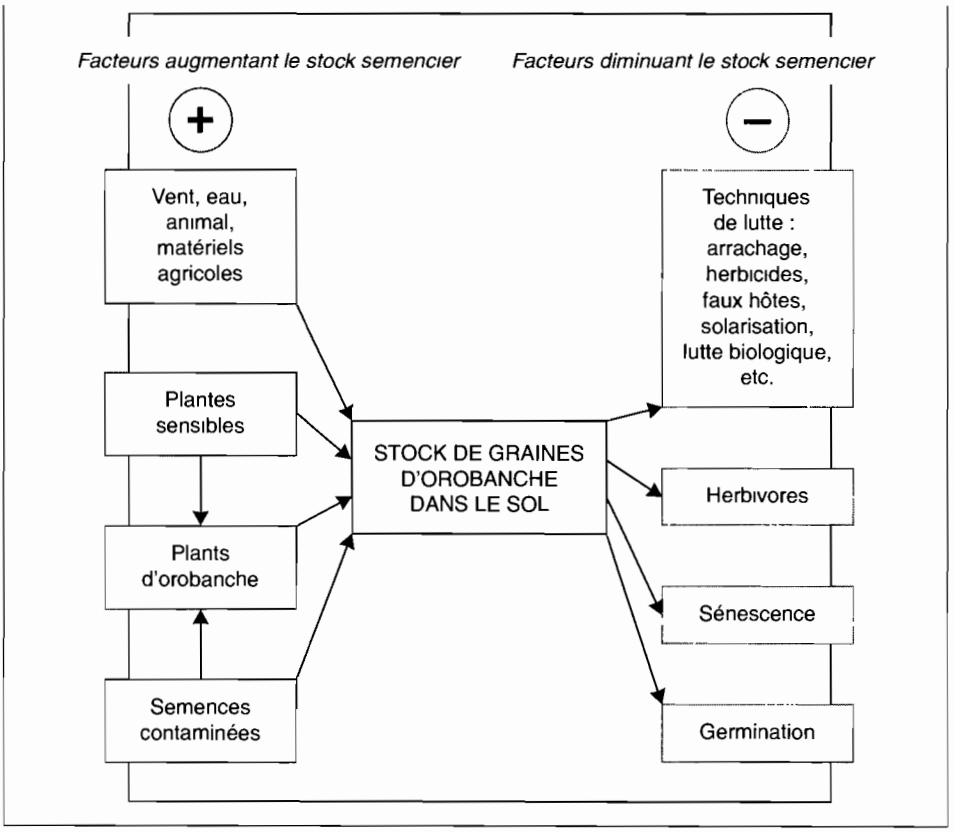
– au laboratoire, elles conservent leur pouvoir germinatif pendant plus d'une dizaine d'années. Dans le sol, elles semblent le perdre plus rapidement ;

– leur dénombrement est possible mais nécessite la mise en œuvre de manipulations relativement lourdes (carottages, flottaison, centrifugation, observation sous loupe binoculaire).

Malheureusement, dans les études réalisées aux champs, le paramètre « stock semencier des parasites épirhizes dans le sol » n'est généralement pas pris en considération. Or, nous savons (schéma) que l'utilisation de semences contaminées, et de plantes sensibles, augmente directement ce stock dans le sol. De plus, les facteurs de dissémination sont nombreux. À l'opposé, la germination des graines, leur mort, leur consommation par des herbivores et l'utilisation de différentes méthodes de lutte réduisent le stock de graines dans le sol. Compte tenu de ces observations, si l'on considère l'évolution du stock semencier dans le sol, on peut penser qu'il augmente beaucoup plus rapidement qu'il ne se réduit, si bien qu'un terrain contaminé aura une probabilité quasiment nulle de voir décroître naturellement sa contamination.

La connaissance du stock semencier de *Striga* ou d'orobanches dans le sol apparaît donc indispensable. Aussi serait-il souhaitable de l'établir avant la mise en place de toute culture, non seulement pour estimer les risques d'infestation, mais aussi pour être à même de quantifier l'effet des traitements appliqués en vue de diminuer ce stock.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit



2.1. Méthodes de lutte visant la réduction du stock de graines du parasite dans le sol

Les méthodes de lutte permettant de diminuer le nombre de graines dans le sol sont capitales pour réduire les pertes de rendement. Cependant, il existe peu de moyens applicables dans cette optique, et ceux qui existent ne sont pas toujours accessibles aux paysans les plus démunis. On distingue deux principales méthodes : les méthodes culturales avec les cultures de faux-hôtes et les cultures pièges, et les méthodes chimiques avec utilisation de fumigants et de stimulants de la germination.

2.1.1. Pratiques culturales réduisant le stock de graines du parasite dans le sol

2.1.1.1. Culture de faux-hôtes (trap crops)

Les faux-hôtes sont des plantes qui provoquent la germination des plantes parasites épirhizes non suivie de la fixation (figure 2). Elles sont à l'origine de « germinations suicides » qui, en l'absence de plantes hôtes, dégénèrent en 4-5 jours. Le tableau 1 récapitule les principaux faux-hôtes pour les *Striga* et les orobanches.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

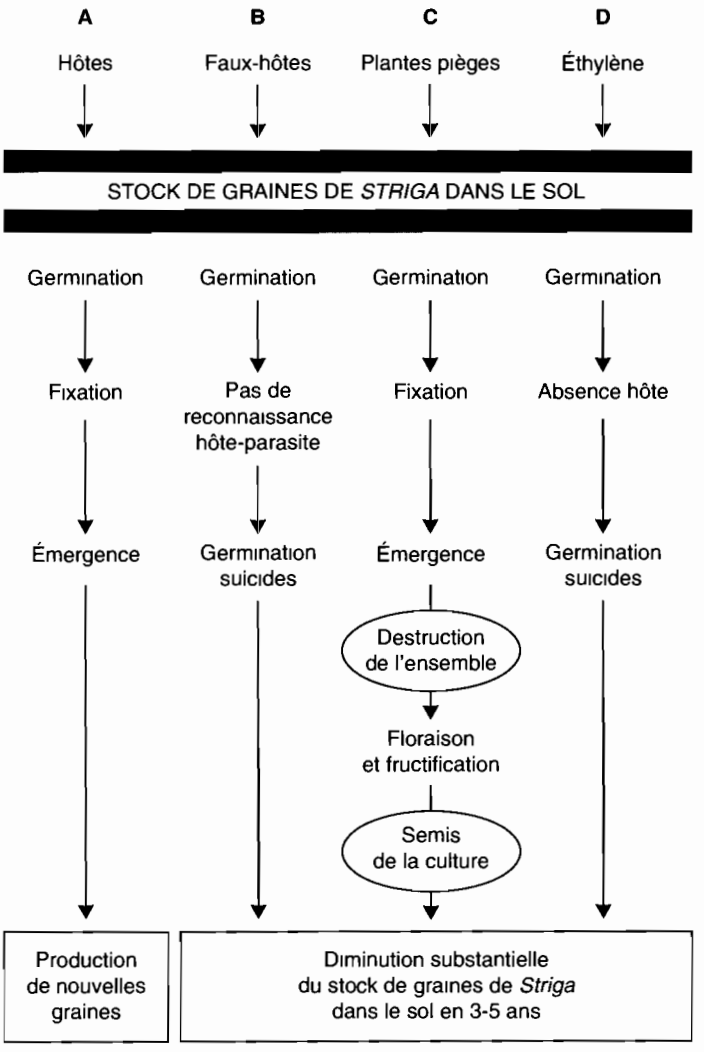


Figure 2 ■ Effets de faux-hôtes, des plantes pièges et de l'éthylène sur le stock semencier du *Striga* dans le sol.

Récemment, au laboratoire, nous avons montré que pour être efficace, l'utilisation des faux-hôtes doit être accompagnée par la destruction des mauvaises herbes susceptibles de servir d'hôtes relais (Gibot-Leclerc *et al.*, 2003a).

La rotation avec les faux-hôtes nécessite plusieurs années de culture pour diminuer significativement le stock de graines de *Striga* ou d'orobanche dans le sol et ainsi réduire la pression de ces parasites sur les cultures. L'utilisation des légumineuses (ou *Fabaceae*) comme faux-hôtes ou des cultures fertilisantes comme le coton peut augmenter à la fois la fertilité du sol et les rendements.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau 1 ■ Principales plantes faux-hôtes et plantes pièges utilisables pour lutter contre les *Striga* et les orobanches.

Plante parasite	Faux-hôtes	Plantes pièges
Orobanche spp.	*Allium sativum* *Capsicum annuum* *Glycine max* *Gossypium spp.* *Lablab purpureum* *Lathyrus ochrus* *Linum usitatissimum* *Pisum sativum* *Phaseolus aureus* *Phaseolus vulgaris* *Ricinus communis* *Trifolium alexandrinum* *Frigonella fœnum* *Vigna radiata* *Vigna unguiculata*	*Brassica campestris* *Vicia sativa* *Pisum sativum*
Striga spp.	*Arachis hypogaea* *Crotalaria juncea* *Dolicos lablab* *Glycine max* *Gossypium spp.* *Helianthus annuus* *Linum usitatissimum* *Pisum sativum* *Ricinus communis* *Vigna unguiculata*	*Sorghum sudanense*

2.1.1.2. Cultures pièges (catch crops)

L'utilisation des cultures pièges (figure 2) consiste à semer une plante sensible (plante cultivée ou non), pour induire la germination des graines de *Striga* ou d'orobanche, puis à enfouir le tout avant le semis de la culture principale et la production de nouvelles graines du parasite. Les cultures pièges peuvent être des plantes fourragères ou des plantes susceptibles de servir d'engrais vert.

La technique a surtout été utilisée durant la période coloniale par les riches fermiers d'Afrique du Sud et de l'Est, où elle était accompagnée d'un arrachage manuel. Le coût d'une telle technique est inaccessible aux paysans démunis. Par définition, la culture piège la plus efficace est l'espèce hôte la plus sensible qui induit un taux de germination maximal des graines des parasites épirhizes. Ainsi, au Soudan, l'utilisation de *Sorghum sudanense* comme culture piège (tableau 1) s'est montrée efficace contre les *Striga* (Bebawi, 1984).

Comme pour les faux-hôtes, la technique des plantes pièges nécessite plusieurs années avant d'avoir un effet notable. De plus, en zone intertropicale, il faut dis-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un delit

poser d'une saison des pluies assez longue ou pouvoir irriguer les parcelles. Cette technique ne peut donc pas être appliquée dans la zone sahélienne à cause de la faiblesse des moyens dont disposent les paysans, mais surtout en raison des incertitudes pluviométriques.

2.1.2. Méthode chimique

Cette approche vise essentiellement à détruire les graines des plantes parasites épirhizes à l'aide de produits chimiques avant l'implantation des cultures. Deux groupes de produits sont utilisés : d'une part, les produits qui tuent directement les graines et, d'autre part, ceux qui provoquent la germination des graines de *Striga* ou d'orobanche en l'absence d'hôte, induisant ainsi des « germinations suicides ». Dans les deux cas, les produits chimiques utilisés sont multiples.

L'utilisation de fumigants pour tuer les graines de *Striga* ou d'orobanche dans le sol est très efficace. Les produits utilisés sont : le bromure de méthyle, le métam-sodium et le dazomet. Le traitement avec le bromure de méthyle, bien que très efficace, est très onéreux car il nécessite la couverture du sol avec une bâche en matière plastique et une quantité élevée de produit (entre 350 et 500 $kg.ha^{-1}$). De plus, ces substances sont toxiques pour l'homme et les animaux. Les deux autres produits, le métham sodium et le dazomet, appliqués sous la forme de granulés, bien que moins chers, ne peuvent être utilisés que dans les stations expérimentales, sur de petites surfaces.

Une autre alternative consiste à provoquer la germination des graines de *Striga* en l'absence d'hôte par injection d'éthylène gazeux dans le sol, à raison de 1 à 2 $kg.ha^{-1}$ (figure 2). Sur *S. asiatica,* ce traitement entraîne 90 % de réduction du stock de graines (Eplee, 1975). L'utilisation de l'éthylène gazeux nécessite un matériel sophistiqué, mis au point dans les fermes expérimentales de Caroline du Nord (États-Unis), qui n'est pas à la portée des paysans de la zone sahélienne. Les essais réalisés en Afrique intertropicale avec des appareils portables n'ont pas donné satisfaction. L'éthephon, qui libère de l'éthylène après hydrolyse, s'est montré très efficace contre *S. hermonthica*, mais cette voie n'a pas été poursuivie.

L'utilisation des analogues synthétiques du strigol comme les GR 7, GR 15, GR 24, GR 27, GR 28 et GR 45 ont donné des résultats prometteurs en laboratoire, voire en stations expérimentales pour certains (GR 7 et GR 24 ; Eplee, 1975). Selon Babiker et Hamdoun (1983), le GR 7 appliqué à 2 $kg.ha^{-1}$, provoque une diminution de 75 % de l'infestation par le *Striga*. Par contre, les essais effectués au Nigeria sur le couple sorgho-*S. hermonthica* ont donné des résultats variables (Ogborn, 1984). Les analogues synthétiques du strigol ont cependant le défaut d'être instables dans le sol, surtout dans les sols alcalins (Hassanali, 1984). Des recherches complémentaires sont donc nécessaires pour trouver des produits à la fois plus stables dans le sol, moins chers et facilement utilisables en milieu paysan (Mwakaboko, 2003 ; Reizelman, 2003).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

2.1.3. Solarisation

À ces méthodes chimiques, on peut ajouter une technique physique qui consiste à recouvrir le sol d'un film plastique. Cette technique, appelée solarisation, permet d'élever la température du sol entre 50 et 60 °C et de tuer les graines de *Striga* et d'orobanche avant le semis (Jacobsohn *et al.*, 1980). Elle présente l'avantage de détruire également les graines des mauvaises herbes ainsi que les nématodes. Cependant, elle n'épargne pas la microfaune et la microflore du sol, indispensables pour une bonne aération de celui-ci. Cette technique est très efficace en serres (Bourbos et Skoudridakis, 1991). Son utilisation aux champs sur de grandes surfaces n'est pas sans poser des problèmes de logistique.

2.2. Méthodes limitant l'infestation

Ces méthodes consistent à s'accommoder de la présence des parasites épirhizes tout en essayant de réduire leur impact économique. La réduction de l'infestation peut se faire par des techniques aboutissant à une diminution du nombre de plants de *Striga* ou d'orobanche dans les champs, permettant une production quasi-normale tout en diminuant la quantité de graines produites. Les techniques sont d'ordre agronomique, génétique, chimique ou biologique.

2.2.1. Les méthodes agronomiques

Les méthodes agronomiques couvrent un large éventail allant des techniques simples, mais pas toujours réalisables, comme l'arrachage, l'irrigation, la fumure, le travail du sol ou la date de semis, à l'amélioration de l'état phytosanitaire des cultures et des semences en passant par la rotation et l'association culturales.

2.2.1.1. L'arrachage manuel

C'est la technique la plus simple qui ne nécessite aucun matériel sophistiqué. Pour être efficace, l'arrachage doit être répété plusieurs fois dans la saison afin de tenir compte du développement continuel des parasites *via* les nombreux individus souterrains. D'autre part, une fois les parasites arrachés, leurs fleurs fécondées sont capables de mener à terme leur développement, même en l'absence d'hôte. Il est donc fortement conseillé d'entasser les parasites arrachés hors du champ infesté et de les détruire par le feu. Sa pratique répétée pendant plusieurs années sur des champs de sorgho infestés par *S. hermonthica* ou de tabac parasités par *O. ramosa* a montré un effet positif sur le rendement. Cependant, l'expérience sur le terrain montre que cette pratique ne peut être appliquée que dans des champs en début d'infestation. L'élimination des premières hampes florales retarde significativement la généralisation de l'attaque. Malheureusement, dans les pays du Sahel, les paysans considèrent que l'arrachage nécessite une main-d'œuvre trop importante pour des résultats trop souvent insuffisants.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

2.2.1.2. L'irrigation

L'humidité du sol influence négativement le développement des parasites épirhizes. C'est ainsi qu'en Afrique intertropicale, les cultures de sorgho ou de riz pluvial réalisées dans les bas-fonds sont moins attaquées, tout comme les parcelles de canne à sucre sous irrigation continue. Ceci peut s'expliquer par une dilution importante des exsudats racinaires. Par ailleurs, cette technique n'est pas réalisable dans les pays du Sahel où sévit la sécheresse.

2.2.1.3. La fumure

L'apparition des *Striga* et des orobanches dans les cultures est généralement associée à la pauvreté des sols. Tout naturellement, on pense que l'apport d'engrais organiques ou minéraux devrait améliorer la situation. Toutefois, la mise en place des cultures dans de bonnes conditions de végétation reste toujours dépendante de la pluviométrie et des caractéristiques du sol. De nombreux travaux réalisés en laboratoire et sur le terrain ont montré que l'apport de fumure azotée peut diminuer les pertes causées par le *Striga* ou les orobanches. Les formes de fumure azotée généralement proposées sont des sulfates d'ammoniaque ou de l'urée. Le danger avec ces sources d'azote réside dans leur pouvoir acidifiant du sol qui à la longue, et compte tenu des doses élevées conseillées, peut entraîner des pertes autrement plus graves que celles dues au *Striga* (Ogborn, 1984). Les doses préconisées sont en général assez élevées, 60 à 100 kg d'azote.ha^{-1} (Kukula et Masri, 1984), ou très élevées, 1 120 à 3 660 kg d'azote.ha^{-1} aux États-Unis (Doggett 1984). Or, de telles quantités ne sont pas applicables par les paysans les plus démunis. De plus, il faut être prudent car les faibles doses pourraient favoriser le développement du *Striga* en augmentant les capacités de l'hôte à mieux supporter les parasites. L'apport d'azote doit être accompagné d'un relèvement du niveau des autres éléments fertilisants comme le phosphore et le potassium, afin d'optimiser l'utilisation de l'azote par les plantes.

En ce qui concerne la fumure organique, son intérêt est connu depuis longtemps en milieu paysan pour l'amélioration des rendements et pour la lutte contre le *Striga*. Cependant, le fumier peut également être source d'infestation car les graines de *Striga* traversent le système digestif des animaux sans perdre leur viabilité. Dans cette optique, le fumier produit en saison sèche serait donc le meilleur.

D'une manière générale, qu'il s'agisse de fumure minérale ou organique, la dose, la forme ainsi que l'époque d'application doivent être définies pour chaque parasite, pour chaque zone, pour chaque type de culture et pour chaque système cultural.

2.2.1.4. Le travail du sol

Le travail du sol peut donner des résultats tout à fait contradictoires selon sa nature et sa profondeur. Les graines de *Striga* ou d'orobanche sont préférentiellement réparties dans les 20 premiers centimètres de terre arable. Des expériences de labour superficiel, réalisées au Mali sur un sol sableux (Dembélé, 1988), cultivé en niébé

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

et infesté par *S. gesnerioides*, ont montré une réduction des rendements due à une homogénéisation de la répartition des graines de *Striga* dans le sol. Seuls des labours profonds (supérieur à 30 cm) pourraient améliorer la situation car les graines de *S. hermonthica*, enterrées à 50 cm de profondeur, perdent leur viabilité en trois mois. Malheureusement, de telles profondeurs de labour sont rarement envisageables.

2.2.1.5. La date de semis

En zone semi-aride, le paysan a rarement le choix de la date du semis du fait de l'irrégularité des pluies en début d'hivernage. Néanmoins, dans les zones où cela est possible, on peut réduire les infestations de *Striga* et d'orobanche par des semis précoces qui permettent l'établissement de la culture avant que les températures ne deviennent favorables au développement du parasite, ou par des semis tardifs, au moment où les pluies sont régulières, ce qui permet d'éviter les périodes de sécheresse intermittentes favorisant le parasitisme. Le risque majeur des semis tardifs est que la culture n'achève pas son cycle. On peut minimiser les risques d'absence d'épiaison des céréales en choisissant des variétés précoces.

2.2.1.6. La rotation culturale

La pratique de la monoculture est malheureusement très répandue dans l'agriculture extensive africaine et apparaît également dans certaines cultures pratiquées en Europe (par exemple tabac et chanvre). Elle favorise fortement l'augmentation du stock de graines de *Striga* ou d'orobanche dans les sols contaminés.

La mesure agronomique de base qui doit être scrupuleusement respectée est la rotation culturale, de telle sorte que la culture sensible ne revienne que tous les quatre ou cinq ans. Cette rotation peut être optimisée en introduisant des faux-hôtes dans le cycle. Dans ces conditions, l'amélioration de la situation ne peut être décelée qu'après plusieurs années.

2.2.1.7. L'association culturale

Cette méthode a été testée au Mali et au Burkina Faso pour lutter contre le *S. hermonthica*. Elle consiste à intercaler, entre les rangs de céréale (sorgho ou mil) un ou plusieurs rangs d'arachide, de niébé ou de coton (Dembélé, 1988 ; Ouédraogo, 1995). En plus de la diminution de la pression parasitaire, le revenu monétaire ainsi obtenu est plus élevé que celui de la céréale en culture pure. Cependant, là encore, convient-il d'être très prudent, car dans certains champs où les cultures associées sorgho/niébé ou sorgho/maïs sont pratiquées, on peut rencontrer outre *S. hermonthica*, *S. gesnerioides* ou *S. aspera*.

2.2.1.8. État phytosanitaire des cultures

Un travail récent (Gibot-Leclerc *et al.*, 2003a), effectué en France sur le couple *O. ramosa*-colza d'hiver a montré que la majorité des adventices affines du colza

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

sont parasitées par l'orobanche rameuse. Lorsque le niveau d'infestation des champs de colza est important, vers la fin de la saison culturale, la couverture du sol diminue considérablement, favorisant le développement des adventices. Celles-ci peuvent alors jouer le rôle de plantes hôtes et donc participer à l'extension du parasite. Ceci est également valable pour les jachères où les adventices sont abondantes.

À l'opposé, trois espèces d'adventices, *Anthriscus caucalis*, *Reseda lutea* et *Sinapis arvensis*, très affines du colza, pourraient être utilisées comme faux-hôtes dans la lutte contre l'orobanche rameuse. En effet, leurs exsudats racinaires induisent la germination des graines d'*O. ramosa* sans qu'il y ait ensuite fixation sur les racines de ces plantes. Il s'agit de véritables germinations suicide (*cf.* 2.1.1.1.). Ces espèces pourraient être favorisées dans les jachères ou dans les intercultures.

2.2.1.9. État phytosanitaire des semences

Comme nous l'avons vu dans la présentation de la biologie des phanérogames parasites, les graines de ces plantes sont petites et souvent mélangées aux graines de la plante cultivée. Lorsqu'un agriculteur achète des semences, il faudrait qu'il soit sûr qu'elles ne sont pas contaminées. Malheureusement, actuellement, aucune législation n'exige du vendeur de semences un certificat de non-contamination.

2.2.2. La résistance variétale

La résistance variétale est apparue très tôt comme une des méthodes de lutte efficace contre les plantes parasites. Elle reste, avec la lutte agronomique, la seule méthode accessible aux paysans disposant de peu de moyens. Cependant, trois aspects doivent être pris en considération :

- la variété proposée doit avoir un bon rendement ;
- elle doit être bien adaptée aux conditions climatiques locales ;
- les aliments fabriqués avec les grains de cette variété doivent présenter des propriétés organoleptiques répondant aux critères de qualité alimentaire et aux habitudes culinaires des populations locales.

Avant de traiter de la résistance vis-à-vis d'un agent pathogène, il est important de bien définir les différents termes utilisés :

- variété immune : ne permet aucun développement du parasite ;
- variété résistante : permet le développement de quelques plants du parasite mais les rendements restent satisfaisants ;
- variété tolérante : donne encore un rendement satisfaisant mais permet l'accomplissement du cycle biologique du parasite, donc la production de nouvelles graines qui enrichit le stock semencier du sol ;
- variété sensible : permet le développement de très nombreux parasites d'où une baisse significative du rendement.

Depuis plus d'une soixantaine d'années, de nombreux travaux de sélection variétale ont été réalisés afin d'identifier des variétés de plantes résistantes au *Striga* et

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

aux orobanches. Cependant, l'obtention de variétés résistantes est rendue difficile, d'une part, par la variabilité inter et intra- spécifique des *Striga* et des orobanches et, d'autre part, par la multiplicité des mécanismes de résistance. Ces mécanismes sont nombreux et variés :

- faible production, voire absence de sécrétion de stimulants de germination ;
- présence de barrières mécaniques empêchant la pénétration du parasite dans l'hôte ;
- épaisseur des parois de l'endoderme ;
- lignification du péricycle ;
- présence intracellulaire de cristaux de silice ;
- sécrétion de composés phénoliques en réponse à l'attaque parasitaire ;
- production de protéines de défense, notamment les protéines PR (*pathogenesis related proteins*) également impliquées dans la résistance des plantes vis-à-vis des micro-organismes pathogènes.

La sélection variétale occupe une place importante dans les programmes de recherche des Instituts Internationaux de recherche comme l'ICARDA (*International Center for Agricultural Research in the Dry Areas*), l'IITA (*International Institute of Tropical Agriculture*), l'ICRISAT (*International Crops Reseach Institute for the Semi-Arid Tropics*), le CIMMYT (*Centro Internacional de Mejoramiento de Maiz Y Trigo*) et les instituts agronomiques nationaux africains.

En ce qui concerne les *Striga*, les résultats sont plutôt encourageants. Des variétés de niébé (*Vigna unguiculata*) résistantes au *S. gesnerioides* ont été sélectionnées (Suvita 2 ; 58.57 ; B 301). La résistance serait monogénique. Chez le sorgho et le maïs, des variétés résistantes au *S. hermonthica* ont également été obtenues. Ici, la résistance serait plurigénique, donc plus stable. Les recherches sur le mil n'ont, par contre, encore rien donné.

Pour les orobanches, des variétés de fève sélectionnées en Égypte se sont révélées résistantes à *O. crenata* (Giza 402). En ce qui concerne le tournesol, depuis 1910, les chercheurs des pays d'Europe de l'Est (ex-URSS, Bulgarie, Roumanie) se sont engagés dans une véritable course poursuite. Dès les années 30, ils avaient sélectionné une variété de tournesol résistante à la variété « A » *d'O. cernua*. Quelques années plus tard, cette résistance a été contournée par l'orobanche ; ils ont alors proposé une nouvelle variété « B ». Et ainsi de suite. Actuellement, l'orobanche en est à sa cinquième « race physiologique » ou pathovar. Il semble donc que la lutte contre cette plante parasite ne puisse pas être uniquement basée sur la résistance.

Bien souvent, les variétés améliorées n'expriment toutes leurs potentialités que dans de bonnes conditions culturales (pluviométrie, niveau de fertilité, faible concurrence avec les mauvaises herbes). En revanche, les variétés locales, plus rustiques, ne nécessitant pas autant de soins sont plus appréciées par les paysans. Elles sont bien adaptées aux conditions locales et correspondent aux habitudes gustatives des populations locales Elles mériteraient d'être prises davantage en considération dans les programmes nationaux d'amélioration génétique visant à accroître leur productivité.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

La sélection variétale n'est cependant pas la panacée car généralement elle demande plusieurs années (plus de 10 ans) et met en jeu des centaines de variétés. De plus, à la fin du processus, le succès n'est jamais définitif car les plantes comme les *Striga spp.* et les orobanches montrent une grande plasticité leur permettant de contourner la résistance. Par le passé, des exemples d'effondrement de la résistance de certaines variétés de plantes cultivées vis-à-vis des plantes parasites épirhizes ont été signalés, provoquant de véritables catastrophes agroéconomiques.

2.2.3. Lutte chimique

L'utilisation d'herbicides est désormais une technique couramment utilisée dans les agricultures intensives, performantes. Pour lutter contre les *Striga* et les orobanches, la lutte chimique repose essentiellement sur l'utilisation d'herbicides en pré et (ou) en post-émergence.

Ces produits chimiques doivent répondre à 5 critères :

- être efficaces contre les parasites épirhizes, de préférence avant l'émergence ;
- être suffisamment sélectifs pour ne pas endommager la culture hôte ;
- être également efficaces contre les adventices pouvant servir d'hôtes ;
- ne pas présenter de risques toxicologiques pour les populations et le bétail ;
- être disponibles dans les pays concernés.

Parmi les molécules testées en pré-émergence, certaines comme la trifluraline, la pendiméthaline et l'oxyfluorfène ont donné de bons résultats sur *S. asiatica*.

Lorsqu'elles sont appliquées sur le sol après le semis, ces molécules forment une barrière retardant l'émergence des parasites. Cependant, le coût de tels traitements est élevé, ce qui les rend inapplicables dans les pays en développement.

Parmi les autres herbicides, le glyphosate, herbicide systémique, mobile dans le phloème, est de loin celui qui a donné les meilleurs résultats, particulièrement sur *O. crenata* parasitant la fève (Jacobsohn et Kelman, 1980 ; Aber, 1988). Pulvérisé à faible dose (60 g m.a.ha^{-1}) sur le système foliaire de fèves parasitées, cet herbicide est transloqué vers le système racinaire et s'accumule dans les jeunes stades d'orobanche (tubercule, jeune bourgeon) où il atteint des doses létales entraînant la mort du parasite (Aber, 1988). L'efficacité de ce traitement, mis au point au Maroc sur le couple fève-*O. crenata*, dépend du respect scrupuleux par le paysan des conseils d'application qui sont :

- ne pas dépasser les doses conseillées ;
- ne pulvériser le produit qu'après avoir déterré quelques plants de fève afin de s'assurer que la culture est effectivement parasitée.

L'inconvénient majeur de cette technique est la sensibilité variable des hôtes vis-à-vis du glyphosate : la fève ne pose pas trop de problème car elle supporte relativement bien ce produit. Au contraire, d'autres cultures comme la lentille, le pois, l'aubergine, la tomate, le tabac et la carotte sont très sensibles. Dans ces cas-là, il est

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

préférable de préconiser deux traitements à 15 jours d'intervalle mais à des doses plus faibles.

Il est important de signaler l'obtention de variétés transgéniques de tabacs et de tomates résistantes au glyphosate (Joel *et al.*, 1995). Ces variétés, supportant des doses plus élevées d'herbicide, faciliteraient la lutte contre les orobanches. Cependant, l'utilisation de tels organismes génétiquement modifiés (OGM) fait encore l'objet de trop de controverses en Europe pour être proposée à une grande échelle. De plus, elle entraînerait une surconsommation d'herbicide, néfaste du point de vue environnemental.

En raison de cette phytotoxicité, d'autres herbicides ont été testés avec des résultats encourageants : 2,4-D, imazaquine, imazapyre, imazéthapyre, chlorsulfuron, particulièrement pour les orobanches.

Le 2,4-D a donné d'excellents résultats après pulvérisation dirigée sur *S. asiatica* (1 à 1,5 kg.m.a. ha^{-1}) parasitant le maïs aux États-Unis (Eplee et Norris, 1987) et sur *S. hermonthica*, parasite des céréales en Afrique intertropicale (Ouédraogo, 1995 ; Paré *et al.*, 1997). Deux traitements à des doses plus faibles, séparés de 15 jours permettent de limiter les conséquences d'une émergence continue des *Striga* dans les cultures (*cf.* encadré « Herbicides et embryologie du *Striga* »). Il est intéressant de noter que le 2,4-D, qui est la molécule la moins chère sur le marché des produits phytosanitaires, a pu être utilisé en Afrique. Malheureusement, phytotoxique vis-à-vis des dicotylédones, il pose un problème dans les associations culturales.

Des herbicides de contact comme le paraquat ont donné d'excellents résultats pour contrôler *S. asiatica*, parasite du maïs aux États-Unis (Eplee et Langston, 1970). Cependant, cet herbicide a été retiré du marché à cause de sa toxicité pour l'homme et les animaux.

Quoi qu'il en soit, les traitements chimiques réalisés en post-émergence n'ont aucun effet immédiat sur le rendement de la culture en place. Ils permettent seulement d'éviter la production de nouvelles graines du parasite, limitant ainsi l'augmentation du stock de graines du parasite dans le sol.

Une équipe anglaise (Press *et al.*, 1989) a montré que l'application d'un antitranspirant sur les feuilles de *S. hermonthica* provoque une « surchauffe » du parasite qui meurt très rapidement. Ce résultat spectaculaire découle directement d'une meilleure connaissance de la physiologie du parasite. En effet, les *Striga spp.*, comme toutes les plantes parasites, sont incapables de réguler la fermeture des stomates, permettant une intense transpiration nécessaire pour la translocation de la sève brute depuis l'hôte jusqu'à la partie aérienne du parasite. Cette forte transpiration diminue de quelques degrés la température des tissus foliaires des *Striga*. Malheureusement, ce traitement est totalement irréaliste puisqu'il doit être appliqué plusieurs fois, sur de grandes surfaces, à l'aide d'un pinceau !

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Herbicides et embryologie du *Striga*

Une bonne connaissance de l'embryologie des *Striga spp.* nous paraît indispensable pour déterminer les stades clefs sur lesquels les herbicides peuvent être particulièrement efficaces pour empêcher la fructification et ainsi diminuer le stock de graines du parasite dans le sol.

L'embryogenèse des *Striga spp.* est du type *Capsella* (Paré *et al.*, 1997). Le développement embryonnaire est régulier et rapide. Il présente une chronologie bien précise qui permet d'établir une relation entre le rythme de floraison et les stades embryonnaires. L'état de développement de l'inflorescence est un critère facilement observable au champ, qui peut donc servir de référence aux agronomes pour l'application d'un herbicide au moment le plus favorable. Le rythme de production de quatre fleurs quotidiennes permet de donner la périodicité de formation des embryons. La fécondation intervient généralement cinq jours après l'ouverture de la fleur. Puis, il faut quatre à cinq jours pour obtenir un embryon avec une cellule hypophysaire différenciée dont le rôle de coordination et de régulation sera déterminant lors des étapes finales de l'édification de l'embryon. À partir de ce stade, l'embryon possède toutes les cellules initiales à l'origine de la future plantule et cinq à sept jours suffiront pour que l'embryon atteigne le stade de maturité. En période de croissance, l'embryon est très fragile, particulièrement avant la mise en place de la zone radiculaire hypophysaire, juste avant l'acquisition de la symétrie bilatérale. Au-delà de ce stade, il n'y a plus de possibilités de perturbations profondes du développement embryonnaire.

Des essais avec du 2,4-D ont été effectués à différents stades de développement des *Striga spp.* et au cours du développement de l'inflorescence. Un ou plusieurs traitements ont été appliqués avec des doses variables. L'étude embryologique effectuée après traitement a montré :

– qu'un traitement précoce au tout début du développement de l'embryon, c'est-à-dire avant la mise en place des initiales radiculaires, conduit généralement à sa dégénérescence. La graine ne se forme pas. En effet, les téguments ne sont pas encore capables de jouer leur rôle de protection mécanique. De même, l'albumen auquel le rôle de filtre et de barrière est associé, est incapable de protéger l'embryon contre l'action du produit. Par ailleurs, l'embryon lui-même est fragilisé à ce stade avec la mise en place de nouveaux blastomères ;

– qu'un traitement tardif au stade où les embryons possèdent les cellules initiales à l'origine de la future plantule, n'affecte pas le développement embryonnaire ultérieur et conduit donc à la formation de graines qui présentent toutes les caractéristiques embryologiques de viabilité.

Les meilleurs résultats ont été obtenus avec deux ou trois traitements par de faibles doses de 2,4-D (120 ou 360 g matière active.ha^{-1}) réalisés à 10 jours d'intervalle, le premier traitement étant effectué au tout début de floraison des *Striga spp.* afin de provoquer une dégénérescence du système reproducteur, une perte de la dynamique de floraison et un blocage de la production des graines.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Ce mode de traitement, basé sur des observations embryologiques, pourrait permettre une limitation, puis à moyen terme un arrêt de la production de graines nouvelles, c'est-à-dire une bonne gestion du stock de graines des *Striga spp.* dans le sol.

2.2.4. Lutte biologique

La lutte biologique est la méthode de lutte la plus « propre » par excellence puisqu'elle n'implique pas l'utilisation de produits chimiques, plus ou moins nocifs pour l'homme et son environnement.

La démarche à suivre est toujours la même :

– inventorier les ennemis naturels (insectes, champignons) de la plante parasite à combattre ;

– préciser la biologie de ces ennemis et étudier les possibilités d'une production massale ;

– s'assurer de la spécificité de ces ennemis vis-à-vis de l'agent pathogène à détruire et de leur non-toxicité vis-à-vis des cultures ;

– produire un inoculum important et procéder à un lâcher sur le terrain ;

– suivre de très près l'impact du traitement sur le parasite et sur les équilibres écologiques.

Depuis les années 50, de très nombreuses prospections ont été réalisées un peu partout dans le monde afin d'identifier les principaux ennemis naturels des plantes parasites. À titre d'exemples, les tableaux 2 et 3 donnent une liste non exhaustive des champignons et des insectes qui se sont révélés efficaces contre les *Striga spp.*

Tableau 2 ■ Champignons ennemis naturels des *Striga.*

Classe	Genre	Pays	Impact sur
ASCOMYCOTINA	*Sphaerotheca*	Inde	Feuilles, tiges
	Erysiphe	Soudan	Feuilles, tiges
DEUTEROMYCOTINA	*Alternaria*	Soudan, Ghana, Inde	Feuilles
	Bipolaris	Soudan, Ghana	Feuilles, graines
	Cercospora	Cameroun, Ghana, Niger, Nigeria, Sénégal, Soudan, Zimbabwe, États-Unis	Feuilles
	Cladosporium	Ghana	Feuilles, graines
	Curvularia	Soudan, Ghana, Inde	Feuilles, graines
	Dreschslera	Soudan	Feuilles, graines
	Fusarium	Ghana, Inde, Mali, Nigeria, Soudan, États-Unis	Feuilles, tiges
	Sclerotium	Ghana	Feuilles

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau 3 ■ Insectes ennemis naturels des *Striga*.

Ordre	Genre	Pays	Impact sur
THYSANOPTÈRE	*Franklinella*	Burkina Faso, Inde	Méristèmes caulinaires
HÉMIPTÈRE	*Taylorilygus*	Ouganda	Méristèmes caulinaires
	Antestia	Ouganda	Méristèmes caulinaires
	Veterna	Ouganda	Méristèmes caulinaires
HOMOPTÈRE	*Poophilus*	Ouganda	Méristèmes caulinaires
LÉPIDOPTÈRE	*Lobesia*	Ouganda	Défoliateur
	Stenoptilodes	Inde, Kenya, Tanzanie	Fleurs, fruits
	Junonia	Burkina Faso, Ghana, Indonésie, Ouganda, Pakistan, États-Unis, Soudan, Tanzanie, Thaïlande	Défoliateur
	Diachrisia	Ouganda, Tanzanie	Défoliateur
	Spodoptera	Ouganda, Tanzanie	Défoliateur occasionnel
DIPTÈRE	*Ophiomyia*	Ouganda, Kenya, Soudan, Tanzanie	Mineur de tiges et de racines
HYMÉNOPTÈRE	*Eurytoma*	Kenya	Galles sur tiges
COLÉOPTÈRE	*Nematocerus*	Ouganda	Galles sur feuilles et tiges
	Smicronyx	Burkina Faso, Éthiopie, Ghana, Mali, Niger, Nigeria, Ouganda, Sénégal, Soudan, Tanzanie	Galles sur fruits

Actuellement, c'est le genre *Smicronyx* (*Coleoptera*) qui a fait l'objet des recherches les plus poussées. Il est désormais bien établi que le parasitisme d'une capsule par une larve du genre *Smicronyx* entraîne une diminution de 95 à 100 % du nombre de graines de *S. hermonthica* (Pronier *et al.*, 1998).

Pour l'orobanche, deux organismes se sont révélés des auxiliaires efficaces : un insecte (*Phytomyza orobanchia*, Diptère) et un champignon (*Fusarium oxysporum*, hyphomycète). Actuellement, l'université d'Hoheinheim (Allemagne) dispose d'inoculums de *Fusarium oxysporum* prêts à être mis en vente sur le marché. Mais le fossé entre l'expérimentation en laboratoire et celle en plein champs est tel que personne n'a encore osé le franchir. De l'avis des spécialistes de la lutte biologique, il suffirait que ces agents détruisent 10 ou 20 % des graines des plantes parasites épirhizes pour que cette technique puisse être incluse dans le schéma d'une lutte intégrée.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

2.2.5. Lutte intégrée

À la fin de ce chapitre concernant la lutte contre les phanérogames parasites épirhizes, le lecteur est à même de réaliser qu'il n'existe pas de méthode universelle susceptible d'éradiquer les plantes parasites épirhizes. Les nombreuses méthodes, testées avec plus ou moins de succès, ont toutes leurs limites d'utilisation (prix de revient, technique sophistiquée, spécificité). Seule, une approche intégrée, associant plusieurs techniques ayant déjà donné, en applications séparées, des résultats satisfaisants, permettrait un progrès significatif dans la lutte contre ces parasites. C'est en effet cette approche qui a permis aux États-Unis de réduire de 200 000 à 50 000 ha les surfaces infestées par *S. asiatica*. Cependant, il faut garder en mémoire que :

– cette régression n'a été obtenue qu'après 50 ans d'efforts financiers et humains considérables ;

– la plupart des régions concernées par ces plantes parasites épirhizes (Afrique du Nord, Afrique intertropicale, Asie, Inde) sont loin d'avoir une agriculture aussi performante que celle des États-Unis ;

– la pression de ces parasites est telle qu'il est utopique de vouloir les éradiquer. Tout au plus, pourra-t-on espérer diminuer leur pression sur les cultures.

À titre d'exemple, deux programmes de lutte intégrée ont été proposés. Pour la lutte contre *S. hermonthica*, sur sorgho, ils correspondent à la mise en œuvre de : variétés fortement tolérantes (locales ou améliorées) ; apport d'engrais minéral ; association culturale ou rotation culturale ; traitement par un herbicide. Pour la lutte contre *O. crenata*, sur fève, les mesures préconisées sont : semis retardé ; rotation culturale ; faibles doses d'herbicides (glyphosate, imazaquin, imazéthapyre) ; variétés tolérantes. Dans les deux cas, l'arrachage suivi d'un brûlage peut être préconisé dans les champs où l'infestation est récente.

3. La lutte contre les plantes parasites épiphytes

D'une manière générale, les travaux concernant la lutte contre les plantes parasites épiphytes sont beaucoup moins avancés que ceux concernant les parasites épirhizes.

3.1. Lutte contre les plantes parasites épiphytes des ligneux

En zones tropicale et sub-tropicale les parasites épiphytes, essentiellement représentés par les *Loranthaceae* et les *Viscaceae*, causent d'importants dégâts sur des essences forestières (karité), des plantations industrielles (hévéa, cacaoyer, caféier) et les agrumes. Par contre, l'impact économique du gui européen (*Viscum album*) sur les ligneux est moindre. C'est pourtant sur cette espèce qu'ont porté la majorité des travaux présentés ci-dessous.

Les recherches sur les méthodes de lutte se font selon les trois volets classiques : mécanique, chimique et génétique.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

3.1.1. Lutte mécanique

La destruction manuelle des touffes de gui a un impact limité car, si elle empêche la production de nouvelles baies, elle stimule par contre la néoformation de nombreux bourgeons à partir des cordons corticaux. Il en est de même pour les *Loranthaceae* africaines chez lesquelles, après section du parasite à la base, on observe plus d'une dizaine de nouvelles tiges dans les semaines suivantes. Seul le sciage des branches parasitées, en amont du niveau d'implantation du parasite sur l'hôte, élimine totalement ces parasites. Cette technique drastique est toutefois irréalisable lorsque les parasites se développent sur le tronc ou sur les branches supérieures d'arbres de grande taille, ce qui est souvent le cas pour les peupliers, sapins ou hévéas.

3.1.2. Lutte chimique

En ce qui concerne le gui européen, des hormones végétales comme le 2,4-MCPB (acide méthyl-2 chloro-4 phénoxybutyrique), le 2,4-D (acide 2,4-dichlorophénoxy-acétique), le 2,4,5-T (acide 2,4,5-trichlorophénoxy-acétique) ou des herbicides systémiques (glyphosate), pulvérisés sur les touffes de gui, détruisent la partie aérienne mais aussi le système d'absorption du parasite. Aucune repousse n'a été observée quatre ans après le traitement (Sallé *et al.*, 1993). Quelques essais, réalisés en Chine sur une *Loranthaceae* parasite de l'hévéa (*Taxillus chinensis*), se sont révélés efficaces mais pour l'instant, en l'absence de produit spécifique aux *Loranthaceae* et aux *Viscaceae*, aucun traitement chimique n'est vraiment proposé.

3.1.3. Lutte génétique

Le volet lutte génétique découle d'observations effectuées sur le terrain. Certaines essences ligneuses sont peu parasitées par le gui, notamment les chênes, les ormes et les charmes, ou même pas du tout (hêtres, platanes). Cependant, l'absence de gui sur un arbre ne signifie pas pour autant qu'il soit résistant. Pour se prononcer, il faut réaliser des infestations artificielles qui révèleront la résistance de certains individus.

Au laboratoire, d'importants travaux réalisés sur une gamme de peupliers allant d'individus totalement résistants (cvs Vereecken et Blanc de Garonne) à des très sensibles (Fritzi Pauley) en passant par des cultivars plus ou moins tolérants (I 214 et Bergerac) ont permis de mieux comprendre le phénomène de résistance vis-à-vis du gui européen (Hariri *et al.*, 1991) :

– le comportement des cultivars de peuplier vis-à-vis du gui est d'origine génétique ;

– des polyphénols sont impliqués dans la résistance, plus particulièrement les flavonoïdes (flavones, flavanones et flavonols) ;

– une barrière mécanique est également mise en place au début du développement du suçoir ;

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

– ces substances préexistent dans les tissus corticaux des branches de peuplier non parasitées, en plus grande quantité chez les cultivars résistants que chez les sensibles.

Ces recherches ont débouché sur la mise au point d'un « coefficient de résistance » établi à partir de coupes longitudinales de branches de chêne (Hariri *et al.*, 1992). Il prend en considération les paramètres suivants : épaisseur du suber, densité de cellules à polyphénols, épaisseur du premier groupe de fibres et épaisseur du collenchyme.

Ce coefficient de résistance, établi sur le chêne pédonculé, pourrait être adapté aux essences forestières et aux agrumes dans le cadre d'un programme de sélection. Le but ultime de cette approche est d'identifier le ou les gènes impliqués dans la résistance au gui et de l'intégrer dans le génome d'individus sensibles au gui, mais intéressants pour leur vitesse de croissance, leur productivité ou leur résistance aux principaux agents pathogènes fongiques.

3.2. Lutte contre les plantes parasites épiphytes des herbacées

Le meilleur exemple est la cuscute qui, en se développant par plages circulaires, s'étend très rapidement à toute la culture.

La méthode de lutte la plus simple venant immédiatement à l'esprit, est la destruction de l'ensemble cuscute/hôte (le plus souvent la luzerne) par fauchage des plaques d'infestation puis brûlage. Cependant, ce traitement, particulièrement agressif pour l'hôte, ne peut pas être envisagé sur des hectares.

La cuscute est une des rares plantes parasites dont on peut se débarrasser par une simple rotation culturale (Dawson *et al.*, 1994). En effet, deux années de culture de céréales (plantes non-hôtes) suffisent pour réduire considérablement le stock de graines du parasite dans le sol, et donc diminuer sa pression. Comme pour les plantes parasites épirhizes, durant cette période, il faut être vigilant afin de ne pas laisser se développer certaines mauvaises herbes qui pourraient servir de plantes hôtes et assurer le relais.

Une autre technique très efficace fait appel au tri magnétique. Depuis les années 50, la généralisation de ce tri en France sur les graines de luzerne a permis de réduire considérablement l'impact de la cuscute sur cette culture fourragère. Le principe de cette technique est simple : de la limaille de fer est mélangée à un lot de semences de luzerne susceptible d'être contaminé. Les graines de cuscute ayant des téguments rugueux retiennent les microparticules de fer tandis que les graines de luzerne lisses ne les fixent pas. Il suffit alors de faire passer l'ensemble sur un tapis roulant équipé d'un électro-aimant pour que les deux catégories de graines soient séparées. Les lots de semences de luzerne ainsi contrôlés sont vendus avec un certificat de « décuscutage ».

La voie chimique est celle qui a permis de juguler les infestations par la cuscute (Dawson *et al.*, 1994). Dans le cas d'infestations localisées, l'utilisation d'herbicides de contact comme le diquat, le paraquat et le dinosèbe est très efficace. Ces her-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

bicides sont considérés comme assez spécifiques puisqu'ils ne détruisent pas les racines de l'hôte, lui permettant ainsi de redémarrer quelque temps après le traitement. Lorsque le parasite attaque de grandes surfaces, d'autres herbicides comme le chlorprophame permettent de le détruire avant sa fixation sur l'hôte. Cependant, son effet ne dure qu'un mois. Il faut donc multiplier les traitements ou l'associer à d'autres herbicides (chlorthal, dichlobenil, pronamide) afin de prolonger son action. Depuis une dizaine d'années, on préfère utiliser des herbicides systémiques comme le glyphosate à faible dose (75 g m.a.ha^{-1}). Appliqué plusieurs fois sur le système foliaire de luzerne parasitée, il détruit la cuscute, y compris les suçoirs, empêchant ainsi toute régénération du parasite.

En ce qui concerne les possibilités de lutte biologique, *Fusarium oxysporum* et *Alternaria sp.* (hyphomycète) ont été identifiés comme agents potentiels de lutte.

Par contre, jusqu'à présent, les investigations menées en direction de la lutte génétique n'ont rien donné d'intéressant.

Actuellement, on peut considérer que la cuscute est la seule plante parasite pouvant être éradiquée par plusieurs méthodes (arrachage, rotation culturale, traitement chimique ou tri magnétique).

Conclusion

Durant ces trente dernières années des progrès dans la connaissance de l'écophysiologie et de la biologie des plantes parasites ont été réalisés. Cependant, certains aspects n'ont été qu'effleurés (stock semencier dans le sol, effets des facteurs environnementaux, variabilité des parasites, nature des réponses des cultures à l'attaque parasitaire). Actuellement, l'outil moléculaire appliqué aux pathosystèmes présentés dans ce chapitre devrait permettre une avancée importante dans le domaine des interactions hôte-parasites avec des applications agronomiques potentielles.

Pour les spécialistes des phanérogames parasites, il est indispensable de montrer aux paysans que la présence de ces parasites dans leurs champs ou sur leurs essences forestières n'est pas une fatalité et qu'avec leur aide, la recherche est capable d'améliorer la situation. Mais dans cette croisade contre les plantes parasites, le volet vulgarisation et information de l'ensemble des intervenants dans l'agriculture (ingénieurs, techniciens, paysans, vulgarisateurs, étudiants) devra être développé dans l'optique d'une agronomie durable.

Références bibliographiques

Aber M. (1988). *Contribution à l'étude histo-cytologique, physiologique et agronomique du parasitisme chez une Orobanchacée : Orobanche crenata Forsk.* Thèse de Doctorat ès sciences, Université Pierre et Marie Curie, Paris.

Babiker A.G.T., Hamdoun A.M. (1983). Factors affecting the activity of ethepon in stimulating seed germination of *Striga hermonthica* (Del.) Benth. *Weed Res*, **23** : 125-131.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Bebawi F.F. (1984). A review of cultural control of *Striga hermonthica* in Sudan. *In* Parker C., Musselman L.J., Polhill R.M., Wilson A.K., *Proc. 3rd Int. Symp. on Parasitic Weeds*. ICARDA, Aleppo, Syria, 148-155.

Berner D.K., Cardwell K.F., Faturoti B.O., Ikie F.O., Williams O.A. (1994). Relative roles of wind, crop seeds and cattle in dispersal of *Striga spp. Plant Dis*, **78** : 402-406.

Bourbos A., Skoudridakis M.T. (1991). La solarisation du sol. Essai de lutte contre la Phélipée rameuse en culture de tomates sous serre froide. *Phytoma, La Défense des Végétaux*, **45** : 925-930.

Bouwmeester H.J., Matusova R., Zhongkui S., Beale M.H. (2003). Secondary metabolite signalling in host-parasitic plant. *Curr Opin Plant Biol*, **6** : 358-364.

Dawson J.H., Musselman L.J., Wolswinkel P. (1994). Biology and control of *Cuscuta. Rev Weed Sci* , **6** : 265-317.

Dembélé B. (1988). *Aspects biologiques et agronomiques de deux Scrophulariacées parasites tropicales* : Striga hermonthica *(Del.) Benth.* et Striga gesnerioides (*Willd.*) Vatke. Thèse de Dr Ingénieur. ENSA, Montpellier.

Doggett H. (1984). *Striga*: its biology and control. An overview. *In* Ayensu E.E., Doggett H., Keynes R.D., Marton-Lefèvre J., Musselman L.J., Parker C., Pickering K., *Striga Biology and control*. ICSU Press, Paris, 27-36.

Eplee R.E. (1975). Ethylene: a witchweed seed germination stimulant. *Weed Sci*, **23** : 433-436.

Eplee R.E., Langston M. (1970). Use of paraquat in late season weed control. *Proc. Annu. Meeting Southern Weed Science Society*, **23** : 127-128.

Eplee R.E., Norris R.S. (1987). Chemical control of *Striga*. *In* Musselman L.J., *Parasitic weeds in Agriculture*. Vol. 1. *Striga*. CRC Press, Boca Raton, 173-182.

Gibot-Leclerc S., Brault M., Pinochet X., Sallé G. (2003a). Rôle potentiel des plantes adventices du colza d'hiver dans l'extension de l'orobanche rameuse en Poitou-Charentes. *CR Biologies*, **326** : 645-658.

Gibot-Leclerc S., Brault M., Sallé G. (2003b). L'orobanche rameuse. La menace s'aggrave pour le colza, le chanvre et le tabac. *Phytoma*, **561** : 9-12.

Graves J.D., Wylde A., Press M.C., Stewart G. (1990). Growth and carbon allocation in *Pennisetum typhoides* infected with the parasite angiosperm *Striga hermonthica*. *Plant Cell Environ*, **13** : 367-373.

Hariri E.B., Sallé G., Andary C. (1991). Involvement of flavonoids in the resistance of two poplar cultivars to mistletoe (*Viscum album* L.). *Protoplasma*, **162** : 20-26.

Hariri E.B., Jeune B., Baudino S., Urech K., Sallé G. (1992). Élaboration d'un coefficient de résistance au gui chez le chêne. *Can J Bot*, **70** : 1239-1246.

Hassanali A. (1984). Strigol analogues : synthetic achievements and prospects. *In* Ayensu EE, Doggett H., Keynes R.D., Marton-Lefèvre J., Musselman L.J., Parker C., Pickering K., *Striga Biology and control*. ICSU Press, Paris, 125-132.

Jacobsohn R., Kelman Y. (1980). Effectiveness of glyphosate in broomrape (*Orobanche spp.*) control in four crops. *Weed Sci*, **28** : 692-699.

Jacobsohn R., Greenberger A., katan J., Levi M., Alon H. (1980). Control of Egyptian broomrape (*Orobanche aegyptiaca*) and other weeds by means of solar heating of the soil by polyethylene mulching. *Weed Sci*, **28** : 312-316.

Joel D.M., Kleyfeld Y., Losner-Goshen D., Herzlinger G. (1995). Transgenic crops against parasites. *Nature*, **274** : 220-221.

Kuijt J. (1969). *The biology of parasitic flowering plants*. University of California Press, California, USA.

Kukula S., Masri H. (1984). Integrated cultural practices and chemical control of *Orobanche crenata* in faba bean. *In* Parker C., Musselman L.J., Polhill R.M., Wilson A.K., *Proc. 3rd Int. Symp. on Parasitic Weeds*. ICARDA, Aleppo, Syria, 256-261.

Lagoke S.T.O., Parkinson V., Agunbiade R.M. (1991). Parasitic weeds and control methods in Africa. *In* Kim S.K. *Combating* Striga *in Africa*, IITA, Ibadan, Nigeria, 3-14.

Mboob S.S. (1989). A regional program for *Striga* control in West and Central Africa. *In* Robson T., Broad H.R. eds., *Striga* – Improved management for Africa. Proc. FAO/OUA All-African government consultation on *Striga* control. FAO, Rome, Italy, 190-194.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Mwakaboko A.S. (2003). *Synthesis and biological evaluation of new strigolactone analogues as germination stimulants for the seeds of the parasitic weeds* Striga *and* Orobanche spp. Ph.D. Thesis University of Nijmegen.

Ogborn J. (1984). *Striga*: research priorities with specific reference to agronomy. *In* Ayensu EE, Doggett H., Keynes R.D., Marton-Lefèvre J., Musselman L.J, Parker C., Pickering K., *Striga Biology and control*. ICSU press, Paris, 195-212.

Ouédraogo O. (1995). *Contribution à l'étude de quelques phanérogames parasites des cultures au Burkina Faso: Incidence, biologie et méthodes de lutte*. Thèse de l'Université Pierre et Marie Curie.

Ouédraogo O., Neumann U., Raynal-Roques A., Sallé G., Tuquet C., Dembélé B. (1998). New insights concerning the ecology and the biology of *Rhamphicarpa fistulosa* (*Scrophulariaceae*). *Weed Res*, **39** : 159-169.

Paré J., Dembélé B., Ouédraogo O., Raynal-Roques A., Tuquet C., Sallé G. (1997). Dynamics of flowering and embryology of *Striga hermonthica* (Del.) Benth. (Scrophulariaceae): implication for chemical control. *Int J Pest Manage*, **43** : 285-290.

Parker C., Riches C.R. (1993). Parasitic weeds of the world : Biology and control. CAB International, Wallingford, UK.

Press M.C., Nour J.J., Bebawi G.R., Stewart G.R. (1989). Antitranspirant-induced heat stress in the parasitic plant *Striga hermonthica* a novel method of control. *J Exp Bot*, **40** : 585-591.

Pronier I., Paré J., Vincent C., Sallé G. (1998). Impact of *Smicronyx spp.* (*Coleoptera: Curculionidae*) on fruit development of the parasite weed *Striga hermonthica* (*Scrophulariaceæ*): histological study and prospects for biological control. *Acta biologica Cracoviensia, Series Botanica*, **40** : 9-13.

Raynal-Roques A., Paré J. (1998). Biodiversité des Phanérogames parasites : leur place dans la classification systématique. *Adansonia*, **20** : 313-322.

Reizelman-Lucassen A. (2003). *Synthesis and function of germination stimulants for seeds of parasitic weeds* Striga *and* Orobanche spp. Ph.D. Thesis University of Nijmegen.

Sallé G., Frochot H., Andary C. (1993). Le gui. *La Recherche*, **260** : 1334-1342.

Sallé G., Tuquet C., Neumann U. (2000). Les angiospermes parasites : biologie et méthodes de lutte. *CR Acad Agric Fr*, **8** : 59-67.

Sallé G. (2002) *Des vampires chez les plantes*. EDP Sciences, Paris.

Sallé G., Neumann U. (2003). Les Angiospermes parasites : biologie et méthodes de lutte. *In* Lepoivre P., *Phytopathologie*. De Boeck, Bruxelles, 145-159.

Tuquet C., Farineau N., Sallé G. (1990). Biochemical composition and photosynthetic activity of chloroplasts from *Striga hermonthica* and *Striga aspera*, root parasites of field-grown cereals. *Physiol Plant*, **78** : 574-582.

Tuquet C., Sallé G. (1996). Characteristics of chloroplasts isolated from two mistletoes originating from temperate (*Viscum album*) and tropical (*Tapinanthus dodoneifolius*) areas. *Plant Physiol Biochem*, **71** : 459-468.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

20

*Gestion intégrée des ennemis du mil (*Pennisetum typhoïdes*) dans le bassin arachidier du centre du Sénégal*

Saliou Ndiaye, Demba Farba Mbaye,
Mamadou Badiane

Au Sénégal et de façon générale en Afrique, les contraintes phytosanitaires constituent une entrave majeure et permanente à l'expression par les plantes cultivées de leurs potentialités de production. Les pertes de rendement que l'on peut imputer aux divers ennemis et compétiteurs des plantes (insectes, maladies, mauvaises herbes) peuvent varier de 25 à plus de 70 % du potentiel, en cours de culture et en post-récolte. Les pesticides de synthèse, efficaces contre les bio-agresseurs, sont utilisés dans certaines cultures intensives d'exportation, pour lesquels les intrants sont fournis et subventionnés (exemple : la culture du coton, celle de la canne à sucre, le maraîchage, l'arboriculture). L'usage intensif des pesticides est également préconisé par les services de la direction de la Protection des végétaux (DPV), lors de l'invasion massive des champs cultivés, par divers fléaux comme les criquets, les sauteriaux, ou les oiseaux granivores.

Les problèmes soulevés par l'usage de ces pesticides sont surtout en rapport avec leur mauvaise utilisation (non-respect de certaines normes, carence, dose, etc.) et un choix inapproprié des molécules : elles sont obsolètes, non adaptées au type d'application, et accompagnées d'une forte toxicité pour la faune non-cible. De plus, les faibles possibilités financières des paysans africains limitent leur accès aux molécules les plus recommandées et aux équipements requis. Il faut y ajouter un faible niveau d'information des paysans qui ne leur permet pas de disposer des connaissances indispensables à une bonne pratique des applications de pesticides.

Malgré cela, diverses raisons locales rendent plus facile l'usage de certains pesticides : coûts faibles des produits de première génération, disponibilité sur le marché, effets immédiats obtenus, parfois distribution gratuite. De ce fait, diverses

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

nuisances classiquement liées à l'usage intensif des pesticides peuvent être observées ponctuellement, comme par exemple : sur le coton, sur certaines cultures légumières très attaquées (choux pommés, tomate) ou lors des traitements qui font suite à l'invasion des fléaux acridiens ou aviaires. Diverses formes de pollutions sont alors enregistrées au niveau des eaux superficielles, des nappes phréatiques ou des pâturages. De même, des cas d'intoxications accidentelles sont parfois relevés, dont les techniciens, les paysans ou les consommateurs sont victimes.

Mais en dehors de ces cas particuliers, le paysan n'a pas, pour des raisons que nous évoquerons plus loin, la facilité de recourir aux pesticides et à leur usage systématique. De ce fait, la situation de la protection des végétaux au Sénégal revêt une certaine originalité : par nécessité, l'usage des pesticides n'est pas généralisé, pratiqué systématiquement dans tous les systèmes de culture, ce qui laisse place à un ensemble de pratiques alternatives, qui relèvent de la lutte intégrée.

L'orientation des procédés de lutte phytosanitaires vers la lutte intégrée se justifie par les raisons généralement reconnues qui sont évoquées ci-dessus, mais aussi en fonction d'autres considérations qui sont plus spécifiques à l'environnement africain :

– l'existence de pratiques paysannes traditionnelles de contrôle des bio-agresseurs comme certaines méthodes agronomiques, l'usage de diverses plantes de la pharmacopée traditionnelle ayant des effets insecticides, insectifuges ou anti-appétents. Ces méthodes sont encore faiblement explorées, très peu expérimentées et presque pas améliorées ou diffusées. Toutefois, elles demeurent d'usage constant et le recours ultime du paysan lorsque diverses contraintes économiques (souvent fréquentes) l'empêchent de disposer d'intrants ou de ressources financières ;

– l'existence d'une grande diversité d'organismes pouvant servir d'auxiliaires en lutte biologique, dans une approche de lutte intégrée, qui sont au demeurant largement inexploités : du fait d'un déficit des recherches sur ce thème, ils ne sont pas toujours connus (identification, mode de multiplication, nature des interactions phytophage-entomophage) et par conséquent leur potentiel régulateur n'est pas mis en œuvre ;

– la prise en compte de l'expérience des agricultures des pays développés, et avec le souci d'une meilleure valorisation des pratiques peu polluantes de l'agriculture paysanne africaine plutôt extensive.

Dans ce chapitre, nous présenterons une analyse de la situation de la lutte intégrée en Afrique de l'Ouest, en l'illustrant d'un exemple choisi au Sénégal. Cette étude de cas nous permettra de décrire un exemple de mise en place d'une lutte intégrée en Afrique et de montrer ses spécificités.

1. *La protection intégrée des cultures*

Le concept de lutte intégrée (IPM : *integrated pest management*) s'impose comme une stratégie efficace et adaptée au développement durable agricole.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Parmi les nombreuses définitions, stratégies et approches de la lutte intégrée, nous retiendrons celle de Benz, cité par Delucchi (1987) : « *La lutte intégrée (IPM) est une approche holistique, à multiples facettes, sur les problèmes des nuisibles, qui est basée sur la connaissance des systèmes concernés, spécialement l'écologie des organismes nuisibles et les facteurs régulant les populations de ces nuisibles, qui privilégie des mesures préventives et qui associe des méthodes biologiques, biotechnologiques, mécaniques et physiques à l'utilisation plus judicieuse des pesticides* ». Ainsi, selon cet auteur, la lutte intégrée est essentiellement comprise comme un ensemble de prises de décisions et d'actions contre un ou plusieurs nuisibles, après analyse de toutes les informations disponibles sur ces ravageurs et les écosystèmes concernés.

Cette définition de la lutte intégrée implique que toute intervention doit tenir compte de l'ensemble des facteurs du milieu. Il s'agit de bien comprendre les interactions qui se développent au niveau des populations et des communautés d'organismes dont la structure et l'abondance varient continuellement sous l'influence des facteurs abiotiques. D'après Theunissen et Kranz (1993), l'IPM requiert un niveau de connaissances et d'organisation très élevé de la part du producteur. Ces connaissances doivent provenir à la fois des paysans eux-mêmes, mais aussi des chercheurs et des agents d'encadrement.

Selon Benz, des connaissances de base sur l'écosystème, sur les méthodes de contrôle et sur les pratiques d'une prévention alternative sont nécessaires, surtout dans le domaine des répulsifs (*repellents*) et du contrôle biologique (*biological control*). Pour prévenir l'apparition et la dissémination des nuisibles, une personne bien formée doit être responsabilisée, afin de renforcer les bonnes procédures sanitaires, d'assurer le suivi et les prospections de routine et veiller à ce que les pratiques ne soient pas potentiellement favorables à l'apparition des nuisibles. Cela renforce l'idée souvent formulée par divers auteurs selon laquelle, la protection des cultures ne peut être réalisée à long terme que si elle s'appuie sur une base écologique.

La FAO (*Food and Agriculture Organization*, 2001) est plus précise dans sa définition et les recommandations qu'elle émet : « *La lutte intégrée contre les ravageurs associe divers moyens de lutte y compris la conservation des ennemis naturels existants (auxiliaires), la rotation des cultures, les cultures intercalaires et l'emploi de variétés résistantes aux ravageurs. On peut continuer à utiliser les pesticides de manière sélective mais en plus petites quantités. Avant de prendre la décision de les utiliser, il faut envisager un système de lutte contre les ravageurs qui ne soit pas chimique. Il faut utiliser des méthodes adéquates de lutte contre les ennemis des cultures, de manière intégrée, et ne faire appel aux pesticides qu'en dernier ressort, dans le cadre d'une stratégie de lutte intégrée* ».

La FAO a développé cette approche intégrée, avec différents partenaires, dans plusieurs pays d'Asie et d'Afrique sous le concept de « champ-école ». Elle a créé le Fonds mondial pour la lutte intégrée. Diverses expériences sont menées avec succès sur le riz, le coton et les cultures légumières. Selon l'approche de la FAO, la lutte intégrée se fonde sur les connaissances des agriculteurs et agricultrices, sur l'éco-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

logie des cultures, celle des ravageurs et des déprédateurs et sur l'intensification de l'emploi des variétés résistantes aux ravageurs, des insectes bénéfiques, des rotations culturales et d'une meilleure gestion des sols. La définition couvre diverses approches, de l'emploi des pesticides dans de bonnes conditions de sécurité, à l'élimination de quasiment tous les pesticides utilisés.

2. *Situation de la gestion intégrée et de ses objectifs en Afrique*

2.1. La situation d'ensemble

L'agriculture en Afrique est plutôt de type extensif, c'est-à-dire qu'elle valorise encore les potentialités naturelles et qu'elle est à faible utilisation d'intrants : cultures sur brûlis, pacage, usage de variétés locales à faibles potentialités, niveau de mécanisation encore restreint, outils attelés (au cheval ou au bœuf), forte intensité de main-d'œuvre.

Cette agriculture a encore comme vocation première l'auto-subsistance : satisfaction des besoins alimentaires des exploitants agricoles, même si des héritages de la période coloniale ont laissé des traces ténues de pratique de cultures de rente, selon une spécialisation par zone. C'est le cas de la culture de l'arachide au Sénégal (dans le bassin arachidier) et de celle du coton (dans l'est et le sud-est du pays). Ces cultures de rente, ont fait l'objet d'un encadrement de l'État et de sociétés de développement agricole. Elles ont, de ce fait, régulièrement bénéficié d'intrants subventionnés, comme les pesticides et les engrais.

La monétarisation de l'agriculture africaine s'est opérée progressivement depuis les indépendances (dans les années 60), et s'est poursuivie avec les explosions démographiques récentes (doublement des populations tous les 25 à 30 ans), et l'apparition de marchés nouveaux dans les grandes cités urbaines qui se sont créées. Elle s'est accompagnée du développement de certaines cultures péri-urbaines destinées soit aux centres urbains, soit à l'exportation comme les cultures maraîchères, l'arboriculture fruitière (mangues, agrumes, bananes) ou la production de céréales (riz, maïs).

L'apparition des nouveaux marchés urbains et d'exportation a renforcé les exigences de modernisation des exploitations agricoles : augmentation des surfaces cultivées et de la qualité des récoltes pour pouvoir faire face au remboursement des emprunts de frais de campagne. Cette intensification s'opère également avec un accroissement de l'usage des intrants, dont les pesticides, avec les diverses conséquences néfastes précédemment mentionnées.

Mais le contexte africain garde toutefois un certain nombre de particularités, parfois contradictoires, que l'on peut reprendre brièvement comme suit :

– coûts élevés des charges liés aux traitements chimiques (notamment les produits, le matériel, les accessoires) et au calendrier des applications ;

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

– sensibilité aux bio-agresseurs (ravageurs, maladies) plus élevée chez certaines variétés nouvellement introduites, notamment avec les cultures maraîchères (tomates, choux, haricots, melon, pastèques) ;

– insuffisance de travaux de recherche sur les méthodes alternatives à l'emploi des pesticides : ce qui fait que les paysans ne peuvent pas disposer de technologies opérationnelles utilisables ;

– de faibles niveaux d'information sur des technologies testées et éprouvé en matière de lutte intégrée (déficit de vulgarisation, de sensibilisation) et d'amélioration des procédés traditionnels ;

– une insuffisance ou un manque de disponibilité financière pour l'achat des intrants, si ce n'est ceux qui sont fournis avec certaines cultures encadrées (coton) ou des cultures disposant de crédits de campagne comme la tomate industrielle ou le riz irrigué ;

– une incapacité du paysan à satisfaire les exigences de certaines conduites culturales liées aux nouvelles variétés introduites. On peut citer l'exemple des densités de peuplement à respecter, des travaux du sol, du désherbage, de la fertilisation ; ce qui fragilise sans conteste la culture vis-à-vis d'un certain nombre de ravageurs et de maladies.

Une particularité notable de l'agriculture africaine (dèjà mentionnée en introduction) est l'usage restreint des pesticides, sauf lorsqu'il s'agit des produits distribués pour des cultures de rente encadrées (arachide, coton). En effet, la perception par les paysans des dégâts provoqués par les bio-agresseurs, et leur décision de mise en place d'une lutte, est un caractère original du contexte africain étudié. Dans leurs pratiques traditionnelles, les paysans observent une certaine tolérance vis-à-vis des dégâts et pertes de production en évoquant selon leur adage favori : « ces ennemis prennent leurs parts de la production ». En l'absence d'études précises sur la question, ces pertes concernent 10 à 30 % de la production, et se présentent comme le résultat du faible usage d'intrants dans les systèmes traditionnels de cultures et, par conséquent, de la quasi-inexistence d'emprunt financier à rembourser. Mais dès lors que des schémas d'intensification s'opèrent, et que les charges de production deviennent plus importantes, le souci d'une bonne protection des cultures se généralise et conduit à la mise en œuvre de stratégies discutables comme les pesticides par exemple. Aussi, la décision de lutter contre un ravageur va se prendre de façon plus précoce, dès que certains seuils de nuisibilité seront atteints. L'agriculteur sera même porté à procéder à des traitements préventifs ou systématiques comme c'est le cas souvent sur le coton au Sénégal (tableau 1).

2.2. Gestion intégrée des ennemis du mil (*Pennisetum typhoïdes*)

La stratégie IPM, appliquée de manière pratique, semble offrir une solution globale pour un meilleur contrôle des contraintes majeures et, au Sénégal ; elle est applicable dans les conditions actuelles de la production du mil en milieu paysan.

© Lavoisier – La photocopie non autorisee est un délit

Tableau I ■ Exemple de culture du coton au Sénégal : phénologie, principaux ravageurs et traitements phytosanitaires.
(cycle moyen de 120 jours ; semis à partir du 10 juin.)

Semaines n°	Phénologie – stade de développement	traitements	Principaux ravageurs et ennemis du coton
1	Semis	Semis au semoir ou manuel ; traitement herbicide (Califort)	Iules (myriapodes, diplopodes)
2			Chenilles phyllophages : *Spodoptera littoralis*, *Syllepte derogata*, *Anomis falva*
3	Sarclage – démariage	Sarclage mécanique et manuel	
4			
5	Sarclage	Sarclage mécanique et manuel	Piqueurs suceurs : pucerons, jassides, mouches blanches, *Bemisia tabaci*
6	Début floraison	☛ 1er traitement phytosanitaire : Callisulfan	
7		Sarclage mécanique et manuel	
8		☛ 2e traitement phytosanitaire : Callisulfan	
9			Chenilles carpophages : *Helicoverpa armigera*, *Eriasinsulana*, *Diparopsis watersi*, *Cryptophlebia leucotreta*
10		☛ 3e traitement phytosanitaire : Cypercal	
11			
12		☛ 4e traitement phytosanitaire : Cypercal	
13			
14		☛ 4e traitement phytosanitaire . Cypercal	Punaises : *Dysdercus volkeri*
15			
16		☛ 5e traitement phytosanitaire : Conquest	
		☛ **6e traitement phytosanitaire : Conquest**	

Floraison

Montaison - ramification

Maturation des capsules

Récolte 1

Récolte 2

Traitements effectués actuellement : Dr S NDIAYE (ENSA, Thiès), Source SODEFITEX

- **Califort** : herbicide à raison de 3 L.ha^{-1}
- **Callisulfan** 500 EC (endosulfan 500 g.L^{-1}) à raison de 1-1,5 L.ha^{-1}
- **Cypercal P** 286 EC (cyperméthrine 36 g L^{-1} + profenofos 250 g L^{-1}) à raison de 1 L ha^{-1}
- **Conquest** (cyperméthrine 72 g.L^{-1}+ acétamipride 16 g L^{-1} + triazophos 30 g L^{-1}) à raison de 0,5 L.ha^{-1}

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Depuis 1992, le Réseau ouest et centre-africain de recherche sur le mil (ROCAFREMI) se préoccupe des problèmes de protection du mil, à travers deux projets dénommés : P2 et P3. Le premier est centré sur l'étude de la bio-écologie des insectes de l'épi et le développement de méthodes de lutte à la portée des paysans, et le deuxième concerne l'amélioration du contrôle du mildiou. L'atelier de planification de Cotonou, qui s'est tenu au Bénin du 20 au 22 février 1997, a été le point de départ d'un nouveau projet intitulé « gestion intégrée des ennemis du mil » (ou P6 par analogie avec les précédents) et s'est développé de 1997 à 2000 (ROCAFREMI, 1998, 2001, 2003).

Les deux premiers projets se sont achevés en 1997, ce qui donne suffisamment de recul pour en faire une présentation synthétique.

2.3. Étude comparative des pratiques de lutte intégrée dans deux régions du Sénégal

Au Sénégal, le mil (*Pennisetum typhoïdes*) constitue une culture alimentaire de base dans la plupart des villages, et elle s'intègre dans un système agricole relevant de l'agriculture de subsistance. Aujourd'hui la culture du mil suscite un intérêt grandissant avec l'augmentation de la population (taux d'accroissement annuel de près de 2,9 %) et une demande en produits alimentaires sans cesse croissante. Cependant, sa production reste insuffisante pour satisfaire les besoins des populations à cause des rendements faibles en milieu paysan : 500 à 600 $kg.ha^{-1}$ en moyenne, alors que les potentiels de production, en station de recherche, sont de l'ordre de deux à trois tonnes par hectare.

Il est donc impératif d'accroître la production de mil avec comme objectif, une plus large couverture des besoins alimentaires en céréale de base, puis l'accroissement du revenu des couches les plus défavorisées des populations rurales. Néanmoins, cet objectif d'augmentation de la production du mil est confronté à des contraintes biotiques et abiotiques. Outre l'existence de conditions climatiques difficiles (inégalité de la répartition des pluies, déficit pluviométrique), la pression phytosanitaire constitue la contrainte majeure à l'augmentation de la production du mil : insectes, comme la chenille mineuse de l'épi (*Heliocheilus albipunctella*) ; maladies comme le mildiou (*Sclerospora graminicola*) ; plantes parasites comme le *Striga*, plante parasite du mil (Gahucar *et al.*, 1986 ; Ndoye, 1989 ; Cills-Insa, 1992 ; *cf.* chapitre 19).

La stratégie de lutte intégrée, mise en œuvre de manière pratique, semble offrir une solution globale, applicable dans les conditions actuelles de la production du mil en milieu paysan, tout en intégrant les pratiques traditionnelles et locales.

Un travail de caractérisation a été mené de 1997 à 1998 dans deux zones du Sénégal où la pratique de la culture du mil se retrouve dans des systèmes écologiques, culturaux et socioculturels très différents : à Bambey, au centre-nord du pays et à Kolda au sud-est. Une enquête formelle avec un questionnaire fut menée dans chacune de ces localités et les éléments suivants furent recueillis :

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

- descripteurs socio-économiques ;
- pratiques agronomiques et conduite culturale ;
- principales contraintes signalées (phytosanitaires, matériels, etc.) ;
- pratiques en matière de lutte intégrée (IPM).

La formulation des questions de l'enquête, faite en relation avec les éléments ci-dessus évoqués, a été validée par une équipe pluridisciplinaire. Nous avons tenu compte des préoccupations de chaque discipline afin de mieux cerner les caractéristiques environnementales et la perception qu'en ont les paysans concernés.

Le dépouillement des données d'enquête a fourni les tableaux de base qui sont des matrices de dimensions n et p (n : nombre de paysans enquêtés et p : les variables ressorties du dépouillement des questionnaires). Pour les besoins de l'étude comparative, on retient 27 descripteurs ou variables communs aux deux localités (pour Bambey, $n = 30$ et $p = 33$, et pour Kolda, $n = 40$ et $p = 29$). L'ensemble des données est synthétisé et présenté dans le tableau 2, et dégage les principales tendances relevées.

L'intérêt de la comparaison des deux localités, portera sur certaines caractéristiques socio-économiques qui les différencient. Bambey est en zone Centre, au nord du bassin arachidier, avec une dominante ethnique « Sérère ». Le mil constitue la principale culture vivrière. Elle est pratiquée en absence de tout d'intrant qui pourrait provenir de la culture de l'arachide. Cette dernière est en effet « non encadrée » depuis 1984, c'est-à-dire sans fourniture d'aucun intrant de soutien.

Kolda se trouve en zone Sud-Est, où domine l'ethnie « Fouladou », avec une pratique intensive de la culture du coton. Au contraire de la situation de l'arachide à Bambey, cette culture fait ici l'objet d'un encadrement avec fourniture en intrants subventionnés : surtout des pesticides pour le contrôle des ravageurs multiples. Le détournement de ces pesticides vers les cultures de mil (ou d'autres cultures) s'opère spontanément. De plus, la société régionale de développement qui intervient dans ces zones, vient de lancer un programme d'appui à la culture du maïs, avec fourniture d'intrants comme les semences, les herbicides, les insecticides et les fongicides.

Quelques caractéristiques des deux zones ont été mises en évidence par l'analyse des données d'enquêtes (tableau 2).

2.3.1. Bambey

L'analyse des correspondances multiples indique des typologies très différentes dans les divers villages de Bambey Sérère. Ces typologies se distinguent de façon très nette selon les descripteurs recueillis sur mil :

– le semis peut se faire en conditions sèche ou humide ; en mode manuel ou en mode mécanique ;

– le nombre de pieds par poquet après démariage peut être de 3, de 4 ou de 5 ;

– les rendements sont plus faibles dans certains villages, moyens à élevés dans d'autres. La décision de lutte (et son application) semble assurer des rendements

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

plus élevés, tout comme le nombre d'actifs dans l'exploitation, et l'usage de semences améliorés, qui sont disponibles au CNRA (Centre national de recherche agronomique) de Bambey, sis aux villages.

2.3.2. Kolda

L'analyse des correspondances multiples réalisée pour cette région indique aussi une variabilité des situations observées, en fonction des villages et selon les descripteurs suivants :

– le sarclo-binage qui peut être mécanique ou manuel ;
– le démariage pour lequel on laisse de 3-4 pieds à 4-7 pieds par poquet ;
– la fréquence des sarclages variable, de 1-10 jours, 10-15 jours ou même 15-60 jours ;
– les rendements de « sanio » (mil aristé) qui sont de 12-200 $kg.ha^{-1}$; supérieurs à 200-400 $kg.ha^{-1}$; supérieurs à 400-650 $kg.ha^{-1}$; ou supérieurs à 650-1 750 $kg.ha^{-1}$.

Un examen du tableau 2 montre que des tendances fortes se dégagent :

– la décision de lutter contre les ennemis du mil semble plus fréquemment prise à Bambey, là où le mil occupe une place très importante dans les exploitations familiales agricoles. En effet, le mil y est la seule céréale cultivée autoconsommée, à côté du riz importé qui est acheté sur le marché. À Kolda, par contre, d'autres céréales sont utilisées dans l'alimentation (maïs, sorgho). Mais le « détournement » des pesticides joue un rôle important à Kolda où près de 68 % des exploitations « enquêtées » utilisent des traitements avec pesticides et 10 % seulement une approche intégrée. Au contraire à Bambey l'approche intégrée est nettement plus utilisée (73 %) ;
– la destination des productions est surtout l'autoconsommation (95 à 100 %), mais avec des ventes occasionnelles signalées dans les deux localités ;
– l'estimation des dégâts par les paysans indique une incidence plus forte des ennemis du mil dans la zone de Kolda que dans celle de Bambey : (62,5 % de l'estimation de dégâts sont notées de « moyens à élevés » à Kolda, contre 67 % des dégâts jugés « faibles à moyens » à Bambey) ;
– Kolda affiche son particularisme avec un système de culture bien diversifié, organisé autour d'une culture de rente (le coton), dans des zones écologiques plus riches en biodiversité et à formation végétale plus diversifiée (forêts sèches, denses ou claires ; forêts galerie ; savanes boisées ou arborées). Les populations disposent d'une panoplie plus large de plantes naturelles, avec de probables effets insecticides ou insectifuges. L'acquisition par les paysans de pesticides destinés à d'autres cultures (coton, maïs) semble expliquer la préférence pour les pratiques d'épandage de pesticides, plutôt qu'une valorisation des potentialités de la lutte intégrée. De plus, la diversité des cultures implique une organisation du calendrier cultural très « serrée », d'où une certaine propension à utiliser cette méthode expéditive qu'est l'usage des pesticides. La mécanisation dans les exploitations est faible et, de ce fait, le désherbage prend une large part du temps de travail. Ce point caractérise aussi cette agriculture à forte intensité de main-d'œuvre ;

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau 2 ■ Caractéristiques des deux zones Bambey (Centre-nord) et Kolda (Sud-est) du Sénégal.

Descripteurs ou variables pertinents	Bambey	Kolda
Nombre de villages enquêtés	5	5
Zone écologique	Sahélo soudanien	Soudano guinéen
Précipitation moyenne annuelle (mm par an)	672 mm	1 256 mm
Altitude	17 mètres	10 mètres
Coordonnées géographiques	14.42 LN - 16.25 LO	12.53 LN - 14.58 LO
Température moyenne : – maximale – minimale	 37,7° 18,4°	 34,7° 20,1°
Système de cultures dominant	Mil – arachide – niébé Agriculture traditionnelle de subsistance	Coton – mil – arachide – maïs – sorgho Agriculture de rente subventionnée et encadrée + subsistance
Type de mil cultivé (cycle jour)	Souna (petit mil) : 90 jours	Mil aristé (Sanio) : 120 jours
Place du mil dans les rotations des cultures pratiquées	Importante	Peu importante
Superficie moyenne en mil	1 à 2,8 ha : 30 % > 2,8 – 3,5 ha : 30 % > 3,5 – 8 ha : 40 %	0,25 – 1 ha : 60 % > 1 – 2 ha : 27,5 % > 2 – 5 ha : 12,5 %
Certaines pratiques culturales : – semis – cycle de la culture – démariage – sarclobinage	 Sec Très calé Élevé Peu fréquent	 Humide Étalement Faible Plus fréquent

Nature des contraintes phytosanitaires	Peu variées (*Striga*, mildiou, insectes de l'épi, mineuse)	Très variées (*Striga*, cantharides, mildiou, charbon, mauvaises herbes, insectes de l'épi...)
Apparition des contraintes phytosanitaires	Annuelle : 96,7 % Variable : 3,3 %	Annuelle : 52,5 % Variable : 47,5 %
Décision de lutte contre les ennemis	Oui, plus fréquemment	Avis partagé
Méthodes de lutte adoptée	Lutte intégrée : 73,3 % Lutte inexistante : 26,3 %	Lutte intégrée : 10 % Lutte inexistante : 22,5 % IPM + pesticides : 67,5 %
Estimation des dégâts sur mil	Élevés : 16,7 % Faibles à moyens : 66,7 %	Élevés : 15 % Moyens à élevés : 62,5 % Variables : 22,5 %
Rendements moyens des cultures de mil (en kg/ ha)	200 – 400 $kg.ha^{-1}$: 36,7 % > 400 – 600 $kg.ha^{-1}$: 40 % > 600 – 1 000 $kg.ha^{-1}$: 23,3 %	15 – 200 $kg.ha^{-1}$: 20 % > 200 – 400 $kg.ha^{-1}$: 25 % > 400 – 600 $kg.ha^{-1}$: 25 % > 650 – 1 750 $kg.ha^{-1}$: 30 %
Destination de la production de mil	Autoconsommation (+ vente) : 100 %	Autoconsommation (+ vente) : 95 % Vente : 5 %
Encadrement de la culture de mil par l'État ou les ONG (Organismes non gouvernementaux)	Encadrée (oui) : 33,3 % Non encadrée : 66,7 %	Encadrée (oui) : 10 % Non encadrée : 90 %

– Bambey ne dispose d'aucune forêt classée ou formation naturelle protégée, si ce n'est le parc agroforestier d'*Acacia albida*, préservé par les paysans pour son rôle dans la restauration de la fertilité des sols. Il subsiste aussi quelques végétaux préservés pour diverses propriétés ethnobotaniques. Les ressources botaniques disponibles sont plus limitées. Par conséquent, il y a moins de disponibilité en plantes à effets biocides ou répulsifs.

D'après cette analyse comparative, la pratique de la lutte intégrée semble donc dépendre de divers facteurs qui s'imposent différemment selon les régions :

– une perception différente de l'importance des dégâts, avec incidence sur la prise de décision de lutter contre les bio-agresseurs ;
– une possible valorisation de divers procédés alternatifs à la lutte chimique, disponibles et efficients ;
– des calendriers de travail agraire différents qui incitent plus ou moins le paysan à l'usage de procédés « expéditifs » comme la lutte chimique ;
– un accompagnement des paysans plus ou moins soutenu par des études d'identification des technologies de lutte intégrée déjà pratiquées, pour leur valorisation et leur utilisation rationnelle ;
– des schémas d'intensification des systèmes de cultures traditionnelles qui préservent et valorisent au mieux les pratiques paysannes traditionnelles adaptées au contexte.

3. *Apport de la gestion intégrée à l'agriculture africaine, par rapport aux autres méthodes de lutte*

La comparaison que nous venons de faire entre les zones de Bambey et de Kolda au Sénégal nous incite à généraliser le propos pour montrer quelle est la part de la gestion intégrée dans l'agriculture africaine, et quelles sont les conditions de son développement.

L'usage des pesticides en Afrique n'est effectif que dans les cultures de rente ayant fait l'objet d'un encadrement des paysans et d'une fourniture d'intrants souvent subventionnés. Mais certains des pesticides distribués pour ces cultures sont parfois détournés vers d'autres cultures comme le maraîchage et l'arboriculture fruitière.

C'est dire qu'habituellement (sauf le cas particulier de Kolda), des cultures vivrières comme celles du mil, du sorgho et du maïs de case consommé en vert, sont des cultures faisant l'objet de très peu de traitements, du moins lorsque les pratiques culturales restent encore traditionnelles et les niveaux d'intensification faibles. Les moyens de protection des cultures se fondent sur l'usage de procédés tirés des pratiques et ressources locales (désherbage manuel, usage de variétés locales traditionnelles à faible productivité mais généralement rustiques et tolérantes à la plupart des ennemis). Les cas les plus souvent rencontrés en matière de traitement chimiques, portent surtout sur les semences – à cause de la forte incidence des

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

iules (myriapodes) – et sur le mil contre les insectes cantharides. Ces deux ravageurs peuvent anéantir tout un semis ou la totalité d'une production.

C'est davantage vis-à-vis des déprédateurs des récoltes et des denrées entreposées que les pertes observées sont les plus importantes (de 40 à 70 % de perte). Les ravageurs en cause sont des Coléoptères du groupe des bruches, des charançons, des *Tribolium*, etc. Devant les fortes menaces de destruction des stocks alimentaires ou des réserves de semences, les paysans procèdent à diverses pratiques :

– valorisation de plantes à effet insecticide ou insectifuge comme *Azadirachta indica* (le neem), *Boscia senegalensis, Cassia occidentalis*, ou usage de la fumée, de sable ou de cendres mélangés aux graines, etc. ;

– usage de barrières physiques dans les greniers pour éviter les déprédations dues aux rongeurs ;

– mise en œuvre de la lutte biologique par antagonistes naturels : la faune auxiliaire, composée d'insectes qui se développement aux dépens des ravageurs est préservée et peut se révéler efficace ;

– conservation de bosquets et de haies de protection des espaces agricoles, favorable à la conservation des insectes auxiliaires ;

– choix de « variétés locales » rustiques et/ou tolérantes ;

– diverses pratiques agronomiques comme le travail du sol profond, les cultures associées, le décalage des cycles culturaux lorsque la pluviométrie le permet, etc. ;

– désherbage manuel qui constitue l'essentiel du calendrier des travaux du paysan ;

– pratique d'enfumage de certains ravageurs comme par exemple les cantharides sur mil ;

– usage de plantes à effet toxiques ou répulsifs ;

– amélioration de la fertilité des sols (fumier, compost), pour permettre une meilleure vigueur des plantes et leur permettre de mieux résister à l'agression des déprédateurs.

Les paysans procèdent ainsi, de manière traditionnelle, à une lutte intégrée qui combine divers procédés alternatifs de régulation des populations de ravageurs et leur épargne les dangers des pesticides (destination alimentaire des récoltes). En milieu rural, les échos des accidents ou des problèmes liés à l'usage des pesticides ont vite fait de se propager. La plupart des paysans rencontrés évoquent l'usage d'autres méthodes que les pesticides, si des choix leur étaient offerts. L'agriculture africaine, surtout pour ce qui concerne les cultures vivrières, est en fait une agriculture de type « biologique ». Ceci est, bien évidemment, comme nous l'avons vu, imposé par les circonstances mais il s'agit d'un fait notable au moment où les pays développés tentent un retour vers des pratiques plus en harmonie avec les équilibres naturels.

Cependant, la tendance à une inversion de la situation reste très forte. Dès lors qu'un projet d'intensification voit le jour dans un système de culture, l'incidence des déprédateurs se fait davantage sentir et une certaine propension à l'usage des

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

pesticides se dessine. Cela semble le cas pour certaines cultures nouvellement introduites dans les pratiques paysannes comme la pastèque, la tomate, le riz irrigué.

Actuellement, on peut signaler quelques tentatives timides d'études et de valorisation des procédés traditionnels de lutte contre les ennemis des cultures par la recherche, les structures et services de développement agricole, dont les organisations non gouvernementales (ONG). Le neem (*Azadirachta indica*) fait actuellement l'objet d'une valorisation au niveau industriel, avec la formulation par une firme locale d'un insecticide naturel dénommé « Neemix 12 T/S® ». Il est utilisé en traitement « bas volume » sous forme d'émulsion concentrée, avec de l'azadirachtine à 12 $g.L^{-1}$.

Ainsi, les pratiques de lutte intégrée semblent avoir encore de beaux jours en milieu paysan, dès lors qu'elles constituent une façon de valoriser les ressources et potentialités locales, et qu'elles entraînent très peu de charges financières. Mais le faible niveau d'amélioration des procédés constitue encore une entrave majeure et devra davantage impliquer des actions de recherche.

Conclusion

Les paysans sénégalais ont montré, d'après nos travaux, qu'ils pouvaient adopter les différentes technologies proposées en protection des végétaux parfois bien au-delà de la préconisation de base. En réalité, ils opèrent des réadaptations constantes selon les contraintes rencontrées durant la culture. *A priori*, le partage de l'expérience ou l'échange de technologies semblent s'opérer entre eux suivant des procédés et mécanismes qui nous sont présentement inconnus.

La diffusion des technologies de lutte intégrée efficientes, a semblé se réaliser d'elle-même, progressivement selon un principe de contagion appelé « voisinage ». La tendance des paysans à participer de plus en plus nombreux aux derniers forums organisés localement, a été révélatrice du succès de la démarche et de l'adhésion du plus grand nombre. Les rendements relativement élevés obtenus (plus d'une tonne par hectare) ont fini par convaincre.

Sur la base de ces expériences ainsi décrites, la lutte intégrée semble avoir un avenir certain dans l'évolution actuelle des systèmes agraires et des systèmes de cultures au Sénégal. Il faudra l'inclure dans les mutations en cours. Cela suppose d'impliquer localement les paysans pour les mettre en confiance, et de les inciter à se prendre en charge, à valoriser encore diverses ressources locales et choisir des technologies efficientes de contrôle des ennemis. La recherche peut jouer un rôle majeur dans cette évolution.

Références bibliographiques

CILSS-INSA (1992). *La lutte intégrée contre les ennemis des cultures vivrières dans le Sahel.* Deuxième séminaire sur la lutte intégrée contre les ennemis des cultures vivrières dans le Sahel.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Janvier 1990, Bamako, Mali, Institut du Sahel, INSAH, Séminaires et colloques, John Libbey Eurotext, Montrouge, France.

Delucchi V. (1987). *Integrated pest management. Protection integrée. Quo vadis ?* Parasitis, Genève.

FAO (2001). *Mid-term of the global IPM facility.* FAO, Rome.

Ferron P. (1999). Protection intégrée des cultures : évolution du concept et de son application. *Cahiers Agricultures*, **8** : 386-396.

Gahukar R.T., Guevremont H., Bhatnagar V.S., Doumbia Y.O., Ndoye M., Pierrard G. (1986). A review of the pest status of the millet spike worm, *Rhaguva albipunctella* de Joanis (*Noctuidae*, *Lepidoptera*) and its management in the Sahel. *Insect Sci Appl*, **7** : 457-463.

GTZ (1993). *Integrated pest management . Guidelines.* GTZ, Eschborn, Germany.

Ndoye M. (1989). Productions agricoles et systèmes de protection des cultures et des récoltes stockées dans la zone sahélienne de l'Afrique occidentale. *Afric J. Plant Protection*, **4** : 1-222.

Pan–UK (1998). La lutte intégrée (IPM), *In la lutte raisonnée*, note 2, Pan-UK, Eurolink Center, Londres.

Rocafremi (1998). Rapport annuel du projet P6 IPM, campagne 1997/1998, équipe Sénégal. Rocafremi, Sadoré-Icrisat, Niamey, Niger.

Rocafremi (2001). Rapport annuel du projet P6 IPM, campagne 2000/2001, équipe Sénégal. Rocafremi, Sadoré-Icrisat, Niamey, Niger.

Rocafremi – Icrisat (2003). Gestion intégrée des ennemis du mil : Brochure des résultats du projet P6 : 1997-2000. Rocafremi, Sadoré-Icrisat, Niamey, Niger.

Theunissen J., Kranz J. (1993). Basic decision making and planning for Intégrated Pest Management (IPM). *In Integrated pest management*: Guidelines. GTZ, Eschborn, Germany.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

21

La protection phytosanitaire en Afrique du Nord : quelles perspectives ?

Abderrahman Jerraya, Khaled Al Rouechdi

L'Afrique du Nord (Algérie, Maroc, Tunisie) est un ensemble géographique assez homogène, soumis à la fois à l'influence du climat méditerranéen et à celle du Sahara dont les effets thermiques et desséchants peuvent se faire sentir jusqu'aux abords de la Méditerranée, voire au-delà. Cet ensemble abrite une population évaluée à 70 millions d'habitants environ, à forte croissance démographique. L'agriculture y occupe une place importante dans la vie économique et sociale, dans la mesure où elle emploie 25 à 40 % de la population active et participe à hauteur de 12 à 20 % à la formation du produit intérieur brut (PIB). Elle est cependant peu performante, étant confrontée à de multiples contraintes structurelles dont l'irrégularité des précipitations, dans le temps et l'espace, n'est pas la moindre. Le recours à l'irrigation a certes permis d'améliorer la productivité mais son extension spatiale est limitée par la rareté de la ressource en eau, qui ne concerne à peine que 10 % de la surface agricole utile (Lasram et Ben Mechlia, 2001).

Dans les périmètres irrigués se côtoient les cultures à grande valeur ajoutée : agrumes, arbres à pépins, vigne, maraîchage. Par contre, en agriculture pluviale, prédominent le domaine des céréales plus ou moins associées aux cultures fourragères et légumineuses alimentaires, et à moindre degré celui de l'olivier. Ce dernier est souvent conduit en monoculture s'étendant sur de grandes superficies, avec parfois des espèces fruitières à noyau.

Mais quel que soit le mode de conduite, des efforts sont déployés pour moderniser l'agriculture et accroître ses rendements, en misant sur les facteurs de production (apport d'eau ; recours accru aux semences sélectionnées, aux produits agrochimiques et aux techniques culturales innovantes).

En matière phytosanitaire notamment, la lutte chimique est ainsi de plus en plus utilisée, avec pour conséquences en particulier, l'apparition de souches résistantes

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

et l'appauvrissement de la biodiversité. C'est pourquoi, l'orientation que s'est donnée la recherche, dans le domaine de la phytoprotection, est d'aménager la lutte chimique, de lui substituer d'autres méthodes de contrôle non polluantes, de l'inscrire dans la ligne du développement durable.

À titre d'illustration, le présent chapitre se propose de développer de façon succincte quelques exemples significatifs de la protection phytosanitaire mise en œuvre en Afrique du Nord. Les cas ont été choisis parmi les nuisibles associés aux vergers et ceux inféodés aux céréales. Ces exemples démontrent que la protection intégrée doit être privilégiée comme substitut à la lutte conventionnelle.

1. Les vergers

Deux types de vergers peuvent être distingués :

– ceux qui sont conduits en intensif, avec apport d'eau, plants sélectionnés et produits agrochimiques ;

– ceux qui correspondent à l'agriculture pluviale et où l'olivier occupe une place prépondérante.

1.1. Vergers irrigués

Deux spéculations sont ici retenues : les arbres à pépins et les *Citrus*.

1.1.1. Arbres à pépins

Un grand nombre de ravageurs et d'agents pathogènes est susceptible d'être rencontré, au premier rang desquels viennent le carpocapse et le psylle du poirier.

1.1.1.1. Le carpocapse, Laspeyresia pomonella *(*Lepidoptera : Tortricidae*)*

L'insecte est pratiquement présent dans les vergers de pommier de mars à fin septembre. Trois à quatre générations peuvent se succéder durant cette période, sachant que leur niveau numérique va en décroissant, en raison de l'entrée en diapause d'une fraction croissante de larves à chaque génération.

En matière de contrôle, la lutte conventionnelle, pour être efficace, requiert un nombre élevé d'applications (huit), en ayant recours, d'une façon alternée, à des produits appartenant à différentes familles chimiques (Ben Mouama et Hmimina, 2001). L'introduction du piégeage sexuel dans le système d'avertissement a certainement permis de mieux positionner les traitements et d'espacer leur application. Il n'en demeure pas moins que le risque est grand de voir cette espèce développer le phénomène de résistance (Frerot *et al.*, 1999 ; Saufanor *et al.*, 1999), tant est forte la propension des arboriculteurs à recourir à l'arme chimique pour assurer une protection maximum de leurs vergers de pommier et de poirier. Une autre conséquence liée sans doute au caractère répétitif et peu ciblé des traitements est l'apparition du

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

« problème acarien » en verger de pommier : *Panonychus ulmi* au Maroc (Hmimina *et al.*, 2001) et *Tetranychus urticae* en Tunisie (Lebdi-Grissa, 2003). Les dégâts qui leur sont attribués peuvent être si graves qu'ils nécessitent l'emploi de pesticides spécifiques. Mais là aussi, le risque de manifestation de souches résistantes, même aux acaricides les plus récents, n'est pas à négliger (Bonafos *et al.*, 2002). Une bonne gestion phytosanitaire du verger de pommier suppose donc une révision des méthodes de lutte jusqu'ici employées.

À l'égard du carpocapse, il est préconisé l'utilisation d'une préparation virale additionnée d'un régulateur de croissance ou un mélange d'une substance à base de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) et d'un insecticide au quart de la dose homologuée (Audemard *et al.*, 2000).

Concernant les acariens phytophages, l'attention est attirée sur la nécessité de respecter le seuil de nuisibilité. Au sujet de *P. ulmi*, ce dernier est atteint :

– en période hivernale, lorsque le taux des bourgeons et des dards contaminés avec plus de 10 œufs est supérieur à 60 % ;

– au printemps et en été, quand le taux des feuilles infestées avec une forme mobile est au moins de 40 % (Hmimina *et al.*, 2001).

Pour ce qui est de *T. urticae*, le seuil de nuisibilité est fixé à trois formes mobiles par feuille (Lebdi-Grissa, 2003).

Le choix de l'acaricide est déterminé par la structure qualitative de la population : acaricides classiques ou huiles minérales en hiver, acaricides actifs à la fois sur les œufs et les formes mobiles au printemps et en été, en accordant la préférence aux produits sélectifs épargnant les acariens prédateurs autochtones ou préconisés tel que l'acarien *Galendromus occidentalis* (*Phytoseiidae*).

1.1.1.2. Le Psylle du poirier, Cacopsylla pyri *(*Homoptera : Psyllidae*)*

Par les dégâts qu'il provoque sur l'arbre (défoliation précoce plus ou moins totale et sur la production pendante (taches brunâtres sur les fruits), le psylle est si redouté que les arboriculteurs n'hésitent pas à intervenir régulièrement pour en réduire les méfaits. Mais peu de produits sont réellement efficaces tant est grande la faculté du psylle à développer des souches résistantes (Stäubli *et al.*, 1992 ; Horton, 1999). Dans le cadre d'une étude en cours (Kheder-Boulahia, 2004) et en absence de traitement chimique depuis quatre ans, les populations du psylle montrent sur une variété locale tunisienne, habituellement très sensible (« *Radsi* »), des fluctuations interannuelles très importantes mais avec une tendance générale à la baisse (figure 1).

Selon cet auteur, les facteurs en cause sont à la fois de nature physique et biotique ; parmi les premiers, il y a lieu de souligner l'effet du sirocco sur les stades préimaginaux du psylle. Son action dépressive dépend toutefois du stade de l'insecte (les larves sont plus sensibles que les œufs), de son intensité ainsi que de sa durée. Celui apparu vers la mi-août 1999 dans la région de Tunis, avec des pics de températures de l'ordre de 46 °C pendant une semaine, a entraîné la quasi-disparition des populations du psylle (Jerraya, 2003).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

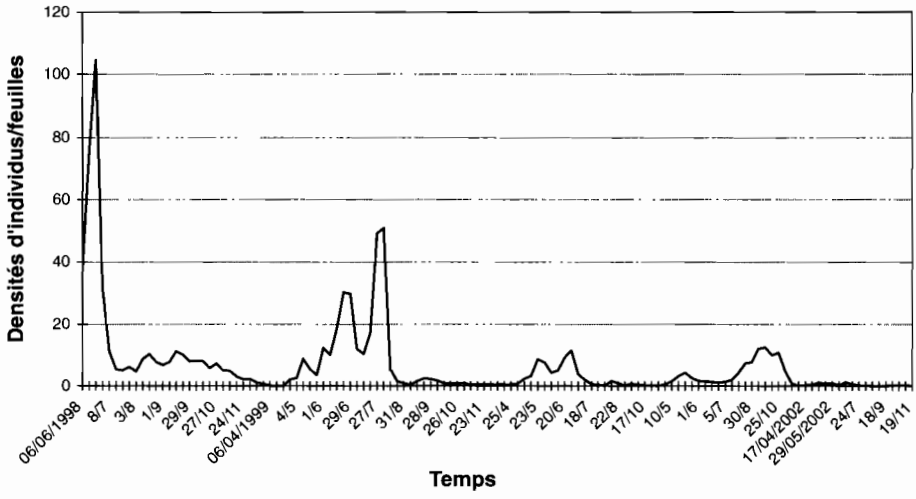


Figure 1 ■ Évolution des stades préimaginaux de *Cacopsylla pyri* (*Homoptera*) (dans la région de Tunis, juin 1998 à novembre 2002).

Concernant les facteurs biotiques, l'attention est attirée sur le rôle prépondérant des prédateurs dont les plus actifs appartiennent à l'ordre des Hétéroptères. L'action de prédation est d'autant plus significative qu'ils bénéficient d'un environnement favorable (haies multispécifiques, protection intégrée). Bien que cet impact n'ait pu être évalué avec précision, tout laisse croire qu'il est à l'origine de la tendance à la baisse des populations du psylle (figure 1).

En matière de contrôle, le seuil de nuisibilité n'est pas encore clairement établi, tant les facteurs y afférant sont multiples et variés (densité larvaire, porte-greffe, variété, conduite du verger, stades phénologiques du fruit). En tout état de cause, une application aux huiles minérales additionnées éventuellement d'un pyréthrinoïde peut être préconisée contre les adultes hivernants, juste avant la reprise de leur activité de ponte (mi-février dans les conditions de la région de Tunis). Lorsque le besoin se fait sentir, un deuxième traitement en post-floraison utilisant un régulateur de croissance (fénoxycarbe, téflubenzuron) peut être opportunément recommandé (Stäubli *et al.*, 1992).

1.1.2. Les Citrus

Les *Citrus* peuvent être victimes d'attaques d'acariens, de nématodes, de champignons, de virus et surtout d'insectes. Parmi ces derniers, trois paraissent revêtir une importance économique particulière : le pou de Californie, la mineuse des agrumes et la mouche méditerranéenne des fruits.

1.1.2.1. Le pou de Californie : Aonidiella aurantii *(*Homoptera : Diaspididae*)*

Le pou de Californie, absent en Tunisie, est une diaspine très nuisible surtout dans les orangeraies marocaines où elle développe trois générations annuelles chevau-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

chantes qui peuvent se rencontrer sur tous les organes de la plante. Sur fruits, il constitue un obstacle sérieux à l'écoulement d'une production destinée en partie (30 %) à l'exportation ; quelques individus sur orange suffisent pour la rendre impropre à l'exportation. Les tentatives de lutte, y compris par la voie biologique avec l'élevage de masse de l'Hyménoptère parasitoïde *Aphytis sp.*, dans les années 70, n'ont pas donné entière satisfaction. C'est pourquoi, l'option retenue est de s'orienter désormais vers la mise en place d'une stratégie basée sur les principes de la lutte intégrée :

– ne déclencher le traitement que lorsque le seuil de nuisibilité risque d'être atteint : soit en considérant le taux d'infestation du fruit (20 % des fruits sont contaminés par une cochenille vivante durant la période de mars-mai, puis par trois individus vivants pour un fruit en été et en automne) ; soit le nombre de mâles capturés (2 500), sachant que ce seuil n'est pas suffisant à lui seul pour décider de l'opportunité d'une intervention. Il faut lui associer le pourcentage de stades sensibles momentanément fixés, lequel doit être égal au moins à 65 % pour assurer au traitement l'efficacité requise ;

– prendre en compte l'activité de régulation des ennemis naturels (*Aphytis sp.* et *Comperiella bifasciata*, notamment). L'intervention peut être préconisée quand le taux de parasitisme dû à *Aphytis sp.* est inférieur à 40 % en juin et 55 % en juillet et celui de *C. bifasciata* à 20 %. Dans ce cas, elle se fait avec des produits à base d'huiles minérales.

1.1.2.2. La mineuse des agrumes : Phyllocnistis citrella *(*Lepidoptera : Gracillariidae*)*

Cet insecte, bien que d'introduction récente (1994), a montré rapidement une grande capacité d'acclimatation, non seulement en colonisant tous les biotopes à *Citrus* mais aussi en réduisant son activité en hiver et au début du printemps, ce qui lui permet de survivre, étant plus ou moins en dormance, durant la période défavorable. C'est donc surtout en été et en automne que la mineuse est à redouter, en s'attaquant aux jeunes pousses apparaissant en cette période de l'année, surtout lorsqu'il s'agit de pépinières et des jeunes plantations dont la croissance pourrait être gravement compromise. En verger en pleine production, le rendement est susceptible, lui aussi, d'être affecté (Pena *et al.*, 2000).

En matière de lutte, il a été admis longtemps qu'il suffisait de limiter l'émission des pousses estivales et automnales par des pratiques culturales appropriées (irrigation, fertilisation, taille) pour épargner, à la plantation, l'attaque de la mineuse. Cependant, il était tentant pour des chercheurs d'expérimenter la lutte biologique, c'est-à-dire d'importer des ennemis naturels et de les lâcher après une phase de multiplication en insectarium. Le choix se porta d'abord sur *Ageniaspis citricola* (*Hymenoptera, Encyrtidae)* (Chermiti *et al.*, 1998 ; Pomerkine et Stansly, 1998 ; Abassi *et al.*, 1999), mais son impact sur l'espèce cible connut des fortunes diverses. En Tunisie où le parasitoïde disparut l'année suivant son lâcher, et même dans les régions où il s'était bien établi, les résultats n'étaient guère satisfaisants. D'autres agents biologiques furent alors introduits tels que *Semielacher petiolatus* et

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Citrostichus phyllocnistoïdes. Ces parasitoïdes se sont bien acclimatés avec une action parasitaire parfois élevée, mais ils avaient tendance à se substituer à la faune locale. De surcroît, ils n'ont pas entraîné une réduction des populations de la mineuse à un niveau économiquement tolérable, en particulier pour les plants en pépinières et les jeunes plantations. Cette constatation a donc nécessité le recours, dans bien des cas, à la lutte chimique. Plusieurs produits à action systémique ou translaminaire sont maintenant régulièrement appliqués. Parmi les insecticides systémiques, on utilise en particulier l'imidachlopride (Confidor®) ou l'acetamiprid (Mospilan®), en raison de la possibilité de leur utilisation selon la technique du badigeonnage du tronc. Les avantages en sont notamment une durée de protection plus longue (supérieur à cinq semaines) et une pollution moindre de l'environnement (Kheder-Boulahia *et al.*, 2002).

1.1.2.3. La mouche méditerranéenne des fruits : Ceratitis capitata *(*Diptera, Tephritidae*)*

La mouche méditerranéenne des fruits appelée encore cératite n'est pas un nuisible spécifique des agrumes, loin s'en faut. Si elle trouve sa place ici, c'est parce qu'elle est considérée comme un ravageur majeur des *Citrus*. Il en est d'ailleurs de même sur maintes cultures fruitières (pêcher, abricotier, prunier, figuier, pommier, poirier) où elle est susceptible d'entraîner la perte totale de la récolte potentielle.

Sa nuisibilité pour les agrumes tient au fait qu'elle est active sur une longue période de l'année : pratiquement d'avril à décembre. Seul l'abaissement de la température de l'hiver est de nature à ralentir la vitesse de son développement. Son cortège parasitaire, bien qu'il puisse être bien fourni, n'affecte guère son potentiel de multiplication ; pas plus d'ailleurs que les conditions sévères de l'été, les stades sensibles (œufs et larves) étant à l'abri dans la pulpe charnue des fruits qu'elle contamine. La cératite est à redouter sur deux périodes de l'année : durant l'automne et à la fin du printemps, périodes correspondant respectivement au début de réceptivité des variétés précoces (*Thompson Navel*, clémentinier) et des variétés tardives (*Valencia late*). La forte pression de déprédation sur les variétés précoces s'explique par le fait que la cératite se trouve, à la fin de l'été et en automne, au maximum de son potentiel de reproduction.

Pour faire face à cette menace, la lutte est basée sur des interventions répétées utilisant des insecticides de contact (malathion, fenthion, deltaméthrine). En Tunisie, il s'agit le plus souvent de traitements de couverture effectués par voie aérienne.

Mais afin de réduire dès à présent l'utilisation de pesticides pour une meilleure protection de l'environnement, il est recommandé l'application de pulvérisations localisées auxquelles est adjoint un attractif alimentaire et/ou sexuel. L'efficacité d'une telle technique dépend cependant du niveau de la population de cératite momentanément présente : elle est peu significative lorsque la population de la mouche se trouve à une densité élevée mais elle est satisfaisante dans le cas contraire (Economopoulos, 1989). Tout récemment un mélange de spinosad, substance d'origine naturelle, et d'un attractif alimentaire, incorporé à la matière active a permis

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

d'abaisser significativement le niveau de population de la cératite. Ce mélange présente l'avantage d'être moins toxique à l'égard d'organismes non-cibles (Vergoulas *et al.*, 2002). Une autre piste vise à prévenir, sinon à minimiser l'attaque de la mouche. Elle est basée sur la technique de capture de masse conjuguant divers *stimuli* (alimentaire, sexuel et visuel). Sa généralisation à l'échelle de la région est de nature à conduire à une réduction significative de la population de la cératite.

Une autre technique non polluante a été préconisée dès le début des années 70 : l'emploi de la méthode autocide par lâcher de mâles stériles. Cependant, les essais menés en Tunisie, s'ils ont entraîné une réduction drastique de la population dans les zones de lâcher, n'ont pas conduit à sa suppression totale (Cheikh *et al.*, 1975 ; Cayol, 1994). Toutefois, tout espoir n'est pas perdu, d'autant que des résultats satisfaisants utilisant la technique de l'insecte stérile (TIS) avaient pu être enregistrés à des échelles beaucoup plus grandes (Fisher *et al.*, 1985 ; Gilmore, 1989 ; Schwarz *et al.*, 1989). C'est pourquoi, il est question à l'heure actuelle de reprendre les essais en vue de l'éradication de cette mouche au niveau de l'ensemble du Maghreb, en mettant à profit les avancées technologiques en matière de sexage précoce des embryons (Bounfour, 2001).

Toutes ces méthodes alternatives demandent cependant à être validées localement avant d'être adoptées par les producteurs.

1.2. Les vergers en cultures pluviales : cas de l'olivier

L'olivier fait partie du paysage traditionnel dans les trois pays d'Afrique du Nord et peut couvrir d'immenses superficies allant jusqu'au tiers de la surface agricole avec 1 476 000 ha pour le cas de la Tunisie. Du point de vue phytosanitaire, l'olivier est susceptible d'être affecté par des maladies fongiques et virales, mais aussi par des insectes. Parmi les espèces les plus dommageables et les plus fréquentes, on trouve la teigne et le psylle de l'olivier d'une part, la mouche de l'olive et le *neïroun* d'autre part.

1.2.1. La teigne de l'olivier : Prays oleae *(*Lepidoptera : Hyponomeutidae*)*

La teigne sévit principalement dans les zones côtières bénéficiant d'une hygrométrie élevée. Elle peut également envahir les zones qui se trouvent à l'intérieur des terres (jusqu'à 40 km de la mer) à la faveur d'une année exceptionnellement humide et fraîche. Mais les « années à teigne » sont peu fréquentes, même dans les zones sensibles. La figure 2 montre que dans la région de Sfax, sur une période de dix ans (1981-1990), seules trois années correspondent à un accroissement de type exponentiel, avec trois pics d'abondance (1981, 1985, et 1989), contre deux années où la population s'est maintenue à un niveau moyen (1984 et 1990), quatre années où elle est restée faible (1983, 1986, 1987 et 1988) et une année où elle est proche de l'extinction (1982).

Jardak (1994) note que ces fluctuations sont dues en grande partie au climat, bien que l'influence de la plante hôte et l'action des ennemis naturels, en particulier le

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

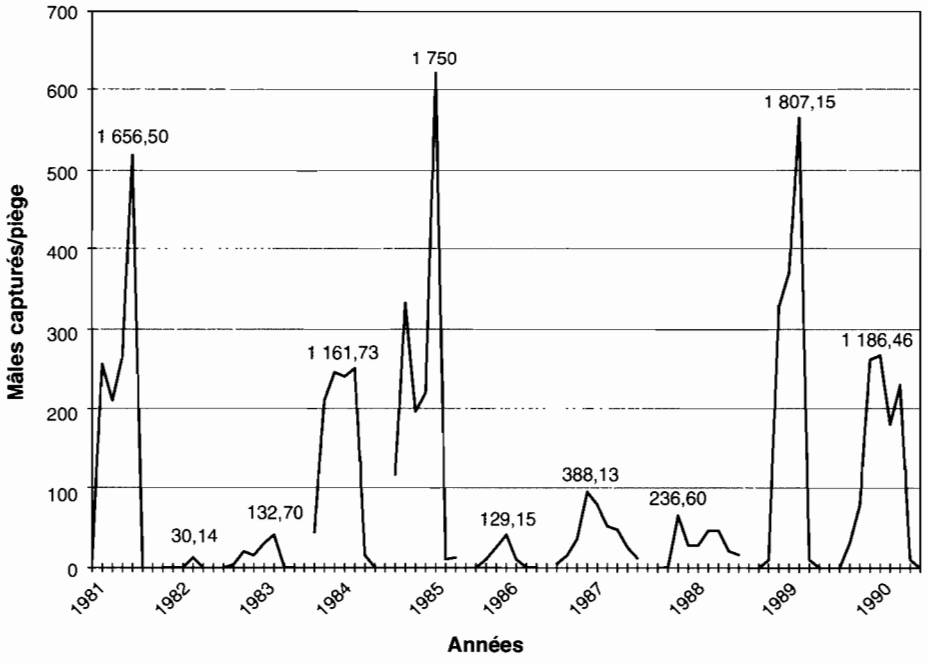


Figure 2 ■ Fluctuations des populations de teigne (génération anthophage) dans la région de Sfax (d'après Jardak, 1994).

parasitoïde *Chelonus eleaphilus*, ne soient pas à négliger. S'agissant des facteurs climatiques, il a montré que les températures élevées de l'été, accompagnées de sirocco avaient un effet drastique sur les larves se trouvant à l'intérieur des jeunes olives, et cet effet est d'autant marqué que l'année se caractérise par un déficit pluviométrique. Ainsi, durant l'année 1982, caractérisée par une pluviométrie inférieure de moitié à la moyenne annuelle et par un été très chaud avec 14 jours d'affilée de sirocco en juillet, la mortalité larvaire était proche de 100 %, ce qui explique la quasi-disparition de la teigne observée cette année-là.

En termes de nuisibilité, la teigne est susceptible de provoquer des dégâts significatifs sur les fleurs et jeunes fruits, lorsque le nombre de mâles capturés dépasse les 200 individus durant la semaine suivant le début d'envol. Il peut être abaissé à 150 en présence d'une récolte qui s'annonce moyenne (Jardak, 1994). La prise en compte de ce paramètre est de nature à orienter le choix de la formulation phytopharmaceutique. Le choix du produit dépend de la génération ciblée : une préparation à base de *Bacillus thuringiensis* destinée à la génération anthophage et un insecticide systémique contre la génération carpophage. Mais compte tenu de l'inter-relation entre ces deux générations, une application sur la première génération est généralement suffisante et permet de ne pas intervenir sur la seconde.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1.2.2. Le Psylle de l'olivier : Euphyllura olivina *(Homoptera : Psyllidae)*

Le psylle apparaît sur la frondaison de l'olivier au printemps, à la faveur de l'émission des organes jeunes en pleine croissance : jeunes pousses, boutons floraux et grappes florales qu'il ne tarde pas à contaminer. Ce faisant, il peut provoquer de dégâts significatifs allant jusqu'à 60 % de pertes qui se traduisent par la coulure des fleurs, voire des jeunes fruits (Zouiten et El Hadrami, 2001).

En étudiant les fluctuations des populations du psylle sur une quinzaine d'années dans la région de Sfax, Ksantini (2003) note que durant toute cette période, le psylle est resté complètement discret, excepté en 1989 et 2000, années durant lesquelles il s'est reproduit d'une façon explosive (figure 3). Pour comprendre ce phénomène, cet auteur a cherché à établir une relation indirecte entre la pluviométrie et l'intensité de la reproduction du psylle. Il a constaté qu'une quasi-absence du psylle est observée les années à grand déficit pluviométrique (1987-88, 1994-95, 1996-97, 2001-02) où il a plu moins de 200 mm (figure 4).

Durant les années à pluviométrie moyenne, ce sont les pluies d'automne qui conditionnent indirectement la forte multiplication du psylle (année 1989). Mais ce paramètre n'est pas suffisant pour expliquer l'apparition massive du psylle, car l'année 1994 a connu un automne pluvieux sans pour autant être suivi d'une

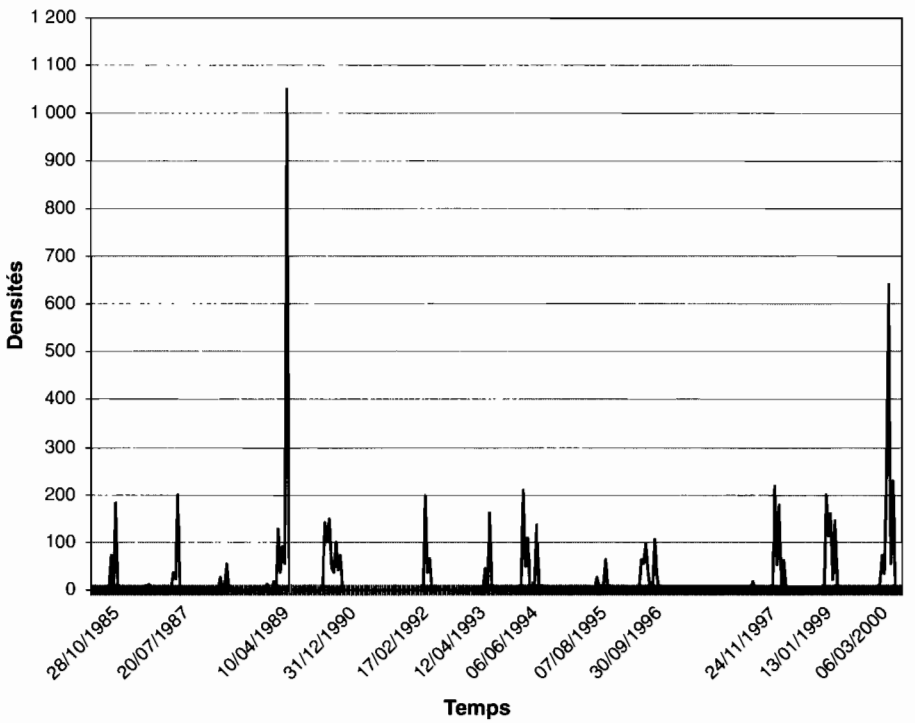


Figure 3 ■ Fluctuations de la ponte du psylle de l'olivier (*Euphyllura olivina*, *Homoptera*). (Nombre d'œufs/mètre linéaire de rameau.)

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

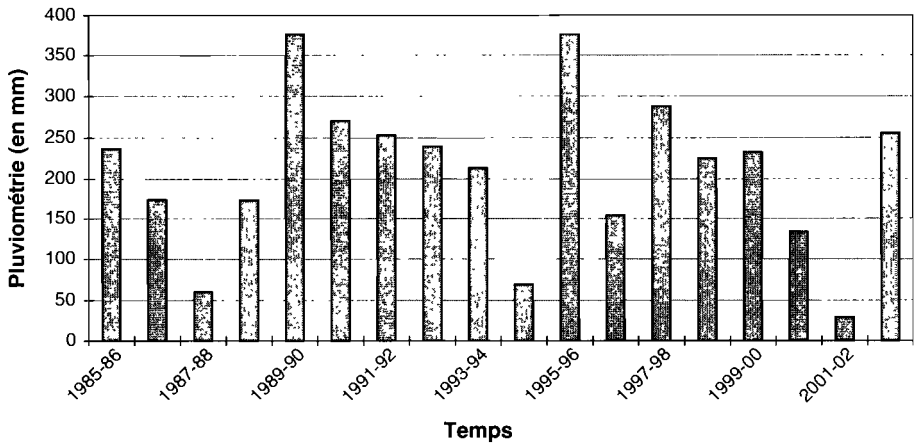


Figure 4 ■ Évolution de la pluviométrie en mm dans la région de Sfax (Tunisie).

manifestation spectaculaire de l'insecte. Ce phénomène est vraisemblablement lié à l'élévation de la température observée au mois de mai 1994 avec des moyennes de l'ordre de 22 °C et des maxima avoisinant les 28 °C. De telles conditions thermiques sont en effet préjudiciables à l'activité de reproduction du psylle (Ksantini, 2003).

Enfin, pour que le potentiel de ponte du psylle puisse s'exprimer pleinement, il faut également que la période de multiplication de psylle coïncide avec une bonne floraison de l'olivier.

C'est seulement lorsque ces différents facteurs, tant climatiques que biotiques (plante hôte), se trouvent réunis que le psylle risque de provoquer des pertes économiquement significatives, le seuil de nuisibilité étant fixé de 2,5 à 3 larves par grappe florale, ce qui correspond à 50 % environ des inflorescences contaminées (Ksantini, 2003). Mais selon Tajnari (2001), c'est au-delà de 10 larves par grappe que les dégâts commencent à être significatifs : à des densités de 20 et 30 larves, le taux de coulure des fleurs est de 50 et 100 % respectivement. Malgré ces interprétations divergentes, l'établissement d'un seuil de nuisibilité constitue une avancée non négligeable : il permet de réduire la fréquence de la lutte chimique qui, à l'heure actuelle, emploie des produits systémiques, à large spectre d'action. Par ailleurs, des essais sont en cours pour sélectionner des substituts d'origine naturelle, à base de composés phénoliques, non toxiques pour l'homme et son environnement (Zouiten et Hadrami, 2001).

1.2.3. La mouche de l'olive : Bactrocera (Dacus) oleae (Diptera, Tephritidae)

Comme la teigne de l'olivier, la mouche de l'olive sévit essentiellement dans les zones côtières et peut, lorsque les conditions climatiques de l'année sont fraîches et humides, envahir des régions situées à l'intérieur des terres, jusqu'à une quarantaine de kilomètres environ. C'est donc surtout le long du littoral que ses dégâts sont les plus fréquents, en particulier lorsqu'il s'agit de variétés à olive de table.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

En général, l'achèvement de la cueillette des olives met fin au développement des populations de la mouche : elle doit passer désormais une période de 4 à 5 mois, avant de retrouver des olives réceptives. Celles-ci sont normalement observées fin juin-début juillet pour les variétés à huile, voire à la mi-mai. L'évolution phénologique de l'olivier varie avec les facteurs climatiques de l'année. Pour la variété « *Chemlali* », qui est la plus répandue en Tunisie, le fruit devient attractif lorsque son épaisseur dépasse 0,6 cm (Jerraya, 2003). Les variétés à olive de table (à fruit plus gros), sont attaquées plus précocement.

Le devenir de la première génération de mouches est des plus incertains, en dehors de la bande côtière, en raison des températures élevées de l'été surtout lorsqu'elles sont accompagnées de sirocco et lorsque ce facteur climatique coïncide avec la présence de stades sensibles de l'insecte (œufs et jeunes larves).

Hormis cette situation (qui n'est pas exceptionnelle dans la région de Sfax), la mouche poursuit son activité durant la période automno-hivernale, aussi longtemps qu'elle trouve à sa disposition des olives sur pied. Bien que les dégâts qui peuvent en résulter passent souvent inaperçus sur les variétés à huile, ils n'en sont pas moins réels et affectent autant le rendement des olives contaminées que la qualité organoleptique de l'huile qui en est extraite. Il est à noter que cette altération est d'autant plus prononcée que les olives restent longtemps (plusieurs jours) avant d'être triturées. En général, sur les variétés à huile, un seuil de 10-20 % de fruits piqués est toléré, ce qui correspond à un niveau de captures de 7 à 8 mouches par piège sexuel et par semaine (Régis, 1993). Par contre, sur les variétés à olive de table, ce seuil est abaissé à 1 %. Cela suppose des traitements chimiques plus fréquents. La tendance actuelle est de privilégier les interventions localisées (par taches) avec adjonction à l'insecticide, d'attractifs alimentaires et sexuels. Cette méthode présente l'avantage de préserver la faune utile et en particulier l'Hyménoptère *Opius concolor* (*Braconidae*), qui est actif surtout en fin de saison. La faune non-cible est d'autant mieux épargnée que l'insecticide employé est doué de propriétés sélectives. Tel semble être le cas du spinosad, cité précédemment à propos de la mouche des fruits.

Une autre méthode en cours d'expérimentation consiste à employer la capture de masse au moyen de pièges ou mieux de super-pièges (Ecotrap®) agissant à la fois sur le comportement alimentaire, sexuel et visuel de l'insecte. L'efficacité de tels pièges est d'autant plus grande que la population de la mouche est de petite taille (faibles effectifs).

1.2.4. Le neïroun : Phlœotribus scarabaeoïdes *(Coleoptera : Scolytidae)*

La particularité du *neïroun* est que cet insecte ne se reproduit que sur des arbres affaiblis, voire sur du bois abattu. Pour se nourrir, il recherche de préférence des arbres vigoureux chargés de grappes florales ou fructifères dans lesquelles il creuse des cavités ce qui entraîne leur dessèchement et à terme leur chute. Il s'ensuit que la récolte peut être sérieusement affectée avec notamment une chute précoce des olives allant jusqu'à 20 %.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Mais c'est sur l'olivier éprouvé par la sécheresse que ce ravageur est le plus à redouter, car il peut mettre en danger la survie même de la plantation. Ce phénomène est d'ailleurs assez fréquent, et se rencontre d'une manière cyclique. Par exemple, dans la région de Sfax, sur une période de 17 ans (1986-2003), on constate que cinq années ont été insuffisamment arrosées (pluviométrie annuelle inférieure ou égale à 150 mm/an) dont trois particulièrement déficitaires : 1988 avec 60,5 mm, 1995 avec 49,5 mm et 2002 avec seulement 29,0 mm. Dans de telles conditions, l'olivier est soumis à un stress hydrique, s'affaiblit, et devient un support favorable à la reproduction et à la multiplication du scolyte : ce qui conduit au dessèchement des arbres contaminés.

Pour faire face à ce phénomène qui concerne des plantations qui sont parfois au maximum de leur potentiel de production (30 à 60 ans) et qui couvrent de vastes superficies, des campagnes nationales de traitements sont organisées, accompagnées de mesures de sauvegarde comme l'élagage sévère des arbres souffrants et une irrigation d'appoint, hélas pas toujours possible. De telles mesures peuvent s'avérer salutaires. Quand les pluies d'automne ne tardent pas à survenir (il en fut ainsi des années 1996 et 2003), l'olivier, bien qu'il ait été durement affecté par la sécheresse une année auparavant, reprend de la vigueur et donne une bonne récolte.

À la sécheresse s'ajoutent aussi, comme facteur aggravant, des pratiques culturales dommageables. Certains agriculteurs plantent l'olivier dans des sols peu profonds, et les laissent abandonnés à eux-mêmes, quasiment sans entretien. Ce qui amoindrit les capacités de résistance de cet arbre pourtant si rustique. Par ailleurs, en gardant, dans les oliveraies ou à leur proximité, du bois de taille en tas, destiné à être utilisé comme bois de feu ou à être transformé en charbon, on maintient involontairement des foyers à haut risque pour les plantations oléicoles.

Il s'ensuit que la lutte contre le *neïroun* devrait être essentiellement préventive :

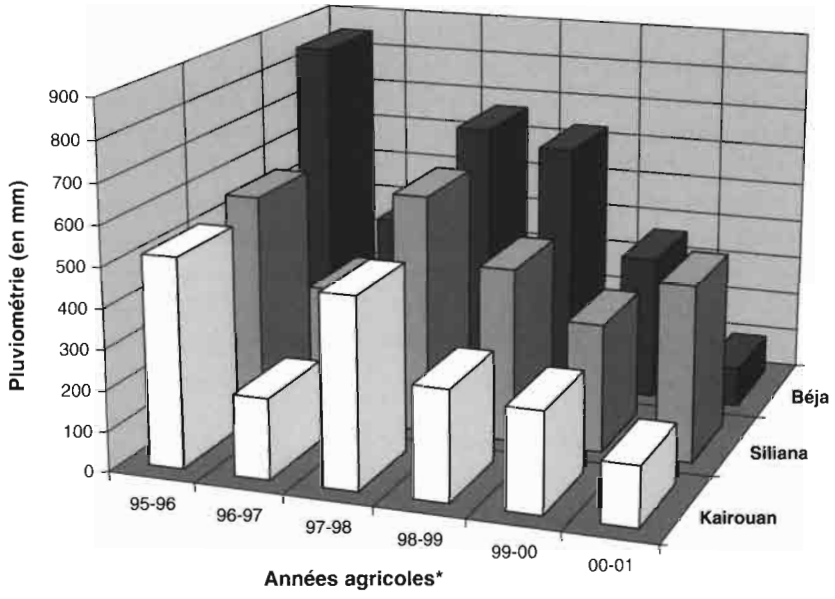
- en assurant aux oliveraies un entretien convenable ;
- en évitant de planter les oliviers sur des sols peu profonds ;
- en évacuant le bois abattu loin des oliveraies, une fois l'opération de taille terminée.

Pour conclure, on peut dire qu'en vergers irrigués, l'orientation à préconiser en matière de lutte serait de développer des stratégies phytosanitaires conjuguant à la fois l'emploi d'une lutte conventionnelle aménagée et la prise en compte des facteurs naturels de régulation au premier rang desquels ceux relatifs à l'action des ennemis naturels locaux ou introduits. Pour ce qui est de la protection de l'olivier, priorité serait accordée au suivi quantitatif des populations de nuisibles qui lui sont associées et à l'établissement des seuils de nuisibilité correspondant, en perspective d'une meilleure rationalisation de la lutte chimique.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

2. *Les céréales*

Pour les trois pays, les surfaces emblavées annuellement varient selon les conditions pluviométriques de l'année. En année pluvieuse, elles peuvent, pour la Tunisie par exemple, s'élever à deux millions d'hectares et être réduites de moitié en année peu arrosée. En fait, on considère trois étages climatiques du Nord au Sud : une zone sub-humide à vocation réellement céréalière, une zone semi aride où la culture céréalière est assez aléatoire et une zone aride où elle est pratiquée comme une spéculation de subsistance. En Tunisie, le sub-humide ne représente guère plus de 20 % de l'ensemble des terres susceptibles d'être cultivées en céréales. Mais, si les pluies d'automne déterminent, en grande partie, l'étendue des superficies emblavées, ce sont celles du printemps qui anticipent le niveau de la production céréalière de l'année. Trois stations implantées à proximité de Béja, Siliana et Kairouan correspondent respectivement à ces trois zones. Sur six années d'observation (1995-2001), quatre ont été considérées comme favorables à la culture des céréales à Béja, deux à Siliana et seulement une à Kairouan (figure 5).



* Années agricoles de septembre à août

Figure 5 ■ Pluviométrie en mm dans quelques régions de Tunisie.

Dans les zones à vocation céréalière, l'accent est mis sur la nécessité d'intensifier la production du blé avec le recours notamment aux produits agrochimiques. Le système d'assolement biennal ou triennal, qui était la règle jusqu'à présent, tend à être supplanté par un système où la culture « paille sur paille » prédomine, aux dépens des légumineuses alimentaires, des plantes industrielles et de la jachère

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

(Skouri et Latiri, 2001). Selon ces auteurs, les mesures incitatives en faveur des céréales, la faible intégration de l'agriculture et de l'élevage et la modification des habitudes alimentaires expliquent pour une grande part l'appauvrissement de la diversité des cultures dans les assolements céréaliers. Il faut cependant reconnaître que la simplification du système céréalier qui en a résulté, a conduit généralement à une amélioration significative des rendements, et cela grâce aux progrès accomplis en matière de sélection variétale, de fertilisation minérale et de contrôle des nuisibles, excepté en année marquée par la sécheresse où la production céréalière peut baisser dans de fortes proportions.

En matière de protection des cultures céréalières, la lutte est dirigée contre les adventices, les pathogènes et les insectes ravageurs.

2.1. Les adventices

Des essais conduits en Tunisie ont montré que l'emploi des herbicides, à lui seul, était à l'origine d'une augmentation des rendements du blé dur allant de 10 à 47 %. Plusieurs paramètres interviennent : le stock semencier initial de la parcelle, la composition floristique, l'antécédent cultural et surtout les précipitations annuelles, les rendements les plus faibles étant enregistrés dans les zones les moins arrosées. Il y a là une limite spatiale fixée par l'aridité du climat, qui interfère avec l'utilisation des herbicides en céréaliculture. On comprend dès lors qu'en Tunisie, en dépit des campagnes de sensibilisation, les emblavures désherbées annuellement ont tendance à se stabiliser autour de 400 000 ha. Une évolution a été constatée dans le choix des produits. On note une tendance générale à substituer les polyvalents au 2,4-D mais leur usage répété s'est traduit par une recrudescence du brome, difficile à maîtriser dans les parcelles à blé, ainsi qu'une résistance avérée du *ray grass* à l'égard des anti-graminées employés. Des recherches sont en cours pour développer d'autres formes de protection (lutte intégrée, lutte biologique).

2.2. Les maladies

Si certaines maladies des céréales sont transmises par les semences (carie, charbons, fusarioses), d'autres le sont par voie tellurique (piétin-verse), d'autres enfin sont véhiculées par voie aérienne (septoriose, helminthosporiose, rouilles, oïdium).

En général, le traitement systématique des semences permet de prévenir les dégâts provoqués par les champignons de l'épi et ceux transmis par le sol. Cependant, cette pratique n'est pas si généralisée qu'on le souhaiterait. En Tunisie, les céréaliers sont encouragés par les distributeurs de pesticides à traiter préalablement leurs semences, en leur fournissant à titre gratuit l'appareil destiné à cet usage. Toutefois, cela ne concerne guère plus de 15 % de céréaliers, c'est-à-dire les grands propriétaires terriens et ceux qui s'approvisionnent directement pour leurs semences auprès des organismes spécialisés.

La lutte chimique contre les champignons foliaires est relativement récente. C'est seulement à partir des années 70, à la suite de l'introduction de nouvelles variétés

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

de céréales précoces, à paille courte, plus productives et exigeant des soins culturaux plus attentifs (fertilisation azotée et désherbage chimique, notamment) que les maladies des céréales ont pris de l'ampleur et commencé à susciter l'inquiétude des céréaliers (Jlibène, 1996). Selon cet auteur, les pertes qui leur sont imputées, sont évaluées à 30 % de la production totale. En fait, elles varient selon les conditions pluviométriques de l'année, les variétés utilisées et le « paquet technologique » adopté. Elles peuvent prendre des allures catastrophiques spécialement en année humide, avec une pluviométrie abondante et bien répartie. Ce fut le cas pour la Tunisie en 1996, où les dégâts attribués à la septoriose et aux rouilles étaient estimés, dans certains cas, à plus de 50 % de la production de diverses céréales.

En dépit de la découverte de nouvelles molécules comme la strobilurine (Bartlett *et al.*, 2002), le contrôle chimique des maladies foliaires, pour être efficace, est soumis à de nombreuses contraintes :

– la difficulté de positionner, au moment opportun, les dates d'intervention ;
– le coût additionnel engendré par une ou plusieurs applications fongicides liées aux aléas du climat (températures anormalement excessives, stress hydrique) ;
– la réticence des agriculteurs à introduire des engins mécaniques dans leurs parcelles de céréales, au stade de la montaison ;
– le fait qu'en cas de déclaration des maladies foliaires, il y a une difficulté matérielle à couvrir chimiquement toutes les zones à risque.

Une des solutions serait la mise à disposition de variétés de céréales résistantes à la septoriose (Lonnet, 2003). En attendant, il est recommandé de traiter, à titre préventif, les semences avec un mélange à base d'herbicides et de fongicides (Nasraoui *et al.*, 2003).

2.3. Les insectes

Au même titre que les maladies des céréales, les insectes nuisibles (pucerons et mouche de Hesse en particulier) ont pris une importance économique considérable le jour où de nouvelles techniques ont été introduites en vue d'améliorer la productivité des céréales.

La prévalence des pucerons est attribuée principalement à une fumure copieuse en azote minéral, jointe à la raréfaction de leurs ennemis naturels, à la suite de l'appauvrissement de la flore (Auclair, 1989). La simplification des assolements avec réduction des superficies réservées aux légumineuses et aux plantes industrielles, pourrait être à l'origine des dégâts de la cécidomyie, dont l'ampleur, il est vrai, varie selon les années et les variétés.

La lutte chimique est parfois préconisée avec des résultats plus ou moins satisfaisants à l'égard de ces nuisibles. On utilise des produits comme le carbofuran au moment des semis et au printemps. Se pose cependant la question de ces traitements appliqués à une culture qui est à la limite de la rentabilité économique. La voie génétique avec la création, au Maroc, de variétés résistantes à la cécidomyie (El Bouhssini *et al.*, 1999) et tolérantes aux maladies virales (travaux en cours en Tunisie) semble prometteuse.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Ainsi, il apparaît clairement que pour la protection des céréales, la voie génétique, au travers de la création de variétés résistantes aux maladies, serait à privilégier tant pour des considérations économiques qu'environnementales. Elle devrait être mieux prise en compte dans les programmes de sélection qui ont pour objectif l'accroissement des rendements céréaliers. La lutte chimique contre les mauvaises herbes et insectes nuisibles, gagnerait en efficacité à être inscrite dans le cadre d'une production intégrée, c'est-à-dire celle qui associe d'autres formes de protection telle que la rotation des cultures et des pratiques culturales appropriées, jachère travaillée et apport d'azote biologique notamment.

Conclusion

À travers ces quelques exemples, il ressort que l'agriculture nord africaine est engagée dans la voie de l'intensification, en ayant essentiellement recours aux intrants agrochimiques.

Dans les pays du Maghreb, soumis à de multiples contraintes, il importe, en matière de développement agricole, de nourrir la réflexion et de tirer les enseignements de l'expérience passée afin de ne pas être confronté à des situations irréversibles (salinisation des sols, épuisement de ressources, désertification).

En particulier, dans le domaine phytosanitaire, l'attention est attirée sur la nécessité de :

– rationaliser l'utilisation des pesticides en veillant au respect des règles définies dans le guide de « bonnes pratiques agricoles » et en limitant leur emploi aux seuls cas où le seuil de nuisibilité risque d'être atteint. Cela suppose un effort soutenu de recherche et d'expérimentation, visant à fournir des informations à la fois sur les conditions d'apparition des nuisibles et sur la dynamique de leurs populations respectives. Cela implique également l'établissement, par culture, de seuils de tolérance économique et de modèles de prévision du risque ;

– développer des méthodes alternatives de lutte non polluantes et fiables, susceptibles d'être acceptées et adoptées par les agriculteurs ;

– modifier la législation phytosanitaire en vigueur concernant le taux de contamination autorisé de certaines denrées agricoles (oranges, dattes). Car son maintien en l'état est une entrave sérieuse à la mise en place de la lutte intégrée que des équipes de chercheurs s'emploient à promouvoir ;

– mieux intégrer le facteur sécheresse dans les plans de développement agricole. S'agissant de la culture des céréales, si stratégique pour les trois pays de la région, il importe de jeter les bases technico-économiques d'un système de production intégrée associant céréales aux légumineuses alimentaires et fourragères, dans le cadre d'un assolement approprié. Il est également nécessaire d'encourager les recherches qui se proposent de mettre au point des référentiels techniques adaptés à chaque région climatique, et de créer des variétés dotées d'une tolérance accrue à la fois au stress hydrique et aux nuisibles endémiques qui leur sont inféodés.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Agir de la sorte, c'est rendre la céréaliculture moins dépendante de l'industrie agrochimique et mieux intégrée dans son environnement technico-économique et social.

L'olivier paraît fournir un exemple presque parfait d'adaptation à l'environnement local, mais il a des exigences agrotechniques qu'il convient de respecter : un sol profond conjugué à des soins attentifs est de nature à lui permettre de passer sans trop de dégâts, le cap des années difficiles.

Enfin, toutes les mesures encourageant la mise en œuvre du concept de développement durable, constituent dans les pays du Maghreb comme dans le reste du monde une réponse aux inquiétudes de l'opinion publique face aux tendances productivistes de l'agriculture moderne.

Références bibliographiques

Abbassi M., Harchaoui L., Rizqui A., Nadori E.B., Nia M. (1999). Lutte biologique contre la mineuse des Agrumes *Phyllocnistis citrella* Stainton (*Lep. Gracillariidae*). ANPP 5e CIRA, Montpellier, Tome III : 609-615.

Auclair J. (1989). Host plant resistance. *In* Minks A.K., Harrewijn P., *Aphids*. Elsevier, Amsterdam, Vol 2c : 225-245.

Audemard H., Sauphanor B., Franclet J., Martinet C., Combe F., Welschen P. (2000). Lutte contre le carpocapse *Cydia pomonella* L. Méthodes spécifiques ou sélectives. *L'Arbo fruit*, hors série, III : 1-13.

Bartlett D.W., Clough J.M., Godwin J.R., Hall A.A., Hamer M., Parr-Dobranzanski B. (2002). The strobilurin fungicides. *Pest Management Sci*, **58** : 649-662.

Ben Mouama M., Hmimina M. (2001). Bilan de quatre années d'essais de lutte raisonnée contre le carpocapse *Cydia pomonella* L. (*Lepidoptera, Tortricidae*) dans la région d'Azrou. *In* Symposium sur la protection intégrée des cultures dans la région méditerranéenne, Rabat, 191-199.

Bonafos R., Auger P., Guichou S., Kreiter S. (2002). Résistance de quelques populations de *Panonychus ulmi* Koch (*Acari : Tetranychidae*) au fenazaquin et au Tebufenpyrad. ANPP 6e CIRA, Montpellier, 659-665.

Bounfour M. (2001). La technique des insects stériles (TIS) dans la lutte contre *Ceratitis capitata* Wiedman (Dip. Tephritidae) au Maroc. *In* Symposium sur La protection intégrée des cultures dans la région méditerranéenne, Rabat, 201-203.

Cayol J.-P. (1994). Contrôle et éradication de la cératite. *Compte-rendu final du projet TCP/TUN/2256 (E)*. 16 p. + annexes.

Cheikh M., Howell J.F., Harris E.J., Ben Salah H. (1975). Suppression of the Mediterranean fruit fly in Tunisia with released sterile insects. *J Econ Entomol*, **68** : 237-243.

Chermiti B., Gahbiche H., Braham H., Messelmani B., Rahmouni R. (1998). Production de masse de *Ageniaspis citricola*, parasitoïde de la mineuse des agrumes, en Tunisie. *Fruits*, **53** : 229-234.

Economopoulos A.P. (1989). Use of traps based on color and/or shape. *In* Roberson A.S. and Hooper G., *Fruit flies*. Elsevier, Amsterdam, Vol 3B : 153-165.

El Bouhssini M., Nasrellah M.N., Nachit M.M., Bentika A., Benlahbib O., Lhaloui S. (1999). First source of resistance in durum wheat to Hessian fly (*Dip. Cecidomyiidae*) in Morocco. *Genet Resour Crop Ev*, **46** : 107-109.

Fisher K.T., Hill A.R., Sproul A.N. (1985). Eradication of *Ceratitis capitata* (Wiedmann) (*Diptera: Tephritidae*) in Carnarvon ; Western Australia. *Aust J Entomol Soc*, **24** : 207-208.

Frerot B., Beslay D., Malasse C., Renou M., Cowpard A., Bouvier J.-C., Sauphanor B. (1999). Résistance aux insecticides et phéromones sexuelles chez le Carpocapse des pommes *Cydia pomonella* L. ANPP 5e CIRA, Montpellier, Tome I : 97-105.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Gilmore J.E. (1989). Sterile insect technique (SIT) overview. *In* Robinson A.S. and Hooper G., *Fruit flies*. Elsevier, Amsterdam Vol 3B : 351-363.

Hmimina M., Aziz A., Ayello M. (2001). Critères d'emploi des acaricides contre l'araignée rouge (*Panonychus ulmi* Koch) et conseils pour les maintenir efficaces en verger. Symposium sur la protection intégrée des cultures dans la région méditerranéenne, Rabat, 105-114.

Horton D.R. (1999). Monitoring of Pear Psylla for pest management decisions and research. *IPM Reviews*, **4** : 1-20.

Jardak T. (1994). *Contribution à l'étude de la dynamique des populations de la teigne de l'olivier,* Prays oleae *Bern* (Lepidoptera, Hyponomeutidae) *dans la région de Sfax*. Thèse de doctorat ès sciences, Faculté des Sciences, Tunis.

Jerraya A. (2003). Nuisibles des arbres à pépins et de l'olivier. *In* Jerraya A., *Principaux nuisibles des plantes cultivées et des denrées stockées en Afrique du Nord. Leur biologie, leurs ennemis naturels, leurs dégâts et leur contrôle*. Maghreb Éditions, Tunis, 87-126 et 167-237.

Jlibène M. (1996). État des recherches sur la septoriose au Maroc. *In* Symposium régional sur les maladies des céréales et des légumineuses. Rabat, 203-207.

Kheder Boulahia S., Jerraya A., Jrad F., Fezzani M. (2002). l'Acétamipride contre la mineuse des agrumes. Essais de traitement foliaire et « troncal ». *Phytoma*, **551** : 26-29.

Kheder-Boulahia S. (2004). *Bioécologie du psylle du poirier dans la région de Tunis*. Thèse de doctorat ès sciences sous presse, INAT, Tunis.

Ksantini M. (2003). *Contribution à l'étude de la dynamique des populations du psylle de l'olivier,* Euphyllura olivina Costa (Hom. Aphalanidae) *et de sa nuisibilité dans la région de Sfax*. Thèse de doctorat ès sciences, Faculté des Sciences, Sfax.

Lasram M., Ben Mechlia N. (2001). Les cultures irriguées dans les pays du Maghreb – Valorisation optimale des ressources et problèmes de marché. *C R Acad Agric Fr*, **87** : 161-177.

Lebdi-Grissa K. (2003). *Étude éco-démographique des acariens phytophages et prédateurs* (Acar : Tetranychidae, Phytoseidae) *et lutte biologique en vergers de pommier*. Thèse de doctorat ès sciences, INAT, Tunis.

Lonnet P. (2003). Breeding new wheat cultivars with better resistance to septoria for European farmers. *In* Kema G.H.J., van Ginkel M., Harrabi M., *Global insights into the septoria and stagonospora diseases of cereals*. Tunis, 113-117.

Nasraoui B., Fakhfakh M.M., Mahouachi M.A., Zouani R., Mhedhbi K., Karbous B. (2003). Chemical program to control septoria tritici leaf blotch disease of durum wheat in Tunisia. *In* Kema G.H.J., van Ginkel M., Harrabi M., *Global insights into the septoria and stagonospora diseases of cereals*. Tunis, 71-76.

Pena J.E., Hunsberger A., Schaffer B. (2000). Citrus leafminer (*Lepidoptera: Gracillariidae*). Density: Effect on yield of "Tahiti" Lime. *J Econ Entomol*, **93** : 374-379.

Pomerkine M.A., Stansly P.A. (1998). Establishment of *Ageniaspis citricola* (*Hym. Encyrtidae*) for biological control of *Phyllocnistis citrella* (*Lepidoptera: Gracillariidae*). *Florida Entomologist*, **81** : 361-372.

Régis S. (1993). Détermination d'un seuil de captures de la mouche de l'olive *Bactrocera* (*Dacus*) *oleae* par le piégeage sexuel en fonction du seuil de nuisibilité économique pour une lutte chimique raisonnée des fruits destinés à l'huilerie. ANPP 3e CIRA. Montpellier, Tome II : 999-1008.

Sauphanor B., Bouvier J.-C., Beslay D. (1999). Insecticide resistance in the codling moth, *Cydia pomonella* L. *In* Dentolm I., Ionnidis P.M., *Proceedings of a symposium on combating insecticide resistance*. Thessalonica, 50-57.

Schwarz A.J., Liedo J.P., Hendrichs J.P. (1989). Current Programm in Mexico. *In* Robinson A.S., Hooper G., *Fruit flies*. Elsevier, Amsterdam, Vol 3B : 375-396.

Skouri M., Latiri K. (2001). L'agriculture pluviale dans les pays du Maghreb. *C R Acad Agric Fr*, **87** : 147-160.

Stäubli A., Hächler M., Pasquier D., Antonin P., Mittaz C. (1992). Dix années d'expériences et d'observations sur le psylle commun du poirier, *Cacopsylla* (*Psylla*) *pyri* L. en Suisse romande. *Revue Suisse Vitic Arboric Hortic*, **24** : 89-10.

Tajnari H. (2001). Étude de la nuisibilité du psylle de l'olivier, *Euphyllura olivina Costa*. *In* Symposium sur la protection intégrée des cultures dans la région méditerranéenne, Rabat, 17-21.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Vergoulas P., Lysandrou M., Schmid X., Mavrotas C., Hadar A., Alimi E., Thompson G., Pandelidis S., Jousseaume C., Temerak S. (2002). Spinosad bait field performance for the control of *Ceratitis capitata* in *Citrus* crops. ANPP 6e CIRA, 279-286.

Zouiten N., El Hadhrami I. (2001). Interaction olivier-psylle : impact des traitements avec des composés phénologiques et avec le milsana sur la mortalité et la fécondité de l'insecte. *In* Symposium sur la protection intégrée des cultures dans la région méditerranéenne, Rabat, 205-209.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Section 2

Stratégies microbiologiques et entomophages

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

22

La lutte biologique par auxiliaires entomophages : concepts, repères et perspectives

Alain Fraval, Bernard J.R. Philogène,
Gérard Fabres

L'usage d'auxiliaires animaux remonte à l'antiquité mais c'est de la seconde moitié du XIX^e^ siècle que datent les premières applications à grande échelle, et les premiers succès, de ce que l'on appelle « la lutte biologique ». Le principe en est très simple : combattre un animal ou une plante indésirable en apportant, dans le milieu où cet organisme vit, un de ses ennemis naturels, un autre animal qui en fera sa proie – si c'est un prédateur –, ou vivra à ses dépens en l'affaiblissant – si c'est un parasite –, ou encore en le tuant, son propre développement une fois achevé (cas des parasitoïdes). Il est en effet courant d'observer, dans les chaînes trophiques, que tout animal court le risque de se faire dévorer par un prédateur comme il risque de tomber malade, infecté par un parasite animal ou un micro-organisme. Dans le cas de la lutte contre les ravageurs des cultures, les écologues nomment ces organismes des antagonistes et l'ensemble qu'ils constituent autour d'un même déprédateur, le cortège des ennemis naturels. La lutte biologique consiste à utiliser ces mécanismes pour réduire la pression du ravageur et servir les intérêts de l'agriculture.

L'objet de ce chapitre est de décrire comment, à partir de ce principe de base, des méthodes ont été élaborées et mises en œuvre au gré des succès et des échecs mais aussi compte tenu des avancées de la connaissance dans le domaine de l'écologie des populations. Il servira de base à d'autres chapitres qui, supposant connues ces informations, abordent la lutte biologique sous un angle plus spécifique. Il traitera d'une série de définitions qui correspondent au domaine agronomique, d'un bref historique qui retrace les vicissitudes de la méthode et la replace bien dans l'actualité, et de quelques exemples tirés de campagnes de lutte biologique conduites par l'Institut national de la recherche agronomique (INRA) en France et à l'étranger.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1. *Quelques définitions de la lutte biologique dans le domaine agronomique*

La lutte biologique est basée sur l'exploitation par l'homme, et à son profit, d'une relation naturelle entre un animal consommateur d'une ressource végétale bénéfique pour l'espèce humaine et un autre organisme, le plus souvent un parasite, un prédateur ou un agent pathogène du premier, qui le tue à plus ou moins brève échéance en s'en nourrissant. On appliquera cette définition, pour la clarté des explications, aux insectes ravageurs de plantes cultivées. Mais le principe vaut pour toutes sortes d'animaux, de microbes et de plantes indésirables, comme c'est le cas pour le séneçon (*Senecio jacobaea*), plante toxique pour les bovins et que consomme le Lépidoptère *Tyria jacobaea* (Philogène, 1973). On peut également mentionner que, dans de rares cas, le second animal n'est pas un antagoniste mais un compétiteur du premier. La *National Academy of Science* des États-Unis a adopté, en 1987, la définition suivante : « *l'utilisation d'organismes naturels ou modifiés, de gènes, de produits génétiques, en vue de réduire les effets d'organismes indésirables (pestes), et de favoriser les organismes désirables comme les plantes cultivées, les arbres, les animaux, les insectes et les micro-organismes bénéfiques* ».

1.1. Lutte biologique par entomophages

Lorsque l'organisme antagoniste du ravageur (l'auxiliaire) est un animal, il s'agit de lutte biologique au sens restreint, ou lutte par entomophage. L'auxiliaire peut être un vertébré (oiseau ou poisson insectivore) ou un nématode ; dans la plupart des cas, c'est un autre insecte. Les prédateurs, qui tuent et mangent plusieurs proies au cours de leur développement, se distinguent des parasitoïdes qui vivent aux dépens d'un hôte unique. Ce dernier meurt après l'achèvement du développement du parasitoïde. Il existe des parasites d'œufs, de larves, de nymphes. Leurs biologies sont extraordinairement variées et les relations hôte-parasite sont très complexes, incluant des échanges hormonaux et des messages chimiques interspécifiques, par des kairomones (Clausen, 1962).

1.2. Lutte biologique par acclimatation

L'organisme antagoniste peut, à la suite de son introduction par l'Homme au contact de l'insecte cible, se développer et se maintenir aux dépens de cet insecte, sans nécessiter une nouvelle intervention. C'est le cas lorsque l'on fait appel à un entomophage ou à un agent pathogène exotique contre un ravageur précédemment introduit ou parvenu naturellement d'une autre région du globe. En cas d'acclimatation réussie et d'efficacité suffisante, le système se pérennise, l'auxiliaire devenant un agent efficace et permanent (sur de nombreuses années au moins) de la répression du ravageur. L'effort initial est particulièrement bien valorisé (DeBach et Rosen, 1991).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1.3. Lutte biologique inoculative et inondative

Si les conditions d'une régulation autonome par les entomophages ne sont pas réalisées (absence d'ennemis naturels ou faible densité et activité ne pouvant assurer un contrôle efficace), il y a lieu d'opérer des inoculations ou lâchers en grand nombre chaque fois que l'effectif du ravageur croît dangereusement. Il faut alors maîtriser les techniques de multiplication de l'entomophage (en insectarium), de conditionnement, de stockage et d'épandage, tout en maintenant constante la qualité du produit (Barclay *et al.*, 1985 ; Van Driesche et Bellows, 1996). De tels auxiliaires, destinés à des applications répétées dans une pratique agricole courante, font l'objet de multiples contrôles pour s'assurer de leur innocuité pour les êtres vivants non-cibles. Leur gamme d'hôtes (en principe très limitée) est examinée tout autant que leurs éventuelles propriétés toxiques ou allergènes. Par sélection ou par des opérations de génie génétique, on cherche à améliorer ces auxiliaires, en leur conférant par exemple des propriétés de résistance aux climats extrêmes, aux insecticides ou aux fongicides.

Il y a plusieurs facteurs à considérer pour assurer le succès de la lutte biologique inoculative et inondative. Qu'il s'agisse de parasitoïdes, de prédateurs (ou même de phytophages se nourrissant de mauvaises herbes), il faut particulièrement faire attention à :

– la sélection de l'agent de lutte biologique : celui-ci doit pouvoir reconnaître, localiser et attaquer l'espèce-cible. Une espèce spécialiste sera préférable à une espèce généraliste qui risque d'être attirée par d'autres hôtes, et ainsi, de négliger l'organisme nuisible à contrôler ;

– la qualité de l'auxiliaire : une fois élevé en masse, il doit avoir conservé les caractéristiques fondamentales qui en faisaient, auparavant, un agent de lutte biologique efficace. Au cours d'un élevage de masse, on court le risque de dérives génétiques susceptibles de rendre l'auxiliaire moins performant une fois lâché sur le terrain. Le type de nourriture choisi pour les élevages de masse peut également influencer la vigueur, la fécondité, et la capacité de l'auxiliaire à localiser son hôte ou sa proie (Van Driesche et Bellows, 1996).

1.4. Lutte autocide

Aux frontières de la lutte biologique se trouve la lutte autocide (autrefois dénommée lutte par mâles stériles) mise au point par Knipling dans les années 50. Elle a pour principe l'introduction, en grand nombre, dans une population naturelle, d'individus des deux sexes rendus stériles par l'application de rayonnements ionisants, mais au comportement sexuel intact. Une fois lâchés, ces individus manipulés (et que l'on peut considérer comme des auxiliaires), seront en compétition avec leurs semblables sauvages et provoqueront la stérilité d'un grand nombre d'accouplements. Si les femelles n'acceptent qu'un seul accouplement, et si les individus stériles sont en nombre suffisant et lâchés en continu sur plusieurs générations successives, la population cible peut être anéantie ou déplacée (Knipling,

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1967). La lutte autocide classique repose sur un principe très astucieux mais son emploi semble restreint à quelques très rares cas bien répertoriés comme celui de la lucilie bouchère *Cochliomya hominivorax*, ou la mouche du melon *Dacus cucurbitae* (NAS, 1969 ; Davidson, 1974).

Actuellement le terme « lutte autocide » s'applique surtout au contrôle génétique des insectes nuisibles et utilise différentes techniques comme la stérilité des hybrides, l'incompatibilité cytoplasmique, les translocations de chromosomes. C'est une forme de lutte qui requiert à la fois une bonne connaissance de la biologie des organismes et de leurs caractéristiques écologiques (Van Emden et Service, 2004).

1.5. Lutte microbiologique

En regard de la lutte biologique par entomophages et de la lutte autocide, on se doit de mentionner, pour être complet, la lutte biologique conduite avec des micro-organismes. En effet, si l'organisme antagoniste est un micro-organisme, on parle de lutte microbiologique (*cf.* chapitre 25). L'agent pathogène auxiliaire peut être un champignon, une bactérie, un virus, un protozoaire, une rickettsie. Il infecte l'hôte en général par ingestion et possède une forme de résistance lui permettant de passer – et de demeurer – dans le milieu (sol, feuillage, litière). L'agent pathogène se multiplie dans l'hôte et cause sa mort par destruction de tissus, par septicémie, parfois par l'émission d'une substance toxique. On place également les nématodes dans la catégorie des entomopathogènes (Liu *et al.*, 2000).

2. *Bref historique*

L'histoire de la lutte biologique est faite de beaucoup de succès mais aussi de beaucoup d'échecs. Cependant, de plus en plus d'expérimentations et de contrôles *a posteriori*, ainsi qu'une réflexion sur la méthode et ses implications écologiques, ont permis d'accumuler des connaissances considérables, non seulement au niveau de l'application et de la pratique phytosanitaire, mais aussi en sciences de base et singulièrement en écologie. L'expérience acquise a montré la complexité de la constitution et du fonctionnement du milieu vivant qu'est un champ, une forêt, la végétation d'une serre, etc., et appris à le traiter avec plus de circonspection, voire de respect.

Bien que l'expression *biological control* (lutte biologique) n'ait été introduite dans la littérature scientifique par H.S. Smith qu'en 1919 (Ordish, 1967), la lutte biologique fut probablement mise en œuvre pour la première fois en Égypte, au début du II^{e} millénaire avant J.-C. lorsque, par croisement et sélection de félins sauvages et par domestication, fut créé le chat domestique, capable de chasser les rongeurs qui subsistent aux dépens des stocks de grains amassés. Plus près de nos préoccupations entomologiques, on peut évoquer la pratique chinoise qui assurait la circulation des fourmis entre les arbres d'un verger pour contrecarrer l'installation de certains insectes phytophages.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

En 1872, en Californie (États-Unis), on eut à faire face à l'invasion dévastatrice d'une cochenille, *Icerya purchasi*, amenant le dépérissement des *Citrus* et conduisant l'agrumiculture à la ruine. Une fois établie l'origine australienne du ravageur par Riley, une mission fut envoyée sur ce continent pour y étudier le « cortège parasitaire » de la cochenille et en rapporter des antagonistes susceptibles de s'acclimater en Californie, et capables de réguler le niveau de population du phytophage et de ramener les dégâts à un niveau économiquement acceptable. Cette campagne réussit totalement, avec l'introduction par Kœbele de la coccinelle *Novius cardinalis*, qui s'acclimata fort bien et se révéla parfaitement efficace (Ordish, 1967 ; Caltagirone et Doutt, 1989). On peut noter que la toute dernière campagne de lutte biologique qui a eu un retentissement mondial (années 80-90) s'est construite sur le même schéma : elle concerne l'introduction en Afrique d'une cochenille déprédatrice du manioc en provenance du Nouveau Monde. La parade a consisté en l'introduction d'un auxiliaire exotique, un parasitoïde cette fois, qui semble assurer une bonne régulation des populations du ravageur dans toute la zone de culture de cette plante vivrière (Neuenschwander et Herren, 1988 ; *cf.* chapitre 23).

Entre ces deux campagnes de lutte biologique, conduites à un siècle d'intervalle, d'autres opérations de même nature, avec recherche et acclimatation d'antagonistes exotiques ont été mises en œuvre et sont restées dans les mémoires. À partir de l'ouvrage de DeBach et Rosen (1991), et en choisissant différents ordres d'insectes phytophages, on peut citer les opérations menées contre la punaise *Nezara viridula* en Australie dans les années 30-60 ; la mouche des fruits *Dacus dorsalis* aux iles Hawaï en 1947-51 ; le Lépidoptère *Operophtera brumata* au Canada entre 1955 et 1960 ; la chrysomèle *Oulema melanopus* aux États-Unis (1966-72) ; le ver blanc *Oryctes rhinoceros* dans le Pacifique dans les années 65-70 et le puceron de la luzerne *Acyrtosiphon pisum* (1977) aux États-Unis. En un siècle, la lutte biologique a permis de réduire les populations de 421 espèces d'organismes nuisibles dans 196 pays ou îles (Greathead et Greathead, 1992). Mais elle n'a remplacé la lutte chimique que dans 16 % des 600 cas où elle a été pratiquée (Myers *et al.*, 1989). Il faut d'autre part noter qu'en Amérique du Nord, l'utilisation d'agents de lutte biologique phytophages pour contrôler les mauvaises herbes est beaucoup plus fréquente que l'utilisation d'entomophages pour lutter contre les insectes nuisibles (McFayden, 1998).

Ainsi, l'euphorie du succès de la campagne réussie contre la cochenille australienne a impulsé nombre de tentatives d'introduction d'auxiliaires exotiques, mais toutes ne se sont pas traduites positivement. Dans 30 % des cas, l'auxiliaire s'est acclimaté, mais dans 10 % des cas seulement, les résultats sont économiquement satisfaisants (Greathead, 1995). Force fut donc de constater que, dans beaucoup de cas, acclimater de façon empirique ne pouvait suffire et qu'il était indispensable de mieux inscrire ces pratiques dans leur contexte d'écologie et de biologie des populations et/ou de recourir à d'autres méthodes dérivées : lâchers inoculatifs ou inondatifs s'appuyant sur une production des antagonistes en masse et qui s'apparentent à des traitements biologiques (Stiling, 1993).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un delit

Dans le même temps avaient été inventés, développés, mis sur le marché et déjà abondamment utilisés des insecticides de synthèse comme le DDT (dichlorodiphényltrichloroéthane), le lindane, le parathion et leurs dérivés : tous produits tellement simples à utiliser, et tellement efficaces, qu'on en vint à douter de l'intérêt de poursuivre de coûteuses et trop souvent vaines recherches et expérimentations en lutte biologique, en dépit de la pertinence des principes qui la fondent et de l'extraordinaire rendement (financier) d'une acclimatation réussie.

Mais on le sait, cette lutte chimique s'est heurtée à deux obstacles majeurs qui sont aujourd'hui à la base de tout l'argumentaire pour la recherche de solutions alternatives :

– là où avait été appliqué régulièrement un produit, la nécessité apparaissait d'augmenter la quantité du produit à l'ha (de la multiplier par 10 ou même par 100) pour une même efficacité, la population locale du phytophage étant devenue résistante (*cf.* chapitre 9) ;

– parmi les matières actives en usage, certaines se sont révélées de vrais poisons pour la vie animale et l'homme, du fait des molécules produites par dégradation et dont la concentration augmentait le long des chaînes alimentaires. Le DDT et ces substances durent être interdits, pour la plupart de leurs emplois.

Enfin, on se trouva face à des situations où l'arme chimique ne pouvait pas être employée – sauf à des coûts d'application absolument prohibitifs – comme dans le cas de ressources végétales dispersées et ne dégageant pas suffisamment de revenu : certaines forêts, pâturages, parcours, palmeraies, oliveraies, etc.

Ces trois types d'obstacles, joints à la demande d'une partie croissante des consommateurs de produits « bio » élaborés sans intrants de synthèse, justifient et même imposent le recours à des méthodes alternatives de la lutte chimique dont la lutte biologique n'est qu'une des voies possibles. D'où une réhabilitation des programmes de lutte biologique, toujours d'une grande actualité comme l'attestent les réunions internationales organisées par l'Organisation du commerce et du développement économique (OCDE, 1998) et plus près de nous par la Fédération régionale (Nord) de défense contre les ennemis des cultures (FREDEC, 2002).

L'histoire de la lutte biologique n'est bien sûr pas achevée. Elle constitue un ensemble de méthodes de lutte à l'efficacité éprouvée et au coût compétitif. Comme jadis, les améliorations sont attendues d'un renforcement des connaissances en sciences du vivant, celles traitant de l'être vivant en soi (zoologie, botanique, microbiologie, etc.) et celles considérant l'être vivant dans son environnement – y compris agrotechnique – (les différentes composantes de l'écologie), sans omettre les « outils de connaissance » (la biométrie par exemple). En effet, comme l'a souligné Kaveira (1996), l'écologie n'a pas encore apporté une contribution substantielle à la mise en œuvre de programmes de lutte biologique en ce qui concerne les risques qui peuvent y être associés (*cf.* chapitre 24). S'y ajoute également la possibilité de modifier l'être vivant autrement que par la sélection classique ainsi que par l'application des biotechnologies à la lutte biologique (Howarth, 1991).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un delit

3. *Quelques réalisations de la lutte biologique par entomophages*

La période 1955-1975 se caractérise en France par la mise en œuvre de projets de lutte biologique développés par l'INRA en collaboration avec des laboratoires étrangers. La diversité des méthodes d'intervention semble exemplaire de ce qui peut être fait dans le domaine. Nous y sélectionnerons des exemples concrets pour illustrer, à l'appui des définitions qui précèdent, les différents types de programmes que l'on peut conduire en lutte biologique (Jourdheuil *et al.*, 1991).

3.1. Les acclimatations

Leur succès dépend de la maîtrise de l'élevage de l'auxiliaire de façon à pouvoir le lâcher en abondance suffisante, à plusieurs reprises, et en plusieurs lieux pour qu'il s'y établisse. Mais il dépend aussi, et surtout, d'une connaissance détaillée de la bioécologie tant de l'auxiliaire que du ravageur à combattre, pour optimiser l'intervention mais aussi pour être capable de tirer des enseignements aussi bien des succès que des échecs éventuels (*cf.* chapitre 23).

La lutte contre la cochenille blanche du palmier dattier est exemplaire d'une collaboration inter-institutionnelle qui a permis d'associer travaux de laboratoire et suivis de terrain. Elle fut conduite avec la coccinelle *Chilochorus bipustulatus* découverte en Iran par un chercheur du Muséum national d'histoire naturelle, élevée au centre de recherches de l'INRA d'Antibes et enfin lâchée (avec succès) en Mauritanie par une équipe d'entomologistes de l'IRFA (Institut français de recherches sur les fruits et agrumes, aujourd'hui intégré au CIRAD) (Iperti et Laudeho, 1969).

Un deuxième exemple permet de souligner l'originalité et la qualité des démarches intellectuelles qui ont permis de raisonner (et de réussir) la lutte contre la « mouche blanche » des agrumes. *Aleurothrixus floccosus*, ou « aleurode floconneux », est un insecte Homoptère suceur de sève originaire de l'Amérique centrale, apparu en 1966 à San Diego en Californie (États-Unis), à Malaga en Espagne puis à Nice en France et qui envahit un peu plus tard l'Italie et le Maroc. Dès 1967, les chercheurs californiens entreprennent, parallèlement à l'installation de « barrières chimiques » (traitements massifs en lisière de la zone infestée qui se révéleront vite inefficaces), la recherche d'entomophages au sein de la faune locale et en Amérique latine (DeBach et Rose, 1976). En France, *A. floccosus* se révèle absolument dépourvu d'ennemis naturels et ses pullulations ne sont freinées que par la surface disponible de feuilles jeunes (mise en jeu de la capacité limite). Par l'entremise de l'Organisation internationale de lutte biologique (OILB), trois espèces d'Hyménoptères parasites sont importées et soumises à l'examen de leurs qualités en vue d'une acclimatation. *Cales noaki*, provenant d'une souche chilienne adaptée aux climats tempérés, est retenu et lâché, en 1971. Il est immédiatement reconnu comme « efficace » mais les étés chauds réduisent considérablement son pouvoir d'intervention et, dans ce cas, l'aleurode développe, de façon cyclique, des pullulations annuelles brutales

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

(résurgence). Un autre parasitoïde, *Amitus spiniferus*, en provenance d'une région chaude du Pérou est alors acclimaté. Depuis, auxiliaires principal et complémentaire cohabitent harmonieusement et l'aleurode, toujours présent, n'est plus considéré comme nuisible (Onillon, 1990).

L'acclimatation n'est cependant pas toujours facile à réaliser. Ainsi, les efforts entrepris au Canada pour contrôler le puceron lanigère du sapin (*Adelges sp.*) par l'introduction d'une trentaine de prédateurs, venus d'outre atlantique, n'ont pas donné les résultats escomptés. Seules six espèces se sont établies, et on estime qu'elles ne contrôlent que 25 % des populations du puceron (McGugan et Coppel, 1962).

Il faut d'autre part noter que les programmes d'introduction de Coccinelidés en Amérique du Nord n'ont pas connu le même succès qu'ailleurs dans le monde (Obbrycki et Kring, 1998). Dans cette région, l'introduction et la propagation massive de la coccinelle asiatique, *Harmonia axyridis*, a créé des problèmes inconnus jusque-là : tout en assurant une lutte efficace contre certaines espèces de pucerons, ces coccinelles sont devenues d'importants ravageurs des fruits. D'autre part, elles provoquent des allergies chez les humains (Kovach, 2004). Enfin, ces entomophages s'attaquent aussi à d'autres insectes qui ne posent pas de problèmes agricoles (Koch *et al.*, 2004).

3.2. Les lâchers périodiques inoculatifs et inondatifs

L'idée remonte à la fin du XIX^e^ siècle et fut très souvent mise en pratique (Ridway et Vinson, 1977). La première participation française à une opération de cette nature correspond à un programme de lutte biologique, conduit en partenariat avec l'Iran, contre les punaises des céréales. Il mit en jeu des lâchers inondatifs de plusieurs espèces du genre *Asolcus* (Hyménoptères) multipliés au laboratoire sur des œufs de punaises (Martin *et al.*, 1969).

De la même manière, une fois l'élevage de masse de la cératite (mouche méditerranéenne des fruits) mis au point, une collaboration franco-italienne a permis la production en masse d'*Opius concolor* et la lutte par épandages inondatifs de cet auxiliaire sur les olivettes des Îles éoliennes, dans la région de Palerme et dans le sud de la France (Delanoue, 1964).

Au Maroc, des chercheurs français introduisent *Aphytis melinus* pour lutter contre deux des cochenilles des agrumes, le « pou rouge », jugulé sans problème, et le « pou de Californie », objet de lâchers répétés. Un insectarium expérimental, à Rabat, puis une installation en grandeur réelle, à Mechra bel Ksiri, produisent les *Aphytis* élevés sur un hôte de substitution (une cochenille), lui-même élevé sur des pastèques. L'insectarium capable d'assurer le « traitement » de 150 ha par an, fonctionnera jusqu'en 1990, financé par l'ASPAM (Association des producteurs d'agrumes au Maroc) (Benassy *et al.*, 1968).

En France, c'est surtout dès 1970 que se multiplient les expérimentations, à partir de la station de l'INRA à Antibes. Ainsi, une soixantaine de programmes ont mis

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

en jeu plus de 40 espèces, avec des résultats significatifs dans la plupart des cas (Jourdheuil *et al.*, 1991). Le programme de lâchers inondatifs de trichogrammes en est un bon exemple et nous le détaillerons dans le paragraphe qui traite de l'élevage de masse (Kabiri *et al.*, 1991).

L'expérience acquise montre que pour cette approche de la protection des végétaux, qui met en œuvre des traitements biologiques, il ne suffit pas de conduire des recherches sur les auxiliaires et de démontrer leur efficacité. Il faut également, et dans chaque cas particulier, mettre en place des mécanismes d'intégration du produit de la recherche dans l'économie d'une production agricole. Cela implique que la recherche prenne l'initiative d'une coopération dans trois directions privilégiées :

– vers l'industrie pour transformer, si nécessaire, l'essai démonstratif en une méthode de lutte fiable, relativement facile d'emploi et d'un prix concurrentiel avec les pesticides chimiques ;

– avec les autres laboratoires et disciplines de recherche pour que cette méthode puisse s'intégrer dans un système cohérent et compatible de protection à appliquer à l'ensemble des ravageurs d'une culture déterminée ;

– avec les milieux professionnels agricoles pour que les futurs utilisateurs de la méthode soient parfaitement avertis de ses conditions d'emploi, de ses possibilités et de ses limites.

Les efforts en ce sens ont été limités à un petit nombre de cas mais, tout en remarquant qu'il a fallu de six à dix ans de recherches et d'expérimentations partielles, on constate qu'ils ont été couronnés de succès. Citons l'emploi de *Metaphycus helvolus* et de *Diversinervus elegans* (Hyménoptères) contre la cochenille noire de l'olivier ; de l'acarien *Phytoseiulus persimilis*, prédateur de tétranyques (acariens phytophages) ; du parasitoïde d'aleurodes *Encarsia formosa* ; des trichogrammes dont la production en autorise l'emploi sur plusieurs dizaines de milliers d'hectares. Toutes ces opérations ont associé à la Recherche, des groupements professionnels locaux, des chambres d'agriculture, des coopératives, des firmes et l'UNCAA (Union nationale des coopératives agricoles d'approvisionnement).

3.3. Le renforcement de l'action des auxiliaires

Le troisième volet des activités menées dans le cadre de la lutte biologique est de protéger des auxiliaires au sein des agrobiocénoses ou de favoriser leur action (« favorisation »). Il rassemble des pratiques modifiant le milieu pour garantir non seulement la survie et l'efficacité des entomophages introduits ou épandus, mais aussi celle de tous les ennemis naturels existants (Pickett et Bugg, 1998). Plusieurs approches sont possibles :

– les zones refuges (haies, zones incultes, sites d'altitude) sont à préserver pour favoriser les échanges fauniques entre elles et les zones de cultures. On peut cependant regretter que ces pratiques n'aient jusqu'ici que peu retenu l'attention (*cf.* chapitre 15) ;

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

– la « lutte chimique raisonnée » vise à éviter toute rencontre, dans le temps et dans l'espace, entre le toxique et l'auxiliaire. Elle nécessite une étude fine du fonctionnement de la biocénose de la culture. Son application à la protection du colza a permis de reprendre cette culture dans le Lauragais, où un charançon et la cécidomyie des siliques avaient gravement affecté les rendements (Fraval, 1993). Ce succès a permis de la généraliser et de l'adapter à des cultures pérennes comme l'olivier et les agrumes ;

– des matières actives agropharmaceutiques épargnant les auxiliaires ont été recherchées. Il s'agissait surtout de disposer de pesticides compatibles avec l'usage – sous serres – de l'acarien prédateur *Phytoseiulus persimilis* et de parasitoïdes d'aleurodes (*Encarsia formosa)* ou de pucerons comme *Diaretiella rapae* (Fraval, 1993).

Tous ces résultats d'ordre appliqué n'ont pu être obtenus que par un développement corrélatif des recherches, dites « de base », proches de disciplines fondamentales, et menées le plus souvent au sein des mêmes équipes. L'identification des différents éléments des biocénoses, a été poursuivie non seulement pour les espèces cultivées mais aussi au niveau des forêts méditerranéennes et tempérées et de cultures tropicales. Ce sont des entreprises énormes et très rarement achevées, même si le but est de connaître le cortège des ennemis d'une unique espèce.

Tout aussi fondamental que l'inventaire des organismes en présence est l'établissement d'un schéma fonctionnel, bâti à partir d'études bioécologiques enregistrant les fluctuations spatio-temporelles des populations concernées. Il faut toutefois constater qu'il n'en a résulté que très peu d'analyses complètes et que les déplacements des individus ont été en général presque ignorés. Cependant, un résultat général important, qui va à l'encontre d'une idée largement répandue, se dégage de toutes ces études : l'efficacité des entomophages qui assurent la régulation des pullulations de ravageurs n'est pas nécessairement fonction de la stabilité et de la richesse en espèces de la biocénose.

3.4. Les élevages de masse

Ils sont à la base des opérations de lutte biologique (Obrycki *et al.*, 1997) et doivent assurer la « fabrication » d'auxiliaires en respectant des impératifs de quantité, de qualité et de prix de revient. D'où le développement d'une véritable zootechnie. L'élevage d'un parasite ou d'un prédateur directement sur un milieu artificiel ou synthétique est l'idéal poursuivi, même si les réalisations ne sont pas encore sorties du domaine expérimental. La production se fait donc à partir d'hôtes et de proies vivants, dont il faut assurer l'élevage, sur un milieu aussi simple que possible. Heureusement, beaucoup d'entomophages acceptent de se développer aux dépens d'autres organismes, véritables « bêtes de laboratoire » bien adaptées à une simplification des manipulations. Citons la teigne des ruches utilisée pour la production de plusieurs tachinaires (mouches parasites de chenilles) ainsi que le ver de farine (*Ephestia kuehniella*) à la base de l'« industrie » du trichogramme (Smith, 1996).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Les trichogrammes sont, du reste, un bon exemple de cette pratique et du succès que cette méthode peut rencontrer. Ce sont de minuscules insectes de l'ordre des Hyménoptères, qui se développent aux dépens des œufs de leur hôte. *Trichogramma brassicae* (*alias T. maidis*) est un parasitoïde naturel des œufs de la pyrale du maïs, *Ostrinia nubilalis*, Lépidoptère dont la chenille dévore les tissus (tige et épi) de la plante. En France, ces parasitoïdes sont disponibles auprès des coopératives agricoles ; dans d'autres pays, ils sont distribués par les Instituts techniques ou les établissements de recherche. Ce parasitoïde est commercialisé sous le nom de TR16® premier auxiliaire ayant reçu une homologation en grande culture, pour lutter contre la pyrale du maïs. Il est livré sous forme de capsules en carton de la taille d'une pièce de monnaie. À l'intérieur de la capsule, 500 trichogrammes (environ) qui sortiront par les trous ménagés dans la paroi paraffinée, lorsque l'agriculteur aura épandu les capsules dans le champ (éventuellement à partir d'un aéronef). Cette simplicité d'emploi est l'aboutissement d'un gros travail de recherche associant les investigations biologiques (étude du trichogramme, de la pyrale et de leurs interrelations) et biotechniques : mise au point de l'élevage sur hôte de substitution (sur *Ephestia kuehniella*, une chenille vivant dans la farine), stockage (un arrêt de développement est provoqué par le froid), conditionnement (les capsules), définition d'une stratégie optimale d'application (Hawlitzsky et Voegelé, 1991).

Dès les années 80, la lutte biologique par trichogrammes fut pratiquée à grande échelle en URSS et en Chine, ces pays parvenant ainsi, par l'usage d'agents biologiques, à réduire leur dépendance en produits chimiques vis-à-vis de l'étranger (Qiu Shi Bang, 1986).

Conclusion

La lutte biologique contre les ravageurs a été très tôt et pour longtemps conditionnée par le succès retentissant de certaines campagnes d'introduction-acclimatation d'auxiliaires exotiques. On peut également porter à son crédit l'élégance des mécanismes ainsi mis en œuvre, même si les premiers naturalistes n'en connaissaient pas les modalités (Gabriel et Cook, 1990). De très nombreux échecs sont venus tempérer les premiers enthousiasmes mais ils ont été, dans le même temps, à l'origine d'un questionnement de plus en plus pertinent sur les processus de la relation ravageurs-antagonistes : au niveau des individus eux-mêmes mais aussi à celui de leurs populations et de l'agrosystème au sein duquel ils évoluaient. Aujourd'hui, bien des avancées ont été réalisées dans ce domaine, tant au point de vue méthodologique et technique que conceptuel (Van Driesche et Bellows, 1996).

Techniquement, on est en mesure de produire de grandes quantités d'organismes auxiliaires, sur des milieux artificiels, ce qui autorise la mise en pratique de méthodes telles que les lâchers inoculatifs et inondatifs, en plein champ ou en serre. Le marché de la production industrielle est du reste appelé à se développer dans cette direction,

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

au même titre que celui des produits pesticides, non pas en concurrence mais en synergie avec ces derniers (Cranshaw *et al.*, 1996).

Ceci nous renvoie aux concepts mêmes de la lutte biologique et à l'intégration de ses méthodes dans le cadre de stratégies phytosanitaires globales qui accordent de plus en plus d'importance aux équilibres biologiques et au développement durable (Ferron, 1999). La source d'un nouvel équilibre ravageur-antagonistes au sein de la biocénose du phytophage n'est plus limitée à la seule relation entre le déprédateur et un ou plusieurs auxiliaires performants (Myers *et al.*, 1989). Elle procède davantage de la diversité des intervenants (Altieri, 1999), au premier rang desquels on trouve les entomophages indigènes et plus particulièrement les prédateurs généralistes (Landis *et al.*, 2000). Selon la même évolution de la pensée scientifique, la prise en compte de la biodiversité et de sa préservation a fait surgir la question de l'impact écologique des opérations de lutte biologique par acclimatation d'auxiliaires exotiques, et de ses effets non intentionnels (Ehler, 1990 ; OILB, 1999 ; *cf.* chapitre 24)

Puisque les premières campagnes de lutte biologique par acclimatation d'entomophages exotiques datent de la fin du XIX^e^ siècle, on peut mesurer en ce début du XXI^e^ siècle l'évolution du concept et des pratiques. Cette évolution s'inscrit et se poursuit dans le sens d'une meilleure compréhension et mise en œuvre des mécanismes écologiques et en direction d'une stratégie phytosanitaire respectueuse de l'environnement et compatible avec le développement durable.

Références bibliographiques

Altieri M.A. (1999). The ecological role of biodiversity in agroecosystems. *Agric Ecosyst Environ*, **74** : 19-31.

Barclay H.J., Otvos I.S., Thomson A.J. (1985). Models of periodic inondation of parasitoid for pest control. *Can Entomol*, **117** : 705-716.

Benassy C., Mathys G., Neuffer G., Milaire H., Guignard E. (1968). Utilisation pratique de *Prospaltella perniciosi* parasite du pou de San José *Quadraspidiotus perniciosus*. *Entomophaga*, 4, Hors série, 28 p.

Caltagirone L.E., Doutt R.L. (1989). The history of the Vedalia bettle importation to California and its impact on the development of biological control. *Annu Rev Entomol*, **34** : 1-16.

Clausen C.P. (1962). *Entomophagous insects*. Hafner Publishing Compagny. New York, USA.

Cranshaw W., Sclar D.C., Cooper D. (1996). A Review of 1994 Pricing and Marketing by Suppliers of Organisms for Biological Control of Arthropods in the United States. *Biol Control*, **6** : 291-296.

Davidson G. (1974). *Genetic control of insect pests*. Academic Press, London, N.Y.

DeBach P., Rose M. (1976). Biologfical control of woolly whitefly, *Calif Agric*, **30** : 4-7.

DeBach P., Rosen D. (1991). *Biological Control by Natural Enemies*. Cambridge University Press, Cambridge.

Delanoue P. (1964). Conséquences de la compétition entre les chalcidiens indigènes et un braconide importé (*Opius concolor*) dans les essais de limitation des populations de *Dacus oleae* dans les Alpes maritimes. *Rev Pathol vég Entomol agric Fr*, **43** : 145-151.

Ehler L.E. (1990). Revitlizing Biological Control. *Issues in Science & Technology*. Fall 1990.

Ferron P. (1999). Protection intégrée des cultures : évolution du concept et de son application. *Cahiers Agricultures*, **8** : 389-396.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

FREDEC (2002). Conférence Internationale sur les Moyens alternatifs de lutte contre les organismes nuisibles aux végétaux. Lille, France.

Fraval A. (1993) La lutte biologique contre les ravageurs des cultures. *Dossiers de la Cellule Environnement de l'INRA*, **5** : 1-10.

Gabriel C.J. Cook R.J. (1990). Biological control – the need for a new scientific framework. *Bioscience*, **40** : 204-206.

Greathead D.J. (1995). Benefits and risks of classical biological control. *In* Hokhanen H.M.T., Lynch J.M., *Biological control. Benefits and risks*. Vol. 4, *Plant and Microbial Biotechnology Research*, Cambridge University Press : 53-63.

Greathead D.J., Greathead A.H. (1992). Biological control of insect pests by insect parasitoids and predators: the BIOCATt database. *Biocontrol News Info*, **13** : 61N-68N.

Hawlitzsky N., Voegele J. (1991). Démarche utilisée pour élaborer une stratégie de lutte biologique par lâchers inondatifs d'entomophages contre un ravageur du maïs. Problèmes apparus lors de la pratique et solutions apportées. *Ann Soc Zool Fr*, **116** : 3-4.

Howarth F.G. (1991). Enviromental impacts of classical biological control. *Annu Rev Entomol*, **36** : 485-509.

Iperti G., Laudeho Y. (1969). Les entomophages de *Parlatoria blanchardi* dans les palmeraies de l'Adrar mauritanien. 1. Études biologiques et écologiques préliminaires. Perspectives d'acclimatation de nouveaux prédateurs *Coccinellidae*. *Ann Zool Ecol anim*, **1** : 17-30.

Jourdheuil P., Grison P., Fraval A. (1991). La lutte biologique : un aperçu historique. *Le Courrier de la Cellule Environnement de l'INRA*, **15** : 37-60.

Kabiri F., Frandon J., Voegele J., Hawlitzky N., Stengel M (1991). Lâchers inondatifs de Trichogrammes. Stratégie évolutive contre la pyrale du maïs, *Phytoma*, **428** : 23-26.

Kaveira P. (1996). Contribution of ecology to Biological Control. *Ecology*, **77** : 1963-1964.

Knipling E.F. (1967). Sterile technique-sterile principles involved, current application, limitations and future application. *In* Wright J.W., Pal R., *Genetics of insect vectors of diseases*. Elsevier, Amsterdam.

Koch R.L., Venette R.C., Hutchison W.D. (2004). Nontarget effects of the multicolored Asian lady beetle (*Coleoptera: Coccinellidae*): case study with the monarch butterfly (*Lepidoptera: Nymphalidae*). *Amer Entomol*, **50** : 155-156.

Kovach J. (2004). Impact of multicolored Asian lady beetles as a pest of fruit and people. *Amer Entomol*, **50** : 159-161.

Landis D.A., Wratten S.D., Gurr G.M. (2000). Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. *Annu Rev Entomol*, **45** : 175-201.

Liu J., Poinar J.G.O., Berry R.E. (2000). Control of insect pests with entomopathogenic nematodes: the impact of molecular biology anf phylogenetic reconstruction. *Annu Rev Entomol*, **45** : 287-306.

McFayden R.E.C. (1998). Biological control of weeds. *Annu Rev Entomol*, **43** : 369-393.

McGugan B.M., Coppel H.C. (1962). Biological control of forest insects, 1910-1958. In: *A review of the Biological Control Attempts against Insects and Weeds in Canada* Vol. 2. *Technical Communication*. CIBC, Trinidad, 35-216.

Martin H.E., Juvanery M., Radjabi G. (1969). Note sur la punaise des céréales *Eurygaster integriceps* et ses parasites du genre *Asolcus* en Iran. *Entomol Phytopathol Appl*, **28** : 38-46.

Myers J.H., Higgins C., Kovacs E. (1989). How Many Insect Species are Necessary for the Biological Control of Insects?, *Environ Entomol*, **18** : 541-547.

NAS (1969). *Insect-pest management and control. Principles of plant and animal pest control*. Vol. 3. Publication 1965. National Academy of Sciences. Washington, D.C.

Neuenschwander P., Herren H.R. (1988). Biological control of the cassava mealybug, *Phenacoccus manihoti*, by the exotic parasitoid *epidinocarsis lopezi* in Africa, *Philos Trans R Soc, Ser. B*, London, **318** : 319-333.

Obrycki J.J., Kring T.J. (1998). Predaceous coccinellidae in biological control. *Annu Rev Entomol*, **43** : 295-321.

Obrycki J.J., Lewis L.C., Orr D.B. (1997). Augmentative Releases of Entomophagous Species in Annual Cropping Systems. *Biological Control*, **10** : 30-36.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

OCDE (1998). *Sustainable pest management. Safe utilisation of new organisms in biological control.* Montréal, Québec, Canada.

OILB (1999). Evaluation des effets écologiques indirects de la lutte biologique. *Symposium International de l'OILB.* Montpellier, France.

Onillon J.C. (1990). The use of natural enemies for the biological control of whiteflies. *In* D Gerling : *Whiteflies, their bionomics, pest status and management.* Intercept Ltd Andover (UK), 287-313.

Ordish G. (1967). *Biological methods of pest control.* Constable, London.

Philogène B.J.R. (1973). Observations on *Arctia caja Americana*, Hair (*Lepidopera: Arctiidae*) on tansy ragwort, *Senecio jacobae. J Entomol Soc Brit Columbia*, **70** : 20-21.

Pickett C.H., Bugg R.L. (1998). *Enhancing Biological Control: Habitat Management to Promote Natural Enemies of Agricultural Pests.* University of California Press, Berkeley, USA.

Qiu Shi Bang (1986). Utilisation des auxiliaires entomophages contre les ravageurs des cultures en Chine. *Agronomie*, **6** : 857-861.

Ridway R.L., Vinson S.B. (1977). *Biological control by augmentation of natural enemies.* Plenum Press, N.Y., London.

Smith S.M. (1996). Biological control with *Trichogramma* : advances, successess and potential of their use. *Annu Rev Entomol*, **41** : 375-406.

Stiling P. (1993). Why Do Natural Enemies Fail in Classical Biological Control Programs?, *Amer Entomol*, **39** : 31-37.

Van Driesche R.G., Bellows T.S. (1996). *Steps in classical arthropod biological control.* Proc Thomas Say Publ in Entomology. Entomological Society of America, Lanham, Maryland.

Van Emden H.F., Service M.W. (2004). Pest and vector Control. Cambridge University Press. Cambridge.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

23

La lutte biologique par acclimatation d'entomophages exotiques : les leçons de la dernière campagne internationale

Gérard Fabres

La lutte biologique peut être définie comme l'utilisation par l'homme de mécanismes de nature biologique pour contrecarrer le développement d'organismes nuisibles aux plantes qu'il cultive ou aux animaux qu'il élève. Cette définition couvre de nombreuses méthodes comme la lutte autocide (*cf.* chapitre 22) ou l'usage des variétés résistantes (*cf.* chapitre 30).

Des définitions plus restrictives sont utilisées en particulier celles qui font référence non plus à des mécanismes de nature biologique mais à l'action d'organismes vivants (Ferron, 1999). On parle alors de lutte biologique « classique ». Cette dernière met à profit les relations naturelles qui existent entre un organisme nuisible (animal, végétal, microbien) et un autre organisme dit antagoniste (prédateur, parasite ou pathogène), dont le développement aux dépens du premier aboutit à sa mort ou à la réduction de son pouvoir de nuisance.

L'exposé qui suit est essentiellement consacré aux insectes ravageurs des cultures et à leurs antagonistes animaux que sont les insectes parasitoïdes et prédateurs, tout en notant que le propos est habituellement étendu aux acariens phytophages et prédateurs. Il s'agit alors d'une lutte biologique par utilisation d'auxiliaires entomophages, dont les fondements théoriques et les méthodes ont été traités dans des ouvrages de synthèse (DeBach et Rosen, 1991 ; *cf.* chapitre 22).

L'introduction accidentelle, en Afrique, de la cochenille du manioc en provenance du Nouveau Monde, eut lieu dans les années 70. Elle a été à l'origine d'un vaste projet de lutte biologique par entomophages qui a connu un grand retentis-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

sement. En suivant le fil conducteur de cette campagne de lutte, nous nous proposons d'évoquer les principes de cette méthode et de prendre en compte les questions essentielles qu'elle soulève.

Ce chapitre traitera, dans un premier temps, de deux interrogations qui se font jour lorsqu'un ravageur des cultures envahit une zone jusqu'alors indemne : quel est le statut du phytophage dans sa région d'origine et quelle est la situation nouvelle qui s'est développée à la suite de son introduction. Dans un second temps, et puisque c'est l'option lutte biologique par auxiliaires entomophages qui fut choisie, les différentes étapes de la campagne seront décrites pas à pas : recherche des auxiliaires, leur acclimatation, l'évaluation de leur action régulatrice, etc. L'utilisation d'un exemple concret permettra une réflexion critique sur les principes fondamentaux de cette méthode de lutte et leur mise en pratique.

1. Invasions biologiques et ravageurs des cultures

L'invasion d'une nouvelle aire géographique par des insectes ravageurs en provenance d'autres contrées est un phénomène spectaculaire et lourd de conséquences économiques. Le recours à la lutte biologique par introduction d'entomophages exotiques est devenu systématique depuis le succès remporté à la fin du XIX^{e} siècle contre la cochenille australienne (*Icerya purchasi*). De Bach et Rosen (1991) en donnent de nombreux exemples. Ces auteurs établissent également une distinction entre pratiques anciennes et modernes, ces dernières étant caractérisées par l'accélération des échanges qui favorisent les introductions accidentelles mais aussi par la plus grande rapidité de mise en œuvre des campagnes de lutte biologique. Le cas de la cochenille du manioc en est une bonne illustration.

1.1. Un cas d'introduction accidentelle

La cochenille du manioc (*Phenacoccus manihoti*) a été observée pour la première fois, en 1973, simultanément au Congo et au Zaïre où elle fut alors signalée comme un nouveau ravageur du manioc. Elle s'est ensuite propagée à raison de 300 km par an. Après l'Afrique centrale, elle a été retrouvée en Afrique de l'Ouest : Nigeria et Bénin en 1979, Sénégal et Gambie en 1976 ; puis en Afrique de l'Est : Zambie en 1983, Rwanda en 1984, Malawi en 1985, Mozambique en 1986, Tanzanie et Burundi en 1987. À cette époque (1987), elle avait déjà envahi la plus grande partie de la zone de culture du manioc en Afrique (Hennessey *et al.*, 1990).

Ces observations correspondent à la fois au déplacement effectif du ravageur, mais aussi aux opportunités de son identification au champ par les services nationaux de Protection des végétaux (SNPV). Ainsi, la cochenille est-elle signalée en 1984 au Rwanda, mais seulement en 1987 au Burundi. Il faut remarquer que le ravageur fut observé très tôt au Sénégal et en Gambie (dès 1976), ce qui a permis d'avancer l'hypothèse d'introductions multiples favorisées par des programmes d'amélioration variétale, avec des importations de matériel végétal en provenance

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

du Nouveau Monde d'où le manioc est originaire. Si cela s'avérait exact, nous disposerions d'une nouvelle illustration de l'importance des précautions qui doivent accompagner toute importation de matériel végétal.

1.2. Invasions biologiques et diversité génétique

Si on estime que l'introduction accidentelle de la cochenille du manioc est une conséquence malencontreuse de campagnes d'amélioration variétale, ces insectes sont vraisemblablement arrivés fixés à des boutures et en faibles quantités. C'est dire que l'invasion de la totalité de la zone intertropicale africaine serait le fait d'un petit nombre d'individus et que théoriquement, la variabilité génétique au sein de l'actuelle population devrait être faible. Cette hypothèse est renforcée par le fait que la cochenille a une reproduction parthénogénétique, caractère qui n'assure pas la diversification induite par la reproduction sexuée. Pour s'implanter, l'insecte a dû s'adapter à des situations écologiquement très différentes, du Zaïre au Sénégal et aux pays montagneux de l'Afrique de l'Est. Les conditions liées aux régimes des pluies, aux températures longitudinales et altitudinales et aux faibles hygrométries des régions sahéliennes ont certainement modulé les traits biologiques du développement de la cochenille. Il aurait été intéressant d'évaluer la variabilité au sein de la population établie en afrique, soit par l'examen des traits biologiques et écologiques du ravageur soit par une analyse de la diversité génétique. Une telle démarche s'avère indispensable car elle est à même d'expliquer la diversité des situations que la campagne de lutte biologique a révélée.

1.3. Les questions liées à l'identification du ravageur introduit

Cette étape est fondamentale comme l'illustrent les erreurs qui ont été commises dans le cas présent. Le projet s'est d'abord construit sur l'idée qu'une cochenille de la famille des *Pseudococcidae*, se développant sur le manioc, ne pouvait être qu'une des espèces déjà répertoriées, et qu'il suffirait d'utiliser les entomophages des cochenilles déjà connues. Les parasitoïdes de trois cochenilles du genre *Phenacoccus* : *P. gossypii, P. madeirensis et P. surinamensis*, ont donc été utilisés à fin d'acclimatation (Bennett et Yaseen, 1980, rapports non publiés). Mais les parasitoïdes élevés à la station de Trinidad, puis transportés vers l'Afrique pour acclimatation, n'ont pas reconnu leur hôte africain et ne se sont pas établis.

L'évidence d'une espèce néotropicale nouvelle s'est alors imposée. Elle sera effectivement décrite sous le nom de *Phenacoccus manihoti* (Matile-Ferrero, 1977). Des explorations ont donc été conduites par le *Commonwealth Institute of Biological Control* (CIBC) dans les Caraïbes, les Guyanes et le Nord-Est du Brésil. Elles ont abouti à la découverte d'une cochenille en tous points similaire à l'espèce africaine (morphologie, symptômes). Pourtant, les tentatives d'usage des parasitoïdes de cette cochenille se sont à nouveau révélées infructueuses. Suite à des observations morphologiques et comportementales plus attentives, il est apparu que l'espèce ainsi identifiée n'était pas la cochenille du manioc présente en Afrique,

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

mais une forme morphologiquement très proche (décrite ultérieurement sous le nom de *Phenacoccus herreni* (Cox et Williams, 1981)).

De nouvelles expéditions, conduites par l'*International Institute for Tropical Agriculture* (IITA), se sont alors orientées vers les régions de diversification du manioc (sud-ouest des États-Unis), centre-ouest du Mexique, nord-est du Brésil, Pérou et Paraguay) et l'espèce invasive africaine fut finalement découverte en 1980 au Paraguay (Herren et Lawson, 1983). Ainsi, les recherches intensives d'auxiliaires inféodés à cette cochenille dans son milieu naturel ne débutèrent que quelques dix années après la découverte du ravageur en Afrique.

2. *Le ravageur dans sa région d'origine*

La lutte biologique par introduction d'entomophages exotiques se fonde sur le postulat que la régulation dans le milieu originel est le fait du cortège des entomophages et que la reconstitution de tout ou partie de ce dernier dans les habitats accidentellement envahis par le ravageur est susceptible d'apporter la solution agronomique attendue. L'exemple donné ici n'échappe pas à la règle car peu d'attention a été portée au ravageur dans ses habitats d'origine.

2.1. Les mécanismes de régulation naturelle

Le fait que la cochenille ait été difficile à localiser en Amérique du Sud et qu'elle se soit de plus révélée être une espèce nouvelle, traduit bien l'existence de puissants mécanismes de régulation dans ses habitats d'origine. Cependant, en dépit de quelques études préalables sur le terrain (Lörh et Varela, 1987), il est impossible d'attribuer un rôle majeur aux antagonistes présents et encore moins à l'un d'entre eux. On peut, au contraire, penser que la régulation biologique y est le fait d'une grande diversité de facteurs – qui agissent de façon différentielle selon le temps et le lieu – et pas uniquement de l'action des entomophages. Malgré tout, le parti a été pris de ne travailler qu'à la seule acclimatation d'entomophages et de mettre en place une lutte biologique de type classique. Cette option a conduit à l'utilisation d'un très petit nombre d'auxiliaires et elle a significativement réduit la diversité des mécanismes de régulation biocénotique que l'on trouve dans les pays d'origine. Elle s'est en définitive fondée sur l'usage d'un seul entomophage, supposé « efficace » sur tout le continent africain.

2.2. Les entomophages

En 1987, après cinq années de recherche et d'observations sur les entomophages de la cochenille au Paraguay, en Bolivie et au Brésil (Löhr *et al.*, 1990), quinze espèces ont été répertoriées dans ces trois pays, dont cinq parasitoïdes et dix prédateurs.

Ce premier bilan montre la grande diversité des entomophages qui sont associés à la cochenille dans son milieu naturel et qui participent à la régulation des popu-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

lations du phytophage. Il illustre également la complexité des mécanismes en jeux, sachant que chaque espèce a sa propre niche écologique.

Un travail d'investigation sur place a, en outre, permis de compléter l'inventaire par des données sur l'abondance et la régularité de la présence de ces entomophages tout au long d'une année et demie. Plusieurs espèces ont été étudiées et certaines d'entre elles se sont révélées de bonnes candidates à l'acclimatation en Afrique : un parasitoïde *Encyrtidae* (*Epidinocarsis lopezi*), deux prédateurs *Coccinellidae* (*Hyperaspis notata*, *Diomus sp.*) et un prédateur *Syrphidae* du genre *Ocyptamus*.

L'analyse des résultats publiés dans ce domaine appelle quelques observations qui relèvent de questions de base en lutte biologique :

– beaucoup de ces espèces (neuf sur quinze) ne sont connues que par leur nom de genre, ce qui traduit le peu d'intérêt porté au statut taxonomique de chacune d'elles avec, comme nous l'avons évoqué ci-dessus à propos de la cochenille, tous les inconvénients engendrés ;

– celles qui ont été sélectionnées pour acclimatation sont les plus abondantes et les plus fréquentes. Si une logique immédiate suggère effectivement d'opérer ainsi, il s'avère difficile de déterminer, sans aucune étude du fonctionnement de la biocénose, quelles sont les espèces clés de la régulation des populations ;

– l'investissement en « recherche écologique » a été très faible, malgré l'importance qui s'attache à la connaissance des mécanismes de régulation dans la région d'origine de la cochenille. Pour la seule relation phytophage-entomophage, il aurait été intéressant d'étudier comment les différents auxiliaires interviennent simultanément ou de façon séquentielle, au cours des différentes phases du cycle biologique de la cochenille.

2.3. Exportation et quarantaine

Les entomophages qui se développent aux dépens du ravageur phytophage peuvent être à leur tour exploités par des entomophages secondaires (hyperparasitoïdes). Six espèces d'Hyménoptères hyperparasitoïdes appartenant aux familles des *Aphelinidae*, *Encyrtidae* et *Signiphoridae*, ont été répertoriées. Ces espèces peuvent réduire notablement l'action régulatrice des parasitoïde primaires et il faut absolument éviter de les introduire accidentellement avec les auxiliaires. Une mise en quarantaine doit être impérativement pratiquée. Dans le cas présent, toutes les espèces expédiées en Afrique pour acclimatation sont passées par une phase de quarantaine dans les laboratoires du CIBC au Royaume-Uni, avant de parvenir dans les laboratoires de l'IITA au Nigeria et au Bénin.

3. *Les conditions environnementales dans la région de l'invasion*

Lorsqu'une plante cultivée est attaquée par un phytophage qui provoque des dégâts incompatibles avec l'attente de production, il ne suffit pas de la connaître sous le

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

seul angle de l'agronomie du rendement, mais il faut avoir des informations sur sa physiologie et les modalités de ses réponses aux différents stress environnementaux. La biologie et l'écologie des populations du ravageur, et les relations qu'il entretient avec la plante, doivent également être étudiées. Il en est de même pour les entomophages.

3.1. La plante

L'introduction du manioc en Afrique remonte au XVI[e] siècle, et des campagnes d'enrichissement du pool génique à partir des variétés sud-américaines ont contribué à la diversification de la plante dans tous les habitats de l'Afrique intertropicale. Même si elle n'est pas aussi importante que dans le Nouveau Monde, une variabilité de la plante existe aussi en Afrique à laquelle il faut ajouter la diversité de l'expression phénotypique. Elle est illustrée par l'utilisation de plusieurs variétés et cultivars dans les plantations africaines .

Au regard du phytophage et de son adaptation, cette diversité est rendue plus complexe par les pratiques culturales qui associent, quasi-systématiquement, plusieurs variétés dans un même champ, selon des modalités qui changent d'une région à une autre. On ne se trouve donc pas en présence d'un modèle simple associant une seule variété de manioc à des colonies de cochenilles homogènes, mais en face d'une mosaïque de situations diverses, dominées par la variabilité de l'ensemble plante-phytophage-environnement.

Au moment où l'intérêt se portait sur la cochenille du manioc en Afrique, la connaissance de la plante s'est avérée insuffisante. Ce n'est, en effet, qu'au début des années 80 (Silvestre et Arrodeau, 1983 ; Cock, 1985) qu'ont paru deux monographies sur le manioc, probablement en chantier de longue date. Le point des connaissances sur la plante, comme espèce botanique et végétal cultivé, y était présenté, mais rien n'était connu de la physiologie végétale proprement dite, en particulier le métabolisme de la croissance des différents organes végétaux sous l'influence de facteurs écologiques comme le climat. Une telle connaissance est apparue indispensable lorsque le suivi de la dynamique des populations de la cochenille a révélé l'importance du facteur climatique et tout particulièrement de l'alternance saison des pluies-saison sèche.

Pour ces raisons, un programme de recherche fut développé en ce sens, avec collaboration entre une université californienne (Berkeley, États-Unis) et un institut de technologie en Suisse (SFIT). Il a conduit à la conception d'un modèle de simulation qui décrit la gamme des réponses de la plante « manioc » aux variations des facteurs de l'environnement dans différentes zones écologiques et en fonction des variétés cultivées (Schulthess, 1987).

De manière générale, un « modèle plante » de cette nature est un puissant outil pour la lutte biologique :

– dans un premier temps, il permet de quantifier l'impact du ravageur sur le rendement de la plante cultivée. Aucune étude approfondie n'avait été conduite sur l'appréciation des dégâts dus à la cochenille avant 1991 (Schulthess *et al.*, 1991).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Seule une expérimentation conduite au Zaïre dès l'année 1977, avait montré que, dans le cas de plantations précoces et tardives, les dégâts pouvaient être estimés entre 30 et 100 % de la récolte en tubercules (Nwanze, 1982) ;

– dans un second temps, il permet d'évaluer de façon indiscutable, l'influence des mesures mises en œuvre pour réguler les populations du ravageur, tout particulièrement l'incidence des auxiliaires de la lutte biologique. Le recueil de ces informations n'a pu être possible que dans les pays où une recherche de terrain a précédé l'acclimatation d'entomophages et s'est développée en continu sur une longue période (Congo), et là où le modèle de simulation a pu être mis en pratique (Nigeria et Bénin). Dans d'autres pays, n'ont pu être conduits que des travaux ponctuels sur l'influence de la variété et des pratiques culturales, les taux de contamination, l'âge et la qualité des feuilles, l'effet du stress hydrique et les variations saisonnières de la composition de la sève.

3.2. Le ravageur introduit

Les principaux traits biologiques, écologiques et comportementaux de l'insecte phytophage invasif ont été très rapidement étudiés. Les toutes premières données préliminaires obtenues au Zaïre figurent dans des rapports datés de 1977 : typologie des symptômes permettant de définir une intensité de l'attaque, et de la quantifier dans le temps et dans l'espace ; incidence sur le rendement ; sensibilité variétale ; cycle biologique ; dispersion, etc.

Pour la lutte biologique par entomophages, la description des symptômes est précieuse car elle autorise à rechercher, parmi les auxiliaires potentiels, aussi bien les espèces spécifiquement inféodées à l'hôte, que des espèces spécialisées dans la recherche d'hôtes différents mais produisant les mêmes symptômes.

La colonisation par le ravageur est le fait des premiers stades mobiles qui sont transportés par le vent comme « particules infestantes » et qui assurent la dissémination de l'espèce sur de courtes distances. Sur les longues distances, il faut incriminer l'homme et ses activités agricoles. Cette information est importante car elle est à mettre en parallèle avec les capacités de déplacement des entomophages utilisés.

La connaissance des principales caractéristiques du développement du ravageur est essentielle, non pas tant pour les traits majeurs du cycle biologique (les entomophages exotiques « connaissent » déjà le ravageur), mais pour déterminer dans quelle mesure les facteurs environnementaux, propres aux zones nouvellement colonisées, influent sur ces caractéristiques. De nombreuses études y ont été consacrées dès le début des années 80 : influence de la température et de l'hygrométrie, du stress hydrique, de l'âge des feuilles, de la variété de la plante, des pratiques culturales, etc. Elles ont permis d'établir des « tables de vie » les plus complètes possible et de définir, dans les différentes situations, un « taux intrinsèque d'accroissement des populations », valeur qui peut être utilisée dans le modèle de simulation que nous avons évoqué plus haut (Iheagwam, 1981 ; Lema et Herren, 1985 ; Le Rü et Papierok, 1987). Cette information est indispensable à une comparaison avec le potentiel biotique des entomophages candidats auxiliaires et à une compréhension

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

des mécanismes qui se mettront en place une fois l'acclimatation des entomophages exotiques réalisée.

Les études correspondantes sont difficiles à mettre en œuvre car elles supposent l'existence de laboratoires *in situ*, représentatifs des zones écologiques concernées, ainsi que la présence d'équipes permanentes pour y conduire des observations, en continu, utilisant des méthodes rigoureuses et standardisées. Mais l'utilisation de telles méthodes permet de quantifier, de façon objective et sur la durée, les caractéristiques des populations du ravageur et de mettre en évidence les facteurs susceptibles de les influencer. Des études de cette nature ont été conduites au Congo et au Nigeria dans le cadre des programmes de l'IITA (Schulthess *et al.*, 1987).

Dans le cas de la cochenille du manioc, le facteur déterminant semble la succession d'une saison sèche – dont l'intensité favorise le développement du ravageur – et d'une saison des pluies, dont la mise en place est le plus souvent synonyme de « disparition » des colonies du ravageur. Malgré des travaux sur un éventuel mécanisme d'antibiose (variations de la composition de la sève en substances secondaires) (Calatayud *et al.*, 1994), une étude complète de la physiologie du végétal en situation de stress hydrique et de son implication sur la physiologie ou le comportement de la cochenille reste à faire.

D'autres facteurs furent étudiés en utilisant cette méthode : influence de l'action mécanique des pluies (Le Rü et Iziquel, 1990) ; intervention du facteur « capacité limite » lié à la sur-exploitation du végétal (Fabres, 1989) ; influence de la température associée à la saison sèche et en relation avec le seuil thermique de développement du phytophage (Fabres, 1982) ; incidence de la composition du champ en variétés de manioc, etc.

Un dernier aspect doit être mentionné ici car il est spécifique à la biologie des populations sur une vaste aire continentale : le suivi des populations de la cochenille du manioc, dans une zone géographique restreinte, apporte une information essentielle sur les mécanismes écologiques en présence. Cependant, les recherches qui ont pu être conduites de façon approfondie au Bénin, Congo, et Nigeria, sont trop localisées pour prétendre à la généralisation.

3.3. Les entomophages indigènes

Au cours des années qui suivent l'introduction d'un phytophage, une communauté d'entomophages se structure autour de l'espèce nouvellement introduite. Dans le cas de *P. manihoti*, un inventaire établi au Congo en 1979, mentionne 11 genres de prédateurs et de parasitoïdes primaires et secondaires (hyperparasitoïdes) (Fabres et Matile Ferrero, 1980). De nombreux inventaires furent conduits ultérieurement et dans d'autres pays (Gabon, Nigeria) (Boussienguet, 1986 ; Neuenschwander *et al.*, 1987 ; Biassangama *et al.*, 1989) ; et il apparaît que ce sont les prédateurs (sans doute plus opportunistes) qui sont les plus facilement observables.

Ces insectes étaient déjà présents et se développaient au détriment d'autres insectes indigènes. Dans le cadre de la lutte biologique, ce point est à prendre en

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

considération car ces entomophages locaux sont capables de se maintenir sur place en utilisant d'autres proies ou d'autres hôtes. Ils ne sont donc pas totalement asservis à la présence exclusive d'une seule espèce en quantité suffisante. En cas de raréfaction de la proie ou de l'hôte cible, elles peuvent se développer aux dépens d'autres insectes pour maintenir une population minimale, puis se manifester de nouveau dès l'amorce de la pullulation. Leur pouvoir de régulation, aussi minime soit-il, n'est donc pas à négliger, car il peut constituer un utile appoint en début de chaque phase de pullulation du ravageur (gradation).

La théorie de la sélection r et K (MacArthur et Wilson, 1967) doit être mentionnée à ce propos. Elle intéresse la lutte biologique puisqu'elle concerne les mécanismes invasifs, qu'ils soient le fait de phytophages ou d'entomophages. Les espèces de type r (*rate of increase*) ont un taux intrinsèque d'accroissement élevé et sont capables d'exploiter rapidement les ressources disponibles dans un environnement peu contraignant. Les espèces de type K (*carrying capacity*) se révèlent lorsqu'il y a compétition pour la ressource. Elles ont un taux d'accroissement plus faible et utilisent la ressource de façon plus efficace. Pour la lutte biologique, ces propriétés paraissent complémentaires et l'on imagine fort bien la mise en place d'une action entomophage, avec intervention d'espèces K en début de gradation (espèces indigènes) relayées par des espèces de type r (espèces introduites), au moment de la pleine gradation du ravageur.

Des travaux de laboratoire furent conduits pour préciser quelques traits de vie des entomophages indigènes les plus abondantes (surtout *Coccinellidae* du genre *Hyperaspis* et *Exochomus*) (Umeh, 1982 ; Kiyindou *et al.*, 1990). Les travaux portèrent sur les traits biologiques classiques ; tout particulièrement les exigences thermiques qui peuvent avoir des répercussions négatives sur la dynamique des populations et la mise en place d'une réponse fonctionnelle (Fabres *et al.*, 1989). Les travaux de terrain sont peu nombreux et fragmentaires, sauf ceux conduits dans une approche d'écologie globale sur le long terme (Reyd et Le Rü, 1992).

L'établissement de tables de la mortalité due aux ennemis naturels, a permis de déterminer la nature et de quantifier l'influence des facteurs de régulation. Dans le cas présent, il s'agit d'un champignon entomopathogène (*Neozygites fumosa*) (Le Rü et Iziquel, 1990), d'un parasitoïde indigène du genre et de plusieurs prédateurs *Coccinellidae* (Kiyindou *et al.*, 1990). Des travaux ont également pris en compte l'incidence des fourmis associées aux colonies de la cochenille (Le Rü et Reyd, 1990 ; Cudjoe *et al.*, 1993).

Les prédateurs *Coccinellidae* sont les plus présents et des travaux leur ont été consacrés. Cependant, les données ainsi obtenues n'ont pas été exploitées, ce qui aurait pu être fait par leur intégration dans un modèle proie-prédateur lui-même intégré au modèle plante-ravageur évoqué plus haut. En effet, l'idée qui a prévalu est que les espèces indigènes sont incapables de réguler les populations du phytophage et que seuls des entomophages exotiques performants peuvent y parvenir. Cet *a priori* peut se révéler dommageable pour deux raisons : il élimine l'option d'un complexe entomophage associant prédateurs et parasitoïdes locaux ou exotiques susceptibles d'intervenir de façon complémentaire ; il interdit la recherche

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

de solutions alternatives au cas où les entomophages exotiques se seraient révélés partiellement ou totalement inopérants.

Du fait d'une spécificité plus grande que celle des prédateurs, les parasitoïdes locaux n'ont pas investi les colonies de la cochenille de façon aussi spectaculaire. Mais les premiers relevés de l'entomofaune associée à *P. manihoti*, avant l'introduction de parasitoïdes exotiques, font état de la présence de parasitoïdes primaires de la famille des *Encyrtidae* et l'un d'entre eux a été décrit au Gabon (Boussienguet, 1988). Des études au laboratoire et sur le terrain au Congo d'une espèce locale voisine ont montré que celle-ci développait, avant sa disparition des champs de manioc, des taux de parasitisme significatifs.

4. *L'acclimatation d'entomophages exotiques*

Les campagnes de lutte biologique par entomophages furent, pour la plupart, organisées autour de l'acclimatation, empiriquement réussie, d'une ou de quelques espèces de parasitoïdes ou de prédateurs. En effet, dans le contexte économique et psychologique d'une opération de lutte contre un ravageur qui provoque des dégâts considérables, l'option première est de tenter rapidement l'acclimatation d'auxiliaires sans attendre les résultats des études de biologie et d'écologie de base évoquées plus haut. C'est ce qui a fait le succès spectaculaire de certaines opérations mais c'est aussi ce qui a conduit à bien des échecs.

Parmi les espèces mises à l'épreuve du terrain, seules quelques unes s'acclimatèrent devenant éventuellement capables de jouer un rôle régulateur. Il s'agit des coccinelles du genre *Hyperaspis* et *Diomus*, toujours présentes dans les champs de manioc du Burundi, du Congo, du Malawi et du Zaïre (Kiyindou et Fabres, 1987 ; Stäubli Dreyer *et al.*, 1997) et du parasitoïde *Epidinocarsis lopezi* qui s'est facilement installé et a été retrouvé en abondance dans les champs expérimentaux, d'une saison à l'autre. Un autre parasitoïde candidat, *Apoanagyrus diversicornis*, ne s'est pas acclimaté. C'est donc autour d'*E. lopezi* que s'est organisée la campagne d'introduction d'auxiliaires à travers toute l'Afrique sub-saharienne. C'est de cette espèce dont nous traiterons par la suite.

4.1. L'auxiliaire introduit

Comme nous l'avons souligné, les recherches de base, fondatrices des principes de la lutte biologique par entomophages, n'ont pas été particulièrement développées sur la plante, le ravageur, les entomophages locaux et leurs inter-relations. Par contre, il en va tout autrement de l'auxiliaire acclimaté dont la biologie et l'écologie de sa relation à l'hôte ont fait l'objet de nombreux travaux, tant au plan fondamental qu'appliqué (Herren et Neuenschwander, 1991).

E. lopezi fut introduit dans 26 pays sub-sahariens représentatifs d'une grande variété de situations écologiques. Il s'est immédiatement acclimaté et naturellement disséminé à partir des points de lâcher. C'est un endoparasitoïde (dévelop-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

pement préimaginal à l'intérieur de la cochenille hôte) avec des traits originaux du comportement et du cycle biologique que nous décrivons ci-dessous.

4.1.1. Les traits du comportement

Les relations que les parasitoïdes adultes entretiennent avec leur hôte, afin d'assurer leur reproduction et leur alimentation, sont à prendre en considération pour bien comprendre les modalités de la relation hôte-parasite et aménager les pratiques de la lutte biologique en conséquence :

– accouplement : la femelle vierge s'accouple immédiatement après son émergence, la rencontre avec les mâles se faisant au hasard sans qu'il y ait compétition entre ces derniers. Ces informations sont importantes lorsque la lutte biologique implique la production en masse du parasitoïde. Les résultats de ces études conditionnent en effet la proportion des deux sexes à introduire dans les cages d'élevage ;

– recherche de l'hôte : les colonies de la cochenille présentent une forte tendance à l'agrégation. Des mécanismes précis de repérage de l'hôte interviennent, qui sont partie intégrante de la spécificité. L'orientation se fait, dans un premier temps, vers les plants de manioc attaqués, car ils émettent des substances allélochimiques spécifiques. Dans un second temps, la femelle du parasitoïde semble trouver son hôte à la faveur d'une recherche au hasard (Nadel et Van Alphen, 1987). Ces informations sont importantes pour la mise au point des techniques de lâcher ;

– choix du stade de l'hôte : pour la ponte, les femelles préfèrent le troisième stade de développement de la cochenille, d'où sortiront en majorité des femelles dont la fécondité et la longévité seront fonction de la taille de l'hôte. Les stades plus jeunes et plus petits sont choisis pour le développement des mâles (Kraaijeveld et Van Alphen, 1986). L'observation est intéressante à plusieurs égards : elle permet d'assurer au mieux les élevages de masse avec production de femelles à haute fécondité et de mâles en proportions voulues ; elle permet de choisir la période la plus favorable aux lâchers de terrain en tenant compte de la structure des populations du ravageur ;

– comportement de ponte et d'alimentation : nous avons vu qu'un seul adulte de *E. lopezi* émergeait de chaque cochenille parasitée. Cela ne signifie pas qu'un seul œuf ait été déposé dans chaque hôte. Au contraire, et particulièrement lorsque les hôtes sont rares, il y a super-parasitisme (plusieurs œufs sont pondus dans le même hôte soit par la même femelle soit par plusieurs) et compétition des larves dans le corps de la cochenille (Kraaijeveld et Van Alphen, 1986 ; Iziquel *et al.*, 1988). Bien que ce comportement relève de mécanismes adaptatifs qu'il convient de préserver, l'hypothèse est avancée qu'une espèce qui ne développerait pas de super-parasitisme serait plus « efficace » une fois sur le terrain. On peut alors imaginer qu'une modification en ce sens du comportement de l'espèce puisse être obtenue par sélection génétique.

Lorsqu'une femelle enfonce son oviscapte dans une cochenille, ce n'est pas toujours pour y déposer un œuf. Il peut s'agir d'un comportement de prise de nourriture.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Ce dernier doit être pris en considération comme un facteur de mortalité de l'hôte, à intégrer au potentiel de régulation du parasitoïde (Neuenschwander et Madojemu, 1986).

4.1.2. Les traits du cycle biologique

Il s'agit de composantes telles que : le développement embryonnaire, larvaire et nymphal ; la durée de vie des adultes et la fécondité des femelles. Ces différentes caractéristiques doivent être étudiées dans leur variabilité en présence de facteurs comme le climat, la plante, l'hôte, etc., et c'est ce qui en fait tout l'intérêt. Toute une batterie expérimentale doit donc être mise en œuvre pour que le maximum de traits biologiques et de facteurs environnementaux soit pris en compte. Dans la pratique, seul un petit nombre de paramètres est testé (temps de développement des différents stades, fécondité et longévité des femelles) selon différentes conditions thermo-hygrométriques variables. Ceci permet de définir des paramètres tels que le « seuil thermique de développement », les températures létales ou le « taux intrinsèque d'accroissement d'une population ». Ces valeurs peuvent alors être comparées soit à celles obtenues pour d'autres candidats auxiliaires, soit à celles du ravageur (Biassangama *et al.*, 1988 ; Umeh, 1988).

L'intérêt de cette comparaison est proportionnel au nombre et à la pertinence des paramètres qui auront été testés car, sur le terrain, plusieurs d'entre eux peuvent se révéler des éléments clés. À titre d'exemple, on a montré que le parasitoïde *Apoanagyrus diversicornis*, qui s'était révélé un parfait homologue d'*E. lopezi* pour ses traits biologiques au laboratoire, ne s'était pas acclimaté, probablement du fait de différences dans les traits comportementaux qui le rendaient moins compétitif sur le terrain.

De nombreux travaux de laboratoire furent conduits pour décrire dans le détail la biologie du parasitoïde ainsi que sa relation à l'hôte et à la plante (tritrophie). Les données obtenues sont classiques. Mais il faut cependant relever un fait original qui soulève des questions théoriques et pratiques. Un certain pourcentage de cochenilles développe, vis-à-vis de la larve du parasitoïde, un mécanisme immunitaire d'encapsulation (Nenon *et al.*, 1988 ; Sullivan et Neuenschwander, 1988). Ce mécanisme qui pose implicitement la question de la relation entre la cochenille et son parasitoïde dans la région d'origine, peut avoir une incidence suffisante (jusqu'à 13 % des cochenilles parasitées) pour être pris en considération pour la quantification de l'action régulatrice de l'auxiliaire.

4.1.3. Intégration de l'ensemble de ces informations

La connaissance des traits biologiques et comportementaux de l'entomophage permet de construire des modèles de simulation de la relation hôte-parasite et de les coupler au modèle de simulation plante-ravageur (Neuenschwander *et al.*, 1986). Dans le cas présent, les résultats de la simulation ont permis une première description de cette relation et de quantifier l'efficacité du parasitoïde (Gutierrez *et al.*,

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1987). Un modèle de cette nature doit être un outil de travail destiné à la compréhension des mécanismes en cause et à l'infléchissement des orientations de la lutte, compte tenu des résultats obtenus sur le terrain. Vu l'extrême diversité des situations écologiques dans toute l'aire d'invasion de la cochenille, et le caractère très contrasté de l'efficacité du parasitoïde, il trouve alors toute sa pertinence.

4.2. Acclimatation et évaluation de l'impact

Par acclimatation, on entend que l'auxiliaire s'est adapté aux conditions de son nouvel environnement et qu'il a survécu aux aléas saisonniers. Mais cela n'implique pas qu'il assure le contrôle des populations de l'insecte cible.

4.2.1. Les lâchers et l'adaptabilité

Les lâchers de l'auxiliaire ont eu lieu dès 1981-1982 (Herren *et al.*, 1987) avant même que des informations minimales sur sa biologie et sa relation aux ravageurs ne soient connues. Comme nous l'avons signalé, cette démarche s'accorde assez mal au principe qui veut que la lutte biologique ne soit pas totalement aléatoire mais fondée sur une connaissance minimale des auxiliaires et de leurs relations aux phytophages.

En 1990, toutes les régions de culture du manioc, du Sénégal au nord-ouest au Mozambique au sud-est, avaient été traitées par les équipes de l'IITA et l'entomophage s'y est systématiquement établi. À cette dissémination volontaire de la part des entomologistes, s'est ajoutée une colonisation spontanée par le parasitoïde lui-même, soit du fait d'un transport passif, soit grâce à son propre pouvoir de déplacement (Hennessey *et al.*, 1990).

De la même façon que l'on aurait dû s'intéresser à la variabilité génétique du ravageur introduit, il aurait été bon de le faire pour l'auxiliaire acclimaté. La distribution de *E. lopezi* dans toute la ceinture de culture du manioc n'a pu être réalisée qu'au moyen d'élevages de masse fournissant rapidement un grand nombre d'individus. Ces élevages ont été initiés en partant d'un nombre relativement réduit d'individus « souche ». Même si les récoltes en Amérique du Sud ont été faites en plusieurs temps et sur plusieurs sites, il n'en demeure pas moins que la variabilité intra-populationnelle, qui doit exister dans la région d'origine n'a pas été exportée.

En absence de toute étude de génétique des populations du parasitoïde aucune information n'est disponible sur la question. Mais on doit s'interroger sur le fait que l'auxiliaire ne semble pas également « efficace » dans toutes les régions (Le Rü *et al.*, 1991). Il est possible que dans certaines conditions écologiques africaines, une relation hôte-parasite se soit mise en place sur le mode qui existe en Amérique du Sud et qu'une excellente régulation en ait résulté (Nigeria). En revanche, une adéquation moindre du parasitoïde aux conditions environnementales pourrait expliquer la médiocrité des résultats obtenus dans d'autres régions comme le Congo (Afrique centrale humide) ou le Sénégal (Afrique sahélienne).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

4.2.2. Acclimatation et action régulatrice

Une fois introduit au sein de la biocénose parasitaire, l'auxiliaire y assure une présence permanente, quelles que soient l'abondance du ravageur et (particulièrement) sa raréfaction saisonnière. C'est ce qui constitue l'intérêt fondamental de l'acclimatation d'entomophages exotiques. Entre la population du phytophage cible et celle de l'entomophage, s'établissent des relations de dépendance qui garantissent la pérennité de l'association dans le temps. Pour les opérations de lutte biologique, c'est une condition importante mais qui n'est pas facile à satisfaire, à en juger par l'échec de l'introduction des autres auxiliaires candidats.

Ce que l'on attend d'un auxiliaire acclimaté, c'est qu'il entretienne avec la population du phytophage une relation de type « densité dépendante » dans laquelle l'influence régulatrice de l'entomophage est fonction de la densité de l'hôte. Un tel mécanisme permet la mise en place d'un équilibre dynamique entre les deux populations, en assurant à la fois la réduction de l'abondance du ravageur et la survie de l'entomophage lorsque cette abondance est réduite. De nombreux facteurs interviennent dans la mise en place de ces mécanismes délicats et, dans le cas qui nous intéresse, on ne peut que formuler l'hypothèse d'une bonne conjonction de ces facteurs dans les régions où le parasitoïde s'est bien établi.

Mais une fois l'acclimatation acquise, il faut savoir quel est l'impact de l'auxiliaire sur les mécanismes de régulation. A-t-il un rôle majeur à lui tout seul ou de complément par rapport à d'autres influences, pas nécessairement parasitaires ? La notion d'efficacité prise dans une acception dualiste du « oui » ou « non » (Neuenschwander et Herren, 1988) est donc à nuancer. On lui préférera une vision plus objective avec quantification de l'action parasitaire dans chaque situation.

Cette quantification peut se faire en utilisant plusieurs méthodes qui toutes établissent une comparaison entre l'abondance du ravageur, en présence et en absence de l'entomophage, selon des techniques dites d'exclusion. L'exclusion peut être obtenue par traitements chimiques à la condition qu'ils n'affectent que les entomophages et dans ce cas, c'est de l'ensemble du cortège des entomophages qu'il s'agit. Il en est de même lorsque l'exclusion est physique par isolement des colonies du ravageur au moyen de manchons de tulle. Lorsque le ravageur attire les fourmis (ce qui est le cas), et que ces dernières empêchent l'action des entomophages, on peut contrecarrer leur intervention. Il est également possible de travailler sur des cohortes du phytophage, structurées à la demande (différentes proportions des différents stades de développement), laissées en plein champ, et qui sont soit à l'abri des entomophages, soit exposées à leur action prédatrice ou parasitaire (Neuenschwander *et al.*, 1986).

La meilleure méthode consiste à suivre la dynamique des populations du ravageur, année après année, en utilisant une technique rigoureuse d'estimation des principaux paramètres : abondance du phytophage, structure de sa population, et surtout tables de mortalité permettant d'attribuer aux agents de régulation leurs rôles respectifs dans la réduction de l'abondance du ravageur. Dans le cas présent, des travaux de cette nature ont été réalisés au Congo et au Nigeria (Hamon et Neuenschwander, 1990 ; Le Rü *et al.*, 1991).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

L'usage des tables de mortalité permet d'identifier les facteurs de régulation et tout particulièrement ce qui est imputable aux entomophages, indigènes ou exotiques. Des mécanismes contraires comme l'hyperparasitisme et la réaction d'encapsulation sont également quantifiables. En revanche, certaines actions sont plus difficiles à évaluer comme les piqûres nutritionnelles et plus généralement le rôle des prédateurs ; dans ce cas, l'information ne peut être obtenue qu'indirectement par des expérimentations au laboratoire. Les données obtenues permettent de se prononcer sur les modalités de la relation hôte-parasite (dépendance de la densité et nature de cette dépendance) et de la quantifier en termes d'efficacité de l'auxiliaire.

Les résultats de la campagne contre la cochenille du manioc sont de ce point de vue très contrastés. Au Nigeria, après un suivi des populations sur les sept années qui ont suivi l'acclimatation, et sur deux sites différents, les chiffres bruts et les données graphiques montrent une diminution significative de l'abondance du ravageur. Dans d'autres régions, les données et leurs interprétations vont dans le sens d'une présence effective de l'entomophage – qui se traduit par des taux de parasitisme non négligeables – mais sans que celui-ci assure une quelconque régulation au moment des pullulations du ravageur. Des études approfondies dans des régions représentatives de l'ensemble de la zone de culture du manioc seraient les bienvenues pour une meilleure compréhension des mécanismes en cause.

5. *Effets non intentionnels*

La recherche en lutte biologique, respectueuse de l'environnement, doit s'intéresser aux effets non intentionnels de l'introduction d'insectes entomophages que ce soit par acclimatation d'auxiliaires exotiques, augmentation de leur efficacité ou mise en œuvre de la méthode « inondative ». Voici à titre d'exemple deux événements survenus suite à l'invasion de la cochenille et à l'introduction d'*E. lopezi*.

5.1. Les parasitoïdes secondaires

De nombreux parasitoïdes dits secondaires et tertiaires ont été recensés (Boussienguet, 1986 ; Neuenschwander *et al.*, 1987 ; Biassangama *et al.*, 1989 ; Iziquel et Le Rü, 1989), dont certains se développent aux dépens de *E. lopezi.*, Cette entomofaune a sans doute une origine complexe et ancienne car d'autres *Phenacoccus* d'origine néotropicale sont présents en Afrique. Des situations analogues peuvent être observées dans les cas d'acclimatation d'auxiliaires exotiques. Leur présence doit être prise en compte pour deux raisons : ils peuvent freiner l'action du parasitoïde acclimaté ; leur développement aux dépens d'un nouvel hôte peut retentir sur les biocénoses déjà en place et provoquer la pullulation de ravageurs jusque-là correctement régulés.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

5.2. Le déplacement des parasitoïdes locaux

Nous avons évoqué plus haut la présence de parasitoïdes autochtones se développant aux dépens de la cochenille nouvellement introduite et la rapide mise en place d'une faune d'entomophages relativement diversifiée. Il s'avère que l'acclimatation d'*E. lopezi* a été synonyme de disparition (raréfaction) des Hyménoptères locaux par le jeu de la compétition interspécifique pour un même hôte. Cet appauvrissement de la diversité serait, au plan pratique, sans importance si le parasitoïde introduit assurait pleinement la fonction qui lui est dévolue. Ce n'est pas toujours le cas et dans certaines conditions, les espèces locales ont été éliminées sans qu'*E. lopezi* se révèle efficace. Dans ces circonstances, la diversité des agents régulateurs a été réduite sans pour autant conférer à l'auxiliaire exotique un plus grand pouvoir de régulation (Fabres, 2002).

6. *Méthodes de lutte dérivées*

Ces méthodes que l'on présente habituellement comme alternatives à la lutte biologique par acclimatation peuvent être évoquées dans le cadre de l'exemple choisi.

6.1. Augmenter l'efficacité des entomophages

Lorsque les auxiliaires exotiques se sont établis mais n'assurent pas pleinement la régulation des populations du phytophage, des méthodes peuvent être mises en œuvre pour augmenter leur efficacité. Elles peuvent également être mises en application à l'avantage des entomophages locaux, pour qu'ils puissent jouer un rôle régulateur, seuls ou en complément de celui des auxiliaires exotiques. Ces pratiques s'articulent autour de la notion de conservation de la biodiversité des auxiliaires en présence et de l'aménagement des habitats (Landis *et al.*, 2000). Elles se fondent sur l'idée qu'une amélioration peut être apportée à l'efficacité du système tritrophique ce qui implique une bonne connaissance des agents de régulation et de leur écologie.

Dans le cas de la lutte biologique contre la cochenille du manioc cette méthode pourrait être appliquée au parasitoïde *E. lopezi*, là où son action n'est pas optimale. Des travaux ont été développés sur le thème des relations que cet auxiliaire entretient aussi bien avec son hôte qu'avec la plante saine ou attaquée (Nadel et Van Alphen, 1987 ; Souissi *et al.*, 1998), et ces connaissances pourraient être mises en application pour favoriser la découverte et la reconnaissance de l'hôte par le parasitoïde.

Mais elle pourrait également s'appliquer aux coccinelles indigènes. Des études conduites au Congo ont en effet montré que la cochenille du manioc se développait aussi sur une plante appelée « faux caoutchouc », un hybride de *Manihot esculenta* et de *Manihot glaziovii*. Sur cette plante, cultivée pour ses feuilles, les populations

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

du ravageur sont présentes de manière continue tout au long de l'année alors que sur *M. esculenta*, les cochenilles sont rares au cours de la saison des pluies. Sur le « faux caoutchouc », la durée du cycle biologique est allongée, la fécondité plus faible, et on observe une augmentation en taille et en poids des cochenilles. Pour ces raisons, la coccinelle *Exochomus flaviventris* s'y trouve en plus grande abondance et montre deux pics annuels de développement, contre un seul sur *M. esculenta* (Kiyindou et Fabres, 1995). En permettant aux coccinelles locales d'être présentes dès le début de la pullulation du ravageur, et avec des effectifs plus importants, le faux caoutchouc pourrait être une plante de substitution susceptible de renforcer le pouvoir régulateur des coccinelles prédatrices indigènes.

6.2. Les luttes inoculative et inondative

Il arrive que les entomophages, indigènes ou introduits, soient potentiellement capables d'assurer une bonne régulation de l'abondance du ravageur mais qu'ils aient pour principal défaut de ne pas intervenir suffisamment tôt ou de ne pas être suffisamment abondants. La possibilité s'offre alors de les produire en grand nombre et de les introduire dans le milieu, au bon moment, et en surabondance. Dans le cas présent, cette méthode de lutte concernerait surtout le parasitoïde performant mais pourrait également s'adresser à des auxiliaires ayant de bonnes potentialités mais qui ne se sont pas établis (*A. diversicornis*).

En général, de tels élevages de masse font courir plusieurs types de risques :

– modification des traits du comportement avec perte du sens de la préférence, de la réponse aux stimuli spécifiques et donc réduction de la capacité de recherche ;

– dérive génétique si la diversité de l'inoculum de départ n'est pas suffisante.

Dans les deux cas, un retour périodique aux conditions naturelles est indispensable et il est à inscrire dans les protocoles de production et d'acclimatation.

Pour l'élevage de masse d'*E. lopezi*, un prototype assez complexe a été mis au point à l'IITA avec culture hydroponique de plants de manioc (arbre à manioc), et infestation par la cochenille *P. manihoti*. Ainsi, les parasitoïdes sont-ils élevés sur la cochenille hôte d'origine, elle même sur manioc, sans qu'il soit fait usage ni de plantes ni d'hôtes de substitution, ni de milieux artificiels semi-synthétiques.

Conclusion

Le fil conducteur, que représente l'histoire de la lutte biologique contre la cochenille du manioc accidentellement introduite d'Amérique du Sud en Afrique, a permis d'évoquer rapidement les principes essentiels qui sous-tendent la lutte biologique par utilisation d'entomophages. Nous avons vu, à travers les différentes étapes de cette opération de grande envergure, combien la lutte biologique prend ses sources dans la connaissance de la biologie et de l'écologie des populations et, tout particulièrement, dans la dynamique des relations hôte-parasite et proie-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

prédateur. Mais au-delà de l'exposé des méthodes, des enseignements se font jour en filigrane :

– la cruelle dualité entre l'urgence du résultat, sous la pression socio-économique, et la nécessité d'investigations longues mais indispensables à la compréhension des mécanismes originels (dans le pays source) et de ceux que l'on tente de mettre en place ;

– la précipitation à introduire des entomophages sans les avoir étudiés ni avoir une connaissance suffisante du terrain, compte tenu de l'urgence de la situation ;

– les errances dans l'identification de l'hôte et sa localisation géographique ;

– l'exclusivité donnée à un seul parasitoïde pour la couverture de l'ensemble de la zone de culture du manioc en Afrique ;

– l'insistance à proclamer le succès généralisé des opérations alors que la situation est très nuancée.

En définitive, cette campagne internationale de lutte biologique est inscrite dans les statistiques comme un succès, et il faut s'en réjouir. Mais ce succés ressemble par certains aspects à ceux qui ont été obtenus à la fin du siècle dernier, à la faveur d'acclimatations miraculeuses comme ce fut le cas, en Californie, pour une autre cochenille (*Icerya purchasi*) et son prédateur australien (*Rodolia cardinalis*). Il convient d'en tirer à nouveau le même enseignement pour l'avenir : la lutte biologique par entomophages ne peut qu'être valorisée par des travaux approfondis d'écologie des populations, propres à orienter et infléchir la mise en œuvre des opérations proprement dites. Paradoxalement, cette campagne de lutte contre la cochenille du manioc en Afrique nous rassure sur ce point : bien que cela ait été le plus souvent *a posteriori*, de nombreux travaux, et de grande qualité, fournissent de très utiles informations sur les raisons d'un succès qui est indiscutable dans certaines régions mais d'une grande variabilité dans d'autres.

Remerciements : l'auteur remercie P. Ferron de l'INRA (Institut national de la recherche agronomique) et J.-M. Élouard de l'IRD (Institut de recherche pour le développement) qui ont bien voulu assurer une lecture critique et constructive de ce chapitre.

Références bibliographiques

Biassangama A., Fabres G., Nenon J.-P. (1988). Parasitisme au laboratoire et au champ d'*Epidinocarsis lopezi* (*Hym.* Encyrtidae) auxiliaire exotique introduit au Congo pour la régulation de l'abondance de *Phenacoccus manihoti* (*Hom. Pseudococcidae*). *Entomophaga*, **33** : 453-465.

Biassangama A., Le Rü B., Iziquel Y., Kiyindou A., Bimangou A. (1989). L'entomocénose inféodée à la cochenille du manioc *Phenacoccus manihoti* (*Homoptera : Pseudococcidae*) au Congo, cinq ans après l'introduction d'*Epidinocarsis lopezi* (*Hymenoptera : Encyrtidae*). *Ann Soc Entomol Fr (NS)*, **25** : 315-320.

Boussienguet J. (1986). Le complexe entomophage de la cochenille du manioc *Phenacoccus manihoti* (*Hom. Coccidae, Pseudococcidae*) au Gabon. I : Inventaire faunistique et relations trophiques. *Ann Soc Entomol Fr (NS)*, **22** : 35-44.

Boussienguet J. (1988). Morphologie et biologie d'*Anagyrus nyombae* n. *sp.*, parasite de *Phenacoccus*, au Gabon (Hym. encyrtidae; Hom. Pseudococcidae). *Rev fr Ent (NS)*, **10** : 277-283.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Calatayud P.A., Rahbé 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.

Cock J.H. (1985). *Cassava, new potential for a neglected crop*. Westview Press, London.

Cox J.M., Williams D.J. (1981). An account of cassava mealybugs (*Hem. Pseudococcidae*) with a description of a new species. *B Entomol Res*, **71** : 247-258.

Cudjoe A.R., Neuenschwander P., Copland M.J.W. (1993). Interference by ants in biological control of the cassava mealybug *Phenacoccus manihoti* (*Homopetra : Pseudococcidae*) in Ghana. *B Entomol Res*, **83** : 15-22.

DeBach P., Rosen D. (1991). *Biological control by natural enemies*. Cambridge University Press, Cambridge.

Fabres G. (1982). Bioécologie de la cochenille du manioc *Phenacoccus manihoti* (*Hom. Pseudococcidaeen*). République Populaire du Congo. II : Variations d'abondance et facteurs de régulation. *Agron trop*, **36** : 369-377.

Fabres G. (1989). Influence de la « capacité limite » et régulation de l'abondance d'un phytophage : cas de la cochenille du manioc. *Bull Soc Fr Zool*, **114 :** 35-42.

Fabres G. (2002). Déplacement compétitif ou complémentarité d'action entre les parasitoïdes exotiques et indigènes. Second International Conference on alternative control methods against plant pest organisms, Lille, France, 545-552.

Fabres G., Matile-Ferrero D. (1980). Les entomophages inféodés à la cochenille du manioc *Phenacoccus manihoti* (*Hom. Pseudococcidae*) en République Populaire du Congo. I : les composantes de l'entomocoenose et leurs inter-relations. *Ann Soc Entomol Fr (NS)*, **16** : 509-515.

Fabres G., Nenon J.-P., Kiyindou A., Biassangama A. (1989). Réflexions sur l'acclimatation d'entomophages exotiques pour la régulation des populations de la Cochenille du Manioc au Congo. *Bull Soc Fr Zool*, **114** : 43-48.

Ferron P. (1999). La lutte biologique : définition, concept et stratégie. *In* Fraval A., Silvy C. *La lutte biologique (II). Les Dossiers de l'Environnement de l'INRA* n° 19, Paris, 7-17.

Gutierrez A.P., Wermelinger B., Schulthess F., Baumgärtner J.U., Yaninek J.S., Herren H.R., Neuenschwander P., Löhr B., Hammond W.N.O., Ellis C.K. (1987). An overview of a system model of cassava and cassava pests in Africa. *Insect Sci Appl*, 8 : 919-924.

Hammond W.N.O., Neuenschwander P. (1990). Sustained biological control of the cassava mealybug *Phenacoccus manihoti* (*Hom. : Pseudococcidae*) by *Epidinocarsis lopezi* (*Hym.: Encyrtidae*) in Nigeria. *Entomophaga*, **35** : 515-526.

Hennessey R.D., Neuenschwander P., Muaka T. (1990). Spread and current distribution of the cassava mealybug, *Phenacoccus manihoti* (*Homoptera: Pseudococcidae*), in Zaire. *Trop Pest Manag*, **36** : 103-107.

Herren H.R., Lawson T.L. (1983). The Africa-wide programme for biological control of the cassava mealybug and green spider mites: the importance of thorough foreing exploration for benefical insects and mites. 3rd Brazilian Cassava Congress, november 1983, Brasilia.

Herren H.R., Neuenschwander P., Hennessey R.D., Hammond W.N.O. (1987). Introduction and Dispersal of *Epidinocarsis lopezi* (Hym., Encyrtidae), an Exotic Parasitoid of Cassava Mealybug, *Phenacoccus manihoti* (*Hom., Pseudococcidae*), in Africa. *Agric Ecosyst Environ*, **19** : 131-144.

Herren H.R., Neuenschwander P. (1991). Biological control of cassava pests in Africa. *Annu Rev Entomol*, **36** : 257-283.

Iheagwam E.U. (1981). The influence of temperature on increase rates of the cassava mealybug *Pheancoccus manihoti* Mat.-Ferr. (*Homoptera, Pseudococcidae*). *Rev Zoo Afr*, **95** : 959-967.

Iziquel Y., Le Ralec A., Nenon J.-P. (1988). *Epidinocarsis lopezi* (Hyménoptère, *Encyrtidae*) : ovipositeur, types de piqûres et écologie du parasitisme sur *Phenacoccus manihoti* (Homoptère, *Pseudococcidae*). *Naturaliste Can*, **115** : 355-366.

Iziquel Y., Le Rü B. (1989). Influence de l'hyperparasitisme sur les populations d'un Hyménoptère *Encyrtidae*, *Epidinocarsis lopezi*, parasitoïde exotique de la cochenille du manioc *Phenacoccus manihoti* introduit au Congo. *Entomol Exp Appl*, **52** : 239-247.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Kiyindou A., Fabres G. (1987). Étude de la capacité d'accroissement chez *Hyperaspis raynevali (Col. : coccinellidae)* prédateur introduit au Congo pour la régulation des populations de *Phenacoccus manihoti (Hom. : Pseudococcidae). Entomophaga*, **32** : 181-189.

Kiyindou A., Le Rü B., Fabres G. (1990). Influence de la nature et de l'abondance des proies sur l'augmentation des effectifs de deux coccinelles prédatrices de la cochenille du manioc au Congo. *Entomophaga*, **35** : 611-620.

Kiyindou A., Fabres G. (1995). Influence d'un manioc hybride sur la dynamique des populations d'un couple proie-prédateur : le cas de la cochenille du manioc *Phenacoccus manihoti* et de la coccinelle indigène *Exochomus flaviventris* au Congo, Proceedings of a CTA/IAR/IIBC seminar, octobre 1995, Addis Ababa, Ethiopia, 284-297.

Kraaijeveld A.R., Van Alphen J.J.M. (1986). Host stage selection and sex allocation by *Epidinocarsis lopezi (Hymenoptera; Encyrtidae)*, a parasitoid of the cassava mealybug, *Phenacoccus manihoti (Homoptera; Pseudococcidae). Med Fac Landbouww Rijksuniv Gent*, **51** : 1067-1078.

Landis D.A., Wratten S.D., Gurr G.M. (2000). Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. *Annu Rev Entomol*, **45** : 175-201.

Lema K.M., Heren H.R. (1985). Release and establishment in Nigeria of Epidinocarsis lopezi, a parasitoïd of the cassava mealybug, *Phenacoccus manihoti. Entomol Exp Appl*, **38** : 171-175.

Le Rü B., Papierok B. (1987). Taux intrinsèque d'accroissement naturel de la cochenille du manioc *P. manihoti (Hom. Pseudococcidae)*. Intérêt d'une méthode simplifiée d'estimation du rm. *Oecol Appl*, **8** : 3-14.

Le Rü B., Iziquel Y. (1990). Étude expérimentale, à l'aide d'un simulateur de pluies, de l'effet mécanique de la chute des pluies sur les populations de la cochenille du manioc, *Phenacoccus manihoti. Acta Oecologica*, **11** : 741-754.

Le Rü B., Reyd G. (1990). Influence de l'exclusion des fourmis sur les populations de la cochenille du manioc *Phenacoccus manihoti* et de ses ennemis naturels au Congo. *Agron Trop*, **45** : 275-282.

Le Rü B., Iziquel Y., Biassangama A., Kiyindou A. (1991). Variations d'abondance et facteurs de régulation de la cochenille du manioc *Phenacoccus manihoti (Hom. : Pseudococcidae)* cinq ans après l'introduction d'*Epidinocarsis lopezi (Hym. : Encyrtidae)* parasitoïde néotropical au Congo en 1982. *Entomophaga*, **36** : 499-511.

Löhr B., Varela A.M. (1987). The cassava mealybug, *Phenacoccus manihoti* Mat.-Ferr., in Paraguay: further information on occurrence and population dynamics of the pest and its natural enemies. *In* Herren H.R., Hennessey R.D., Bitterli R., *Proceedings of an International Workshop on Biological Control and Host Plant Resistance to control the Cassava Mealybug and the Green Spider Mites in Africa*, ed. Ibadan, Nigeria, 57-69.

Löhr B., Varela A.M., Santos B. (1990). Exploration for natural enemies of the cassava mealybug, *Phenacoccus manihoti (Homoptera: Pseudococcidae)*, in South America for the biological control of this introduced pest in Africa. *B Entomol Res*, **80** : 417-425.

MacArthur R.H., Wilson E.O. (1967). *The theory of island biogeography*. Princeton University Press, Princeton.

Matile-Ferrero D. (1977). Une cochenille nouvelle nuisible au manioc en Afrique Équatoriale : *Phenacoccus manihoti (Homopt. Pseudococcidae). Ann Soc Entomol Fr.*, **13** : 145-152.

Nadel H., Van Alphen J.J.N. (1987). The role of host and host plant odors in the attraction of a parasitoïd *Epidinocarsis lopezi*, to the habitat of its host, the cassava mealybug *Phenacoccus manihoti. Entomol Exp appl*, **45** : 181-186.

Nenon J.-P., Guyomard O., Hemon G. (1988). Encapsulement des œufs et des larves de l'Hyménoptère Encyrtidae *Epidinocarsis* (Anagyrus) *lopezi* par son hôte *Pseudococcidae Phenacoccus manihoti ;* effet de la température et du superparasitisme. *CR Acad Sci III-Vie*, 306, 325-331.

Neuenschwander P., Madojemu E. (1986). Mortality of the cassava mealybug, *Phenacoccus manihoti* Mat.-Ferr. *(Hom., Pseudococcidae)*, associated with an attack by *Epidinocarsis lopezi (Hym., Encyrtidae). Mitt Schweiz Ent Ges*, **59** : 57-62.

Neuenschwander P., Schulthess F., Madojemu E. (1986). Experimental evaluation of efficiency of *Epidinocarsis lopezi*, a parasitoid introduced into Africa against the cassava mealybug *Phenacoccus manihoti. Entomol Exp appl*, **42** : 133-138.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Neuenschwander P., Hennessey R.D., Herren H.R. (1987). Food web of insects associated with the cassava mealybug *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero (*Hem. Pseudococcidae*), and its introduced parasitoid, *Epidinocarsis lopezi* (*Hym. Encyrtidae*), in Africa. *B Entomol Res*, **77** : 177-189.

Neuenschwander P., Herren H.R. (1988). Biological control of the cassava mealybug, *Phenacoccus manihoti*, by the exotic parasitoid *epidinocarsis lopezi* in Africa. *Philos Trans R Soc, Ser. B*, London, **318** : 319-333.

Nwanze K.F. (1982). Relationships between cassava root yield and crop infestation by the mealybug *Phenacoccus manihoti*. *Trop Pest Manag*, **28** : 27-32.

Reyd G., Le Rü B. (1992). Impact of predation by coccinellid larvae on colonies of the mealybug Phenacoccus manihoti in crop lands. *Acta Oecologica*, **13** : 181-191.

Schulthess F. (1987). *The Interactions between Cassava Mealybug* (Phenacoccus manihoti Mat.-Ferr.) *Populations and Cassava* (Manihot esculenta Crants) *as Influenced by Weather*. PhD thesis, Swiss Fed Inst Technol, Zurich.

Schulthess F., Baumgärtner J.U., Herren H.R. (1987). Factors influencing the life table statistics of the cassava mealybug *Phenacoccus manihoti*. *Insect Sci Appl*, **8** : 851-856.

Schulthess F., Baumgärtner J.U., Delucchi V., Gutierrez A.P. (1991). The influence of the cassava mealybug, *Phenacoccus manihoti* Mat.-Ferr. (*Hom., Pseudococcidae*) on yield formation of cassava, *Manihot esculenta* Crantz. *J Appl Ent*omol, **111** : 155-165.

Silvestre P., Arraudeau M. (1983). *Le manioc*. Collection « Techniques agricoles et productions tropicales et méditerranéennes ». Maisonneuve et Larose, Paris.

Souissi R., Nenon J.-P., Le Rü B. (1998). Tritrophic interactions between host plants, the cassava mealybug *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero (*Hom., Pseudococcidae*) and its parasitoid *Apoanagyrus lopezi* De Santis (*Hym., Encyrtidae*). *J Appl Entomol*, **122** : 561-564.

Stäubli Dreyer B., Baumgärtner J., Neuenschwander P., Dorn S. (1997). the functional responses of two *Hyperaspis notata* strains to their prey, the cassava mealybug *Phenacoccus manihoti*). *Mitt Schweiz Ent Ges*, **70** : 21-28.

Sullivan D.J., Neuenschwander P. (1988). Melanization of eggs and larvae of the parasitoid, *Epidinocarsis lopezi* De Santis. (*Hymenoptera: Encyrtidae*), by the cassava mealybug, *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero (*Homoptera: Pseudococcidae*). *Can Entomol*, **120** : 63-71.

Umeh E.D.N. (1982). Biological studies on *Hyperaspis marmottam* Fairm. (*Col. Coccinellidae*) a predator of the cassava mealybug *P. manihoti* Mat. Ferr. (*Hom. Pseudococcidae*). *Z Angew Entomol*, **94** : 530-532.

Umeh E.D.N. (1988). Development, oviposition, host feeding and sex determination in *Epidinocarsis lopezi* (De Santis) (*Hymenoptera: Encyrtidae*), *B Entomol Res*, **78** : 605-611.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

24

Introduction d'insectes entomophages : quels risques pour l'environnement ?

Jean-Claude Malausa, Laurent Lapchin

La lutte biologique représente une alternative séduisante à la lutte chimique, avec l'espoir d'un meilleur respect de l'environnement des cultures et de la santé des agriculteurs et des consommateurs. À ce titre, elle a longtemps symbolisé le « bien » indiscutable – une approche écologique de la protection des plantes – contre le « mal », le tout chimique. Depuis quelques années pourtant, la multiplication des accidents dus aux effets imprévus des biotechnologies a mis à mal la confiance que l'opinion publique plaçait dans les affirmations des scientifiques. Ce doute gagne aujourd'hui la lutte biologique et l'on se demande si elle ne pourrait pas, elle aussi, s'accompagner de son cortège d'effets indésirables.

C'est dans les années 50, après la résurgence de problèmes de ravageurs consécutifs à l'utilisation croissante d'insecticides, que le développement de la lutte biologique a été fortement encouragé en Europe, principalement en vergers et en cultures sous serre (Van Lenteren, 1997) (*cf.* chapitre 28). Les recherches engagées au cours des dernières décennies, sur les interactions entre les différents maillons de la chaîne trophique étudiée « plante cultivée/ravageur des cultures/auxiliaire » et sur la génétique et la dynamique de leurs populations, ont été de nature à conforter cette stratégie de lutte en lui permettant d'accéder à une véritable gestion des populations. Récemment, une approche plus scientifique préalable à toute introduction d'un ennemi naturel a été conseillée et appliquée afin de définir ce qui constitue l'efficacité d'un auxiliaire, de réduire les coûts de recherches et de limiter les risques liés aux introductions (Ehler, 1990 ; Louda *et al.*, 2003 ; Van Lenteren, 1997).

Aujourd'hui, les procédés de lutte biologique sont entrés dans la pratique dans le cadre de stratégies de protection intégrée dans tous les systèmes agricoles (Waage, 1997). Ils trouvent une justification partagée tant sur le plan économique qu'environnemental (Nicoli, 1997 ; Van Lenteren, 1997). En France, 80 000 ha de maïs

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un delit

ont été protégés en 2004 contre les chenilles de la pyrale par des lâchers de trichogrammes (source société BIOTOP). Le développement commercial de tels procédés, associé à une prise de conscience générale des problèmes de protection de l'environnement, est à l'origine d'un certain nombre de questions quant à l'effet éventuel des introductions d'organismes exotiques sur la faune indigène et sur les équilibres naturels. En effet, si la lutte biologique est considérée depuis longtemps comme bénéfique pour l'environnement, cela ne signifie pas qu'elle ne peut avoir aucun impact sur ce dernier. Nous nous trouvons donc actuellement dans une situation paradoxale où l'on observe parallèlement : une valorisation des procédés de lutte biologique bénéfiques pour la protection de l'environnement ; et une crainte des effets négatifs des introductions d'auxiliaires sur les équilibres naturels et sur la diversité biologique. Le rôle des ennemis naturels comme éléments clés dans la composition de cette biodiversité et dans le maintien d'une agriculture durable mérite ainsi d'être mieux compris et expliqué.

Les effets écologiques potentiels de l'introduction d'ennemis naturels d'insectes ravageurs représentent un écheveau complexe. Pour commencer à le démêler, nous tenterons dans ce chapitre de sérier les questions et d'ébaucher une typologie des effets non intentionnels possibles. Certains types d'effets ont déjà été observés, d'autres sont pour le moment du domaine spéculatif mais n'en nécessitent pas moins une veille scientifique et technologique. Les avancées récentes de la biologie évolutive et de la biologie des populations nous y aideront. C'est sur cette base typologique que nous tenterons de passer de la théorie à la pratique, puis nous en déduirons une approche opérationnelle afin de prévoir et d'éviter ces effets non intentionnels.

1. *Convergence entre lutte biologique et biologie des populations*

L'intérêt actuel pour « l'agriculture durable » et les évolutions récentes de la biologie des populations sont favorables à une meilleure convergence de ces deux approches. Cette convergence existe depuis longtemps dans les pays anglo-saxons ou ceux dont la culture scientifique s'en inspire : les recherches en lutte biologique et en biologie des populations y sont souvent conduites par les mêmes laboratoires, la mise en application à grande échelle étant alors opérée par des entreprises ou des organismes socio-économiques comme l'USDA (*United States Department of Agriculture*). Dans d'autres pays, et notamment en France, les deux voies de recherche ont longtemps été beaucoup plus cloisonnées. Néanmoins, cette situation a évolué récemment, notamment par le rapprochement des échelles de temps et d'espace abordées par les différentes écoles de pensée. La multiplication des cas de résistances aux insecticides, par exemple, a permis de prendre conscience de ce que l'évolution n'est pas seulement une notion abstraite, dont les effets sont perceptibles seulement à l'échelle géologique, mais qu'elle « court vite » et constitue le moteur des réponses des organismes aux pressions de sélection exercées par l'homme

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

(*cf.* chapitre 9). Cette convergence des échelles de temps a renforcé simultanément l'intérêt des chercheurs théoriciens pour l'environnement agronomique et celui des agronomes pour les concepts de la biologie des populations. Une autre convergence importante concerne les échelles spatiales d'expression des phénomènes biologiques. Les thématiques les plus directement appliquées, notamment d'intérêt agronomique, ont généralement été centrées sur la parcelle ou le groupe de parcelles, correspondant à l'échelle de décision de l'agriculteur. L'analyse de l'impact des activités humaines sur la structure des populations et des écosystèmes porte au contraire sur une échelle large, où la décision concerne davantage l'intérêt collectif des producteurs, comme celui des simples citoyens. Ces travaux, souvent centrés sur la biologie de la conservation, vont plus rarement jusqu'à l'étape d'ingénierie. Les progrès de la formalisation, par exemple, en matière de représentation des métapopulations (ensembles de populations locales connectées par des migrations plus ou moins intenses) permettent aujourd'hui d'envisager une meilleure intégration des échelles écologiques, associée à une réflexion sur les échelles de décision.

Afin de mieux caractériser les différents types d'effets non intentionnels potentiels de la lutte biologique, il est possible de s'appuyer sur les recoupements entre les concepts manipulés dans les deux domaines, comme l'illustrent les quelques exemples suivants.

La probabilité d'installation d'une espèce introduite, clé de la réussite de la lutte biologique par acclimatation, répond aux mêmes critères démographiques et évolutifs que l'extinction d'une espèce rare ou la sédentarisation d'une espèce invasive. Des conditions de cette installation dépendent notamment les risques de déplacement ou de remplacement d'espèces autochtones. L'analyse des situations transitoires, et non plus seulement des « équilibres » finaux, permet aujourd'hui de mieux prévoir et gérer l'efficacité de la lutte biologique, comme ses effets écologiques adjacents.

Une fois l'espèce installée, elle se trouve en situation de co-évolution avec son espèce cible, et une sorte de « course aux armements » (Feeny, 1975) entre virulence de l'auxiliaire et résistance de la cible peut se mettre en place (selon la théorie de la « reine rouge », énoncée par Van Valen en 1973) (*cf.* encadré). Nous aurons l'occasion de revenir plusieurs fois sur l'importance de cette notion qui mérite donc quelques explications. La course aux armements a longtemps été considérée sous un angle symétrique, l'accroissement de résistance de la cible répondant à l'accroissement de virulence de l'agresseur et réciproquement.

Co-évolution, « course aux armements », théorie de la « reine rouge »

La co-évolution entre hôtes et parasites conduit à la sélection d'hôtes toujours plus résistants au parasitisme et de parasites toujours plus capables de contourner les mécanismes de défense des hôtes. Cette « course aux armements » a été baptisée théorie de la reine rouge, par analogie avec la situation évoquée par Lewis Caroll, dans *Alice au pays des merveilles* : pour paraître immobile, à côté de quelqu'un qui court, il faut courir, et à la même vitesse.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Des travaux théoriques récents (Lapchin, 2002) démontrent que les stratégies de spécificité des traits de défense et d'agression peuvent être dissymétriques. Comme, d'une part, l'agresseur doit obligatoirement rencontrer sa cible au cours de sa vie alors que la cible ne rencontrera peut-être jamais d'agresseur, et que d'autre part, l'agresseur peut choisir sa cible, alors que la cible ne peut généralement pas prévoir par quelle espèce d'agresseur elle va être attaquée, les stratégies optimales de résistance tendent à être généralistes alors que les stratégies optimales de virulence tendent à être spécifiques. L'agresseur vit donc dans un monde plus prévisible que l'agressé ce qui accélère la vitesse de sélection des traits de virulence spécialisés. Dans ce contexte, on peut alors prévoir que, le plus souvent, c'est le parasitoïde (ou le prédateur) qui devrait sortir vainqueur de cette « course aux armements », lorsqu'elle peut avoir lieu (Van Alphen, 2002). La co-évolution asymétrique, comme nous le verrons, peut ainsi conditionner la sélection de génotypes de ravageurs résistants à la lutte biologique ou des changements de spécificité, aboutissant à des erreurs de cible.

Les fluctuations de l'environnement abiotique (climatique par exemple) ou biotique, telles que les modifications des populations de phytophages elles-mêmes induites par les changements du parcellaire ou des techniques culturales, altèrent à leur tour les règles du jeu, et leurs conséquences dépendent des adaptations des espèces antagonistes aux variations environnementales, par plasticité ou par diversité génétique.

Enfin, les progrès des disciplines comme l'écologie comportementale et les apports de la physiologie et de la génomique, permettent de relier les processus démographiques et génétiques aux mécanismes mis en œuvre par chaque espèce et d'en déduire notamment les risques de modifications rapides. L'étude des « choix adaptatifs » (*trade-offs*) permet alors de mieux prévoir les évolutions à risque, en reliant ce qu'un organisme gagne à répondre à une pression de sélection nouvelle, à ce que cette adaptation lui coûte pour d'autres fonctions.

2. *Les différents types d'effets non intentionnels*

Les accidents liés à la lutte biologique existent, et de plus en plus d'équipes de recherche de part le monde s'en préoccupent désormais. Un congrès les a d'ailleurs réunies à l'automne 1999 à Montpellier (Wajnberg *et al.*, 2000). Une étape indispensable de cette réflexion consiste à définir les différents effets indirects potentiels, afin de les hiérarchiser et de concevoir les moyens de les gérer au mieux. Nous tenterons donc ici de présenter et de classer les différentes familles de risques potentiels. Pour simplifier cette démarche, nous nous limiterons au cas de la lutte biologique contre des insectes phytophages, à l'aide d'arthropodes entomophages, qu'ils soient parasitoïdes (parasites qui tuent leur hôte) ou prédateurs. Nous distinguerons trois niveaux d'effets indésirables, selon l'espèce ou le groupe d'espèces qui les subissent : l'espèce phytophage cible de la lutte biologique, les espèces non-cibles du même niveau trophique que la cible et les autres espèces entomophages.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

2.1. Effets indésirables sur l'espèce cible

Si une lutte biologique est inefficace, le risque est la multiplication intempestive du phytophage et l'augmentation des dégâts. Rien là de bien nouveau. Par contre, si la lutte biologique est trop efficace et fait disparaître localement la cible, celle-ci peut recoloniser le milieu, débarrassé de ses ennemis naturels, y compris ceux qui existaient avant l'intervention biologique, et présenter une explosion démographique. Ce risque reste toutefois pour le moment une hypothèse d'école.

Un autre effet non intentionnel plus plausible est la sélection de populations cibles capables de résister aux agents de lutte biologique, tout comme il existe des populations résistantes aux insecticides. Ce risque est devenu une réalité face à certains agents de lutte microbiologique comme par exemple le « *Bt* » (*Bacillus thuringiensis*). Néanmoins, après un siècle de lutte biologique, aucun cas indubitable de ce type de sélection n'a été relevé à ce jour dans l'utilisation d'insectes contre des insectes (Holt et Hochberg, 1997). Les mécanismes de défense physiologiques ou comportementaux existent pourtant. Pour expliquer ce paradoxe, on évoque le coût physiologique de telles défenses ou bien la « course aux armements » de la co-évolution : lorsque les hôtes (ou les proies) deviennent résistants, les agents de lutte biologique sont sélectionnés à leur tour pour contourner ces défenses. Dans le cadre de la lutte biologique classique par acclimatation, la co-évolution asymétrique peut permettre à l'auxiliaire de gagner la partie évolutive, limitant les risques de sélection d'hôtes ou de proies résistants. Au contraire, la lutte biologique par lâchers inondatifs pourrait présenter un risque plus élevé que celui de l'acclimatation d'espèces exotiques. En effet, les insectes lâchés en masse sont produits, en « biofabrique », sur des hôtes non résistants (qui sont d'ailleurs souvent d'une autre espèce que leur cible de terrain, pour des raisons pratiques). Ils ne sont donc pas sélectionnés pour contourner les défenses de leurs hôtes cibles. Dans le même temps, ceux-ci sont au contraire soumis sur le terrain à une très forte pression de sélection de défense par l'abondance des lâchers.

2.2. Effets indésirables sur les autres espèces du même niveau trophique

Parmi les effets indésirables qui pourraient avoir les conséquences les plus dévastatrices, il faut citer l'explosion démographique d'autres ravageurs, profitant de la « niche » libérée par une lutte biologique réussie. Les pratiquants de la lutte intégrée, en cultures légumières protégées notamment, connaissent bien ces cascades de ravageurs qui obligent à repartir de zéro lorsqu'on croit tenir la bonne méthode de lutte.

Néanmoins, l'effet non intentionnel de la lutte biologique le plus souvent évoqué est l'erreur de cible. En effet, de très nombreux agents de lutte biologique présentent une spécificité relative et peuvent s'attaquer à d'autres espèces que celles contre lesquelles on les a lâchés. Par ailleurs, lorsque la lutte biologique par acclimatation est efficace, ou que l'agent lâché dépasse l'aire de répartition de sa cible, la raréfaction

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

de la cible peut faciliter le passage de l'agent de lutte biologique vers d'autres espèces. Or, ces espèces peuvent être utiles ou protégées. Ce risque a surtout été observé dans la lutte biologique contre les mauvaises herbes avec des agents biologiques phytophages, lorsqu'ils se mettent à dévorer les cultures environnantes. Quelquefois, la cible involontaire est considérée aussi comme nuisible et l'effet non intentionnel peut s'avérer bénéfique ! Par exemple, le parasitoïde *Lysiphlebus testaceipes*, introduit depuis Cuba pour lutter contre une espèce de pucerons des agrumes en zone méditerranéenne (Tremblay et Barbagallo, 1982), s'est avéré incapable de boucler son cycle biologique sur les populations locales de cette espèce cible. Par contre, il s'est installé efficacement sur les autres espèces dominantes de pucerons des agrumes. Beaucoup de programmes de tests de spécificité sont élaborés aujourd'hui. L'étude approfondie de la spécificité et de son potentiel d'évolution est l'un des secteurs clés des futurs travaux dans ce domaine. Ici encore, l'asymétrie de la « course aux armements » entre phytophage et entomophage pourrait jouer un rôle important car un changement de cible n'est autre que la mise en place d'une nouvelle spécificité qui pourrait donc se réaliser rapidement. La version optimiste est que l'entomophage devienne rapidement efficace sur une cible nouvelle qu'on lui attribue ; la version pessimiste est un risque élevé de changement de cible imprévu, surtout si la cible initiale devient rare.

2.3. Effets indésirables sur les autres ennemis naturels

Lorsqu'une acclimatation réussit, notamment lorsqu'elle vise une espèce cible non récemment introduite, elle n'est pas sans effet sur l'entomofaune locale. Reprenons l'exemple de l'introduction de *Lysiphlebus testaceipes* : aujourd'hui, cette espèce assure la quasi-totalité du parasitisme des pucerons des agrumes méditerranéens. Nous avons peu d'informations sur la situation antérieure à son introduction. Néanmoins, d'autres espèces parasitaient probablement ces pucerons. Que sont-elles devenues ? Si elles étaient spécifiques, il peut s'agir d'une simple disparition. Sinon, qui nous garantit que ces espèces ne contrôlaient pas non plus d'autres pucerons des cultures ? Dans ce cas, elles peuvent bien sûr se maintenir sur ces autres cultures, sauf si les agrumes représentaient un relais incontournable. Un problème du même ordre mobilise des équipes américaines, avec l'acclimatation de la coccinelle *Harmonia axyridis*, accusée de remplacer les coccinelles autochtones (*cf.* chapitre 22).

Envisageons maintenant un autre type de scénario. Les agents biologiques agissent souvent en « cortèges » d'espèces dont l'action est complémentaire. Nous avons évoqué plus haut la sélection de populations cibles résistantes aux agents biologiques. Supposons, en nous appuyant à nouveau sur la théorie de la co-évolution asymétrique, que cette résistance sélectionnée ne soit pas spécifique. L'efficacité des entomophages autochtones pourrait alors être dégradée à cause de l'introduction – ou encore plus du lâcher inondatif – d'un agent de contrôle.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

3. *De la théorie à la pratique : les effets non intentionnels de la lutte biologique, mythe ou réalité ?*

Les risques liés à l'introduction d'une espèce exogène à un milieu donné dépendent de nombreux facteurs comme la nature de l'auxiliaire (parasitoïde ou prédateur), de sa spécificité alimentaire (monophage, oligophage ou polyphage), du nombre d'individus introduits (de quelques dizaines à plusieurs millions), des caractéristiques bioclimatiques de sa zone géographique d'origine, des capacités d'adaptation de l'organisme, etc.

Pourtant, le bilan d'un siècle de lutte biologique démontre l'innocuité impressionnante de cette méthode pour l'agriculture : en effet, sur environ 5 000 introductions effectuées contre des insectes nuisibles aux cultures et sur un millier contre les mauvaises herbes, on ne compte que quelques rares cas ayant eu des effets indésirables sur l'agriculture (Waage, 1997). Par contre, on ne sait pas grand-chose de l'impact des organismes introduits sur les systèmes non agricoles et sur les espèces indigènes non visées, impact qui est très difficile à évaluer. Le peu d'effets négatifs mis en évidence tient certainement au fait que l'évaluation des introductions est restée très superficielle ou bien, lorsque cette dernière a été engagée, qu'elle n'incluait pas les espèces indigènes non visées.

Pour se référer à la classification précédente, les exemples le plus souvent cités concernent donc les effets indésirables sur des espèces du même niveau trophique que la cible initiale de la lutte biologique. Les premiers cas d'introduction de lutte biologique utilisant des vertébrés ont souvent révélé une inefficacité des prédateurs généralistes à contrôler le ravageur visé. Parfois, ces prédateurs devenaient des ravageurs eux-mêmes en s'attaquant à d'autres organismes. On peut citer l'introduction à Trinidad et dans différentes îles des Antilles des mangoustes d'origine indienne pour combattre les rats dans les plantations de canne à sucre. Une réduction considérable des populations de rats a été observée mais ces prédateurs polyphages ont par la suite attaqué de nombreux vertébrés terrestres, contribuant au déclin d'espèces indigènes d'oiseaux et à l'extinction de serpents et de lézards endémiques sur plusieurs îles des Caraïbes. Howarth (1992) estime que les introductions d'agents de lutte biologique sont responsables de la disparition d'environ une centaine d'espèces à travers le monde. Ce sont les vertébrés, les maladies et certaines espèces polyphages qui sont les plus impliqués. De plus, les problèmes diffèrent selon la vulnérabilité de la région d'introduction (Howarth, 1991). Le plus souvent, ces opérations étaient réalisées sans la supervision d'experts en lutte biologique. Ces exemples d'introductions malencontreuses aux conséquences très spectaculaires, et parfois dramatiques, ont eu un impact négatif sur l'opinion publique et sont restés ancrés dans la mémoire pendant des décennies.

Il est vrai que l'on dispose de beaucoup plus de connaissances sur les animaux supérieurs ou sur la flore que sur la faune des petits invertébrés qui, bien que beaucoup plus diversifiée, passe souvent inaperçue. Il faut constater également que l'on met, actuellement, beaucoup plus en avant les risques d'effets indésirables et non

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

intentionnels d'agents introduits à des fins de lutte biologique, que toutes les conséquences directes et indirectes des déséquilibres créés par l'introduction accidentelle des ravageurs. On peut citer l'exemple d'actualité de l'introduction volontaire du charançon phytophage *Rhinocyllus conicus* en Amérique du Nord pour lutter contre les chardons d'origine eurasienne (Louda *et al.*, 1997) ; on est en train de déplorer l'impact négatif de ce charançon sur les chardons indigènes mais a-t-on réellement et objectivement comparé cet impact à celui engendré par l'introduction accidentelle du chardon exogène lui-même ?

En fait, on ne dispose que de très peu d'exemples ayant fait l'objet d'études scientifiques évaluant l'impact de l'introduction d'agents de lutte biologique sur la faune indigène. On peut citer les études menées en Australie et en Nouvelle-Zélande à la suite de l'introduction de l'Hyménoptère *Braconidae Microctonus aethiopoides* pour lutter contre le charançon *Sitona discoideus* (Aeschlimann, 1995) ainsi que les travaux menés aux îles Hawaii sur les mouches des fruits (Diptères *Tephritidae*) qui ont montré que l'introduction de parasitoïdes exogènes contre des mouches introduites accidentellement a eu un impact relativement limité sur les espèces indigènes (Duan *et al.*, 1997 ; Duan et Messing, 1997).

Mais il existe des exemples avec des effets négatifs comme celui de *Coccinella septempunctata* qui, introduite aux États-Unis pour lutter contre les pucerons, s'attaque maintenant, entre autre, aux œufs et aux chenilles d'un *Lycaenidae* en voie d'extinction, *Everes comyntas* (Samways, 1995). Il est toutefois difficile de citer un seul exemple de « catastrophe écologique » consécutive à l'introduction volontaire d'un insecte auxiliaire dans le cadre d'une opération de lutte biologique, et les centaines d'introductions d'ennemis naturels d'insectes effectuées jusqu'à présent n'ont pas entraîné de problèmes pour l'environnement dans les cas où une procédure de sélection, d'importation et de lâcher était correctement appliquée (Van Lenteren, 1997). Le même bilan a été effectué par l'*International Institute of Biological Control* (IIBC) qui a analysé tous les projets de lutte biologique avec des insectes et a signalé l'absence d'effets négatifs (Greathead, 1995). Ces conclusions sont rassurantes mais aussi très surprenantes si l'on considère parallèlement les nombreuses introductions volontaires ou non d'animaux ou de plantes qui se sont soldées par de véritables désastres écologiques (Hokkanen et Lynch, 1995).

Les auxiliaires choisis pour des opérations de lutte biologique sont en général des parasitoïdes ou des prédateurs spécifiques, monophages ou oligophages. Bien que l'introduction d'un ennemi naturel polyphage ne soit généralement pas conseillée, certaines espèces généralistes sont utilisables et utilisées comme agents de lutte biologique : en particulier si les prédateurs sont de petite taille et vivent dans des habitats où ils rencontrent une majorité d'organismes phytophages, leur utilisation ne devrait pas avoir d'impact négatif (Van Lenteren, 1997). C'est le cas par exemple pour les acariens prédateurs en serres et en vergers. Quelques espèces de gros prédateurs peuvent parfois être utilisées sans risque comme certains poissons prédateurs de moustiques lorsqu'ils sont introduits dans des étangs où ils sont de fait confinés (Greathead, 1995). L'innocuité reconnue de la majorité des opérations de lutte bio-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

logique montre à quel point les scientifiques ont correctement identifié les ennemis naturels qu'ils allaient introduire avec un risque limité, après avoir acquis des connaissances suffisantes sur leur spectre alimentaire dans le but d'éviter qu'ils ne deviennent eux-mêmes des ravageurs ou qu'ils ne menacent d'autres espèces. Ceci se traduit généralement par une préférence pour les auxiliaires les plus spécifiques.

Un minimum d'études est toujours effectué pour préparer ces introductions qui ont manifestement toujours conduit à des résultats positifs ou nuls, à court ou moyen terme. Cependant, en l'absence de protocoles rigoureux de préparation et surtout de suivi des introductions, il est souvent impossible de disposer de toutes les informations relatives à l'impact à long terme d'une introduction volontaire. Il faut admettre la difficulté de prévoir les impacts d'une introduction car ils sont dus à une interaction complexe de nombreux facteurs comme l'efficacité de l'auxiliaire, son taux de reproduction ainsi que celui de son hôte, sa distribution et celle de son hôte sur le terrain, et les interactions avec les autres organismes (Van Lenteren, 1997).

Les connaissances scientifiques dans le domaine de l'écologie des populations tendent à montrer que comme pour un ravageur d'origine exotique, l'éradication d'un auxiliaire introduit devient pratiquement impossible une fois qu'il est installé (Waage, 1997). C'est dire l'importance de la décision d'introduire ou non un organisme exogène dans une aire donnée.

Les avis sont très contradictoires sur les risques de réduction des populations, voire d'extinction d'espèces indigènes, et ne permettent pas de se faire une idée objective (Funasaki *et al.*, 1988 ; Howarth, 1991). Ce qui est certain, c'est qu'en plus de cent ans de lutte biologique, pratiquement aucun insecte ravageur n'a été exterminé et que l'extinction involontaire d'une espèce non visée est d'autant plus improbable. Il est parfois avancé que l'introduction de parasites spécifiques pour lutter contre des ravageurs exogènes peut s'avérer fatale à certaines espèces indigènes dans la mesure où, n'ayant pas co-évolué avec ces parasites, elles peuvent se révéler beaucoup plus sensibles que les ravageurs introduits (Lambert, 1996). Mais la littérature récente sur les introductions d'ennemis naturels pour lutter contre les insectes ne met en évidence aucune extinction d'espèce liée à la lutte biologique (*cf.* 2.). Le seul cas recensé d'éradication concerne le psylle africain *Trioza erytreae* qui a été complètement éradiqué de l'île de la Réunion par l'introduction du parasitoïde *Tamarixia dryi* depuis l'Afrique du Sud. Rappelons toutefois qu'il s'agissait dans ce cas de l'espèce cible et que cela se déroulait en milieu insulaire, plus favorable à l'éradication d'une espèce.

4. *Approche opérationnelle pour prévoir et éviter les effets non intentionnels*

Dans ce contexte, on ne peut pas rester indifférent aux conséquences de lâchers d'insectes exogènes et à leur incidence sur la faune entomologique indigène. La communauté scientifique, interpellée, tente de donner une réponse à ce sujet, voire

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

de se justifier, dans la mesure où ce qui était considéré il y a quelques années comme un procédé de lutte « écologique » est de plus en plus considéré comme relevant de la démarche de l'« apprenti-sorcier ».

Des groupes de travail se sont ainsi créés, à l'occasion de conférences ou de congrès internationaux, pour faire le point sur la question et tenter de trouver des solutions à ces problèmes. Les avis sont très partagés, voire opposés, dans l'attente de données beaucoup plus objectives basées sur des expériences passées. Certains experts recommandent l'établissement de réglementations beaucoup plus restrictives pour les importations d'auxiliaires, réglementations qui sont considérées par d'autres comme très néfastes pour l'environnement. Une réglementation trop stricte aurait un effet démotivant pour développer des méthodes biologiques plus respectueuses, sous certains aspects, de l'environnement et continuerait à favoriser les méthodes de lutte chimique beaucoup plus préjudiciables (Van Lenteren, 1996).

À l'inverse, il ne faut pas risquer de voir la lutte biologique être discréditée par des opérations d'introductions malheureuses avec des conséquences négatives sur l'opinion publique. On aboutirait vite à des restrictions trop draconiennes et à une sur-réglementation qui entraveraient le développement de ces méthodes biologiques de lutte qui ont montré par ailleurs tout leur intérêt.

4.1. Optimiser les processus de lutte biologique

La gestion des effets non intentionnels potentiels de la lutte biologique commence par l'organisation des différentes étapes de la mise au point des méthodes (aspects techniques) et de leur mise en œuvre (aspects réglementaires).

4.1.1. Aspects techniques

Toutes les acclimatations d'auxiliaires exogènes, motivées par l'introduction accidentelle de nouveaux ennemis des cultures, présentent des risques écologiques potentiels qui justifient l'intérêt de la mise en quarantaine, même s'il s'agit *a priori* d'organismes considérés comme utiles. La quarantaine apparaît comme l'outil indispensable et incontournable permettant de mieux connaître les potentialités de nouveaux entomophages et de relâcher des auxiliaires sains et adaptés au milieu (Leclant, 1996). C'est en quarantaine que seront effectués les premiers tests permettant d'estimer les capacités d'acclimatation puis de naturalisation d'une espèce que l'on souhaite introduire (Di Castri, 1990).

Des normes pour les installations de confinement (serres et laboratoires) ont été proposées par la sous-direction de la Qualité et de la Protection des végétaux du ministère chargé de l'Agriculture. Trois niveaux de sécurité de confinement ont été définis (NS1, NS2 et NS3) selon les risques liés aux organismes à introduire. Un cahier des charges correspondant aux exigences requises pour les installations concernées a été établi pour chacun de ces niveaux. La détermination du niveau de confinement proposé pour l'organisme à introduire a fait l'objet de listes établies par cette même sous-direction. Elle prend en compte plusieurs critères liés au risque

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

potentiel que représente l'organisme pour les végétaux et produits végétaux d'intérêt économique d'une région concernée, de sa capacité de dissémination et d'adaptation, de son potentiel reproductif, etc.

4.1.2. Aspects réglementaires

La réglementation française concernant l'importation d'agents de lutte biologique a fait l'objet d'un article de synthèse de Theissen et Ferrière (1996). Les insectes entrent dans la catégorie des macro-organismes, terminologie utilisée pour les arthropodes, en opposition avec les micro-organismes et virus. La France a fixé sa politique nationale en matière de protection des végétaux et notamment en matière d'importation et d'utilisation des agents de lutte biologique. Cette politique est cependant orientée par un certain nombre de références internationales contractuelles (accords, conventions) signées par la France, dont les dispositions européennes (directives, règlements) ainsi que par des références non contractuelles internationalement reconnues.

L'Organisation pour l'alimentation et l'agriculture des Nations unies (FAO, *Food and Agriculture Organization*) a pour sa part élaboré et approuvé en 1996 un code de conduite pour l'importation et le lâcher des agents exotiques de lutte biologique (FAO, 1996). Ce code a pour objectif de faciliter l'importation et le lâcher d'agents de lutte biologique sans danger. Il encourage en particulier les états à établir des procédures de contrôle pour l'importation et le lâcher de ces agents (Schulten, 1997). Un des points clés de ce code est de recommander aux importateurs d'auxiliaires de donner des informations sur les éventuels effets non intentionnels des introductions d'organismes exotiques. L'autre point important est d'avoir inclus dans le code, les agents de lutte biologique introduits à des fins commerciales.

À ce jour, aucune disposition européenne ne fait référence explicitement aux agents de lutte biologique. Seules des recommandations sur la sécurité et l'efficacité de la lutte biologique en Europe ont été faites par l'Organisation européenne et méditerranéenne pour la protection des plantes (OEPP) à l'occasion d'un « atelier » qui s'est tenu en Grande-Bretagne en 1996 (OEPP, 1997). Les participants à cette réunion ont fait remarquer que les pratiques actuelles d'importation d'agents macro-biologiques varient beaucoup selon les pays européens et qu'une harmonisation paraissait nécessaire. Cette dernière est en cours de discussion et des efforts ont été faits pour inclure le code de conduite FAO dans les règlements européens en matière d'importation et d'introduction d'agents exotiques de lutte biologique (Klingauf, 1995). Compte tenu de la multiplicité des conditions climatiques et environnementales rencontrées dans les pays de l'Union européenne (UE), la notion d'approche éco-régionale est évoquée pour permettre d'estimer la valeur et les risques présentés par l'établissement d'agents exotiques de lutte biologique en Europe. Une des recommandations de cet atelier propose que des directives soient préparées pour répondre aux besoins européens dans les différents domaines concernés et plusieurs groupes d'experts de l'OEPP et de l'OILB (Organisation internationale

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

de lutte biologique) sont actuellement fortement impliqués pour réfléchir à une harmonisation des réglementations européennes en matière d'introductions d'auxiliaires.

Par ailleurs, il est question d'établir une liste positive d'organismes auxiliaires déjà utilisés avec succès et sans effets négatifs dans certaines régions afin de faciliter leur introduction dans des zones écologiquement similaires (Van Lenteren, 1997). Les auxiliaires commercialisés à grande échelle depuis des années représenteraient la base d'une telle liste positive. Les demandes d'autorisations d'introduction dans un pays seraient ainsi facilitées si des évaluations sur l'impact d'un auxiliaire ont déjà été effectuées ailleurs, ce qui éviterait une perte de temps importante pour refaire des tests ou collecter des données déjà existantes. Une liste préliminaire d'un peu plus de 40 arthropodes auxiliaires a été proposée lors de la réunion de l'OEPP de mars 1998 au Portugal.

Pour être lâchés dans l'environnement, les insectes auxiliaires de lutte biologique, comme tous les autres macro-organismes, sont soumis en France à la loi 95-101 du 2 février 1995 (dite loi Barnier) relative au renforcement de la protection de l'environnement. Cette dernière interdit l'introduction volontaire ou non de tout spécimen d'une espèce animale ou végétale non indigène (à l'exclusion des espèces domestiques ou cultivées). Toutefois, l'introduction dans le milieu naturel de spécimens de telles espèces peut être autorisée par l'autorité administrative concernée, à savoir le ministre chargé de l'environnement et le ministre chargé de l'agriculture dans le cas présent, à des fins agricoles, piscicoles ou forestières ou pour des motifs d'intérêt général et après évaluation des conséquences de cette introduction. Le décret devant préciser les conditions d'application de cette disposition n'a toutefois jamais été publié.

À l'heure actuelle, il n'existe donc pas encore en France de dispositions réglementaires ou législatives concernant l'introduction et l'importation d'insectes auxiliaires. Ces derniers ne sont pas concernés par le décret de 1997 (n° 97-857) qui nécessite la délivrance des lettres officielles d'autorisation pour les établissements introduisant ou faisant circuler des organismes nuisibles et/ou végétaux relevant des dérogations pour des travaux à des fins d'essais ou à des fins scientifiques. Il est toutefois demandé d'établir une « déclaration d'importation d'organismes vivants et autres produits à titre scientifique » à la direction régionale de l'Agriculture et de la Forêt, service de la Protection des végétaux (DRAF, SPV) de la région concernée. Cette déclaration remplace en fait les anciennes « autorisations d'importation à titre scientifique » (AITS) qui avaient été mises en place à titre expérimental par le service de la Protection des végétaux mais qui ne faisaient référence, en fait, à aucune assise réglementaire.

Plus récemment encore, l'OCDE (Organisation de coopération et de développement économique) a élaboré un document servant de guide méthodologique détaillant les procédures à mettre en œuvre pour limiter les risques non intentionnels liés à l'utilisation et à l'introduction d'agents de lutte biologique. Ce document s'appuie très largement sur les recherches effectuées dans le cadre du projet européen ERBIC (*Evaluating Environmental Risks of Biological Control Introductions*

© Lavoisier - La photocopie non autorisée est un délit

into Europe, 1997-2002) et qui pourraient servir de références à une réglementation d'importation et d'introduction d'entomophages exotiques, tout au moins dans la lutte biologique par lâchers inondatifs ou inoculatifs et dans les applications commerciales qui s'y rattachent (Van Lenteren *et al.*, 2003). Les facteurs écologiques évalués pour déterminer l'impact sur l'environnement sont liés au potentiel d'établissement et de dispersion de l'auxiliaire introduit, sa spécificité parasitaire ou prédatrice et les risques directs et indirects sur les autres organismes présents dans l'écosystème.

4.2. Associer les différentes méthodes de lutte dans un contexte de protection intégrée

La « lutte intégrée » consiste à combiner différentes méthodes de lutte – biologique, chimique, physique, techniques culturales, etc. pour privilégier la réduction de l'utilisation de pesticides. Cette notion s'est enrichie récemment par celle de « protection intégrée des cultures ». Cette fois-ci, il s'agit d'élargir cette approche « multicritères » à la protection contre l'ensemble des bio-agresseurs des productions végétales (arthropodes, pathogènes aériens et telluriques, mauvaises herbes, etc.) (*cf.* chapitre 15). Dans ce contexte, la protection des cultures ne peut pas être considérée indépendamment des itinéraires techniques ni des critères socio-économiques qui sous-tendent les décisions des agriculteurs, rejoignant ainsi le concept de « production intégrée ».

Au-delà du seul impact de la lutte biologique, et malgré la réalisation d'expérimentations anciennes et nombreuses, le développement de pratiques agricoles alternatives à la lutte chimique n'a pas atteint, à ce jour, le niveau escompté. Outre la disproportion des moyens de recherche investis par rapport à ceux de la lutte chimique, ce déficit peut être attribué à plusieurs causes principales. En matière de recherche, et du côté des biologistes des populations de tradition universitaire, les préoccupations essentielles ont été centrées sur les mécanismes écologiques à long terme, dans un milieu dit « naturel » (étude de systèmes supposés à l'équilibre, questionnement de biologie de la conservation, etc.). L'environnement agricole et péri-agricole est considéré comme une situation écologique particulière et marginale.

Du côté des équipes travaillant sur les aspects opérationnels, deux familles de freins sont à prendre en compte :

– sur le plan de la mise au point des stratégies alternatives, la recherche de solutions efficaces a été menée le plus souvent par la méthode des « essais et des erreurs » : pour chaque type de culture, voire chaque nouvelle variété, des éléments de protection des cultures sont testés successivement jusqu'à obtenir un contrôle satisfaisant de la démographie des bio-agresseurs ; ainsi, les connaissances acquises sur un modèle profitent peu aux programmes ultérieurs. Par ailleurs, la démarche purement expérimentale, d'ailleurs pas toujours solide, est privilégiée aux dépens de la formalisation générique (modélisation) ;

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

– sur le plan du transfert vers les partenaires socioprofessionnels, la recherche de solutions à court terme est généralement prioritaire. L'intérêt pour une approche stratégique globale, s'appuyant sur les concepts de la biologie des populations, nécessite un saut qualitatif car le savoir-faire requis par la mise en œuvre de méthodes alternatives est généralement d'une technicité élevée. Dans ces conditions, les producteurs doivent, soit acquérir ce savoir-faire et avoir les disponibilités suffisantes pour le mettre en œuvre tout au long de la période de production, soit faire appel à des personnels spécialisés ou à des prestataires de service coûteux. Dans les deux cas, l'investissement ne se justifie que pour des cultures à forte valeur ajoutée.

L'autre paramètre essentiel de l'acceptation de la démarche par l'agriculteur est la gestion du risque : l'efficacité de la protection intégrée des cultures est généralement reconnue lorsqu'elle est utilisée d'une façon optimale mais le risque d'échec associé à toute erreur stratégique est élevé et susceptible de conséquences économiques graves. Ces contraintes sont à mettre en regard des possibilités de valorisation économique de ces méthodes qui restent encore incertaines dans l'état actuel des circuits économiques.

Conclusion

Nous avons passé en revue de nombreuses sources potentielles de risques pour l'environnement. Aujourd'hui, peu d'effets indésirables graves ont été signalés. Bien entendu, les effets non intentionnels de la lutte biologique sont probablement sans commune mesure avec ceux du rouleau compresseur que représente le « tout chimique ». Pourtant, ils existent et nous avons du mal à imaginer quelle serait la situation si la lutte biologique était employée à une échelle comparable à celle de la lutte chimique. La lutte biologique est et restera une vraie chance pour la gestion de la protection des cultures et de l'environnement. Il nous faut seulement cesser de considérer les choses d'une façon manichéenne, en distinguant trop hâtivement le bien du mal, et nous mettre au travail pour intégrer les effets non intentionnels parmi les éléments constitutifs de l'étude de la lutte biologique. Deux orientations principales complémentaires peuvent être dégagées : la première est une approche à court terme, en multipliant les tests sur chacun des agents biologiques envisagés, en définissant des cahiers des charges et une réglementation adaptés. La deuxième est une veille scientifique accrue. Nous avons pu découvrir, au fil des types de risques envisagés, la complexité des systèmes biologiques concernés, de la physiologie et du comportement des individus jusqu'à la génétique et la dynamique des populations. L'approche conceptuelle et l'analyse fine des mécanismes sont indispensables pour aller au-delà des réponses au coup par coup.

Il est crucial de montrer relativement rapidement et sans ambiguïté que la lutte biologique reste une méthode fiable et aux risques limités, à condition bien sûr de procéder préalablement à une sélection rigoureuse des auxiliaires utilisés.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Références bibliographiques

Aeschlimann J.P. (1995). Lessons from post-release investigations in classical biological control: the case of *Microctonus aethiopoides* introduced into Australia and New Zealand for the biological control of *Sitona discoideus*. *In* Hokkanen H.M.T et Lynch J.M. *Biological Control: Benefits and risks*. Cambridge University Press, 75-83.

Di Castri F. (1990). On invading species and invaded ecosystems: the interplay of historical chance and biological necessity. *In* Castri F. (di), Hansen A.J., Debussche M., *Biological invasions in Europe and the Mediterranean bassin. Monographicae biologicae*, **65** : 3-16.

Duan J.J., Ahmad M., Joshi K., Messing R.H. (1997). Evaluation of the impact of the fruit fly parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (*Hymenoptera: Braconidae*) on a nontarget Tephritid, *Eutreta xanthochaeta* (*Diptera: Tephritidae*). *Biol Control*, **8** : 58-64.

Duan J.J., Messing R.H. (1997). Effect of two Opiine parasitoids (*Hymenoptera: Braconidae*) introduced for fruit fly control on a native Hawaiian Tephritid, *Trupanea dubautiae* (*Diptera: Tephritidae*). *Biol Control*, **8** : 177-184.

Ehler L.E. (1990). Environmental impact of introduced biological control agents: Implications for agricultural biotechnology. *In* Marois J.J., Bruening G., *Risk assessment in agricultural biotechnology*. University of California, Div Agric & Natural Resources Pub, 85-96.

FAO (1996). Code de conduite pour l'importation et le lâcher des agents de lutte biologique. Section 1 – Réglementation à l'importation.

Feeny P. (1975). Biochemical co-evolution between plants and their insect herbivours. *In* Gilbert L.E., Raven P.H., *Co-evolution of animals and plants*. University of Texas Press, 3-19.

Funasaki G.Y., Li P.Y., Nakahara L.M., Beardsley J.W., Ota A.K. (1988). A review of biological control introductions in Hawaii: 1890-1985. *Proceedings of the Hawaiian Entomological Society*, **28** : 293-305.

Greathead D.J. (1995). Benefits and risks of classical biological control. *In* Hokkanen H.M.T., Lynch J.M., *Biological Control: Benefits and risks*. Cambridge University Press, 53-63.

Hokkanen H.M.T., Lynch J.M. (1995). *Biological control· Benefits and risks*. Cambridge University Press, Cambridge.

Holt R.D., Hochberg M.E. (1997). When is biological control evolutionarily stable (or is it)? *Ecology*, **78** : 1673-1683.

Howarth F.G. (1991). Environmental impacts of classical biological control *Annu Rev Entomol*, **36** : 485-509.

Howarth F.G. (1992). Environmental impacts of species purposefully introduced for biological control of pests. *Pacific Science*, **46** : 388-389.

Klinghauf F.A.J. (1995). Registration requirements of biological control agents in Germany and in the European Union. *In* Hokkanen H.M.T., Lynch J.M., *Biological Control : Benefits and risks*. Cambridge University Press, 283-290.

Lambert A. (1996). Introduction d'espèces dans les milieux aquatiques continentaux « Quid de leurs parasites ? ». – *In* Recueil de résumés du séminaire national GIP Hydrosystèmes, Ministère de l'Environnement, Conseil Supérieur de la Pêche – *Les introductions d'espèces dans les milieux aquatiques continentaux en métropole. Enjeux, conséquences et recommandations*, Paris.

Lapchin, L. (2002). Host-parasitoid association and diffuse coevolution: when to be a generalist? *Am Nat*, **160** : 245-254.

Leclant F. (1996). Le monde fascinant des entomophages. Ce qu'ils sont, quand, où et comment les utiliser. *Phytoma*, n° 487, 26-29.

Louda S.M., Kendall D., Connor J., Simberloff D. (1997). Ecological effects of an insect introduced for the biological control of weeds. *Science*, **277** : 1088-1090.

Louda S.M., Pemberton R.W., Johnson M.T., Follett P.A. (2003). Nontarget effects – The Achilles'heel of biological control? Retrospective analyses to reduce risk associated with biocontrol introductions. *Annu Rev Entomol*, **48** : 365-396.

Nicoli G. (1997). Biological control of exotic pests in Italy: recent experiences and perspectives. *Bulletin OEPP/EPPO*, **27** : 69-75.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

OEPP (1997). Atelier OEPP/CABI sur la sécurité et l'efficacité de la lutte biologique en Europe : recommandations. *Bulletin OEPP/EPPO*, **27** : 1-3.

Samways M.J. (1995). *Insect Conservation Biology*. Ed. Chapman & Hall, Londres.

Schulten G.G.M. (1997). The FAO code of conduct for the import and release of exotic biological control agents. *Bulletin OEPP/EPPO*, **27** : 29-36.

Theissen G., Ferrière J. (1996). Importation d'agents de lutte biologique en France. Pas de mesures réglementaires spécifiques… mais une réglementation précise ! *Phytoma*, **480** : 51-53.

Tremblay E., Barbagallo S. (1982). *Lysiphlebus testaceipes* (Cr.), a special case of ecesis in Italy. *In* Cavalloro R., *Aphid Antagonists*. Balkema, Rotterdam, Portici, 65-68.

Van Alphen J.J.M. (2002). Hotspots are rare in the evolution of parasitoid virulence and host resistance. *Trends Ecol Evol*, **17 :** 499.

Van Lenteren J.C. (1996). Harvesting safely from biodiversity: natural enemies as sustainable and environmentally friendly solutions for pest control. Proceedings of the xxthxinternational congress of entomology (Florence, Italie), 634.

Van Lenteren J.C. (1997). Benefits and risks of introducing exotic macro-biological control agents into Europe. *Bulletin OEPP/EPPO*, **27** : 15-27.

Van Lenteren J.C., Babendreier D., Bigler F., Burgio G., Hokkanen H.M.T., Kuske S., Loomans A.J.M., Menzler-Hokkanen I., Rijn P.C.J. van, Thomas M.B., Tomassini M.C., Zeng Q.Q. (2003). Environmental risk assessment of exotic natural enemies used in inundative biological control. *Biocontrol*, **48** : 3-38.

Van Valen L. (1973). A new evolutionary law. *Evolutionary Theory*, **1** : 1-30.

Waage J. (1997). Global developments in biological control and the implications for Europe. *Bulletin OEPP/EPPO*, **27** : 5-13.

Wajnberg E., Scott J.K., Quimby P.C. (2000). *Evaluating indirect ecological effects of biological control*. Cabi Publishing Ed., UK.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

25

La lutte microbiologique contre les insectes ravageurs des cultures : contraintes, bilan et perspectives

Jacques Fargues, Denis Bourguet

L'utilisation de micro-organismes entomopathogènes pour réguler les populations d'insectes nuisibles a été proposée dès la fin du XIX^e^ siècle par quelques pionniers tels que Louis Pasteur (*cf.* encadré). Depuis, on a recensé une très large gamme de micro-organismes candidats à la lutte contre les insectes nuisibles en cultures protégées et de plein champ, en vergers, sur cultures ornementales ou en forêt. On y trouve des bactéries, des virus, des champignons et des protozoaires, auxquels on a l'habitude d'ajouter les nématodes entomophages (Silvy et Riba, 1999).

Les auteurs s'accordent pour retenir trois grands axes stratégiques en lutte microbiologique :

– l'introduction-acclimatation d'un micro-organisme entomopathogène exotique, généralement pour réguler une espèce nuisible introduite accidentellement, sans le cortège parasitaire qui contribue à l'empêcher de pulluler dans son écosystème d'origine ;

– l'application d'inoculums microbiens utilisés comme bio-insecticides, soit par traitements inondatifs (lutte intégrée) soit par traitements inoculatifs (épizooties induites) ;

– la préservation du potentiel de régulation du germe, notamment en manipulant l'environnement.

En dépit de réussites incontestables, ces stratégies, fondées sur l'utilisation d'inoculums microbiens, ont semblé être condamnées à terme au profit des plantes génétiquement transformées, dans lesquelles sont insérés les gènes impliqués dans la synthèse des motifs toxiques de ces microbes. L'apparition de phénomènes de résistance croisée aux toxines de *Bacillus thuringiensis* dans des populations d'insectes provoquant des dégâts considérables, tels que la teigne des crucifères dans le sud-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

est asiatique, a montré les limites d'un recours systématique à un micro-organisme sans potentiel épidémique et dont le mode d'action est relativement simple (relation oligogénique). Elle a aussi mis en exergue les risques potentiels inhérents à l'extension irraisonnée des cultures de plantes transformées avec des gènes codant pour ces toxines (Gelernter, 1997 ; Tabashnik, 1998). Ces considérations, auxquelles s'ajoutent les effets de l'évolution de la législation en matière de toxicité des produits chimiques (qui conduit au retrait des spécialités rémanentes à large spectre d'activité), relancent l'intérêt des stratégies de lutte microbiologique énoncées plus haut.

Ce chapitre a pour objet de préciser les caractéristiques des agents microbiens capables de réguler les populations d'insectes nuisibles et de dégager les contraintes et les perspectives des différentes méthodes de lutte microbiologique. En raison de la place prépondérante de *Bacillus thuringiensis* dans le marché des bio-insecticides, le problème de la résistance des insectes aux toxines de cette bactérie est particulièrement développé. Enfin, une analyse critique est menée sur l'utilisation des produits d'origine microbienne dans la gestion intégrée des systèmes de culture.

1. *Micro-organismes entomopathogènes et agents de lutte microbiologique*

Ce chapitre prendra en compte les bactéries, champignons, protozoaires et nématodes, à l'exclusion des virus qui sont traités par ailleurs.

1.1. Bactéries

Quoique de très nombreuses bactéries soient connues comme agents de maladies chroniques ou aiguës chez les insectes, la plupart de celles qui ont été développées comme agents de lutte appartiennent aux genres *Bacillus* (*Bacillaceae*) et *Serratia* (*Enterobacteriaceae*).

Bacillus thuringiensis est le micro-organisme le plus utilisé comme bio-insecticide. La raison de ce succès est triple : la rapidité de son mode d'action, la parfaite maîtrise de sa production à l'échelle industrielle, et la découverte de nouvelles souches permettant l'élargissement de son spectre d'activité.

B. thuringiensis est une bactérie gram-positive dont la particularité est de synthétiser, pendant la phase de sporulation, une inclusion cristalline composée de protéines spécifiques, les δ-endotoxines. Ces toxines présentent des propriétés insecticides élevées, alors que, par ailleurs, leur innocuité est remarquable. De plus, leur production est naturellement élevée avec des taux pouvant atteindre 30 % de la matière sèche de la culture sporulée. Les sous-espèces de *B. thuringiensis* ont été différenciées par diverses méthodes avec des tests biochimiques (profils d'estérases) et sérologiques (cristal et/ou flagelle), la production d'antibiotiques et l'identification de phages, notamment. Par la suite, la comparaison des séquences des acides

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Historique des faits marquants au cours du développement de la lutte microbiologique

Phase 1 – 1835-1935

Naissance des concepts et premières tentatives :

1835 – Invention du concept de l'origine microbienne des maladies par Agostino Bassi à partir de l'observation de la mycose « muscardine » provoquée par *Beauveria bassiana* chez *Bombyx mori*.

1874 – Invention du concept de « lutte microbiologique contre les insectes nuisibles » par Pasteur, en France et Le Conte aux États-Unis.

1879 – Premières applications du champignon *Metarhizium anisopliae* contre *Cleonus punctiventris* en Ukraine par Metschnikoff.

1901 – Découverte par Ishiwata de la bactérie agent de la maladie « Soto » du ver à soie (c'est-à-dire le futur *Bacillus thuringiensis : Bt.*).

1909 – Découverte d'un virus « ultrafiltrant », agent d'une maladie contagieuse chez *Lymantria monarcha* (Allemagne).

1911 – Isolement du bacille de Thuringe (*B. thuringiensis*) chez la teigne de la farine par Berliner.

1923 – Commercialisation d'une biopréparation entomopathogène à base de *Beauveria tenella* contre le hanneton commun par Le Moult.

1920-1935 – Nombreux échecs d'application (Steinhaus, 1963).

Phase 2 – 1935-1960

Introduction de germes exogènes :

1938-1941 – Introduction d'un baculovirus inféodé au *Diprion hercyniae* dans les forêts de l'Est canadien ; utilisation de *Bacillus popilliae* contre les vers blancs de *Popillia japonica* en Nouvelle Angleterre.

1945-1960 – Développement de la pathologie des insectes à l'université de Californie.

1958 – Première conférence internationale de pathologie des insectes et de lutte (micro-) biologique (Steinhaus, 1963).

Phase 3 – 1960-1970

Développement des biopréparations insecticides :

Prolifération des unités de production artisanales de baculovirus en Californie ; développement de la production industrielle (Abbott et Sandoz, principalement) de *B. thuringiensis* (Burges et Hussey, 1971).

Phase 4 – 1970-1975

Arrêt des applications « sauvages » et mise en place d'une réglementation :

Premières homologations de biopréparations virales à base du NPV d'*Heliothis zea* aux États-Unis (visa de l'EPA [*Environmental Protection Agency*, États-Unis] obtenu au bout de huit années) (Laird *et al.*, 1990).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Phase 5 – 1975-1980

Développement des bio-insecticides d'origine microbienne :

Étude et commercialisation de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* 3 ans après sa découverte (1978-1981), au lieu de 13 ans pour les premiers produits à base de *Bt.* var. *kurstaki*. (Burges, 1981).

Phase 6 – 1980-1985

Amélioration génétique des performances pathologiques ou toxémiques des germes entomopathogènes :

Développement du génie génétique appliqué à *B. thuringiensis* et aux baculovirus.

Découverte et exploitation de nouvelles souches de *B. thuringiensis* actives sur Diptères ou sur Coléoptères.

Développement de l'épizootiologie appliquée à la lutte microbiologique :

Dynamique des populations, épidémiologie, modélisation (Fuxa et Tanada, 1987 ; Flexner et Belnavis, 2000).

Phase 7 – 1985-1991

Diversification des cibles du génie génétique :

Transmission par transgénèse des propriétés insecticides de *B. thuringiensis* à d'autres organismes microbiens, tels que les baculovirus et aux plantes cultivées (OGM : organismes génétiquement modifiés).

Utilisation biotechnologique des baculovirus comme vecteurs d'expression de gènes hétérologues codant pour la synthèse de molécules d'intérêt pharmacologique (Gatehouse *et al.*, 1992).

Phase 8 – 1991-1995

Gestion de la résistance aux δ-endotoxines chez *B. thuringiensis*

(Tabashnik, 1994 ; Kennedy et Whalon, 1995 ; Gould, 1998).

Phase 9 – 1995-aujourd'hui

Génie moléculaire au regard du développement durable et contraintes de type « qualité et santé » :

Évaluation des risques phytosanitaires imputables aux traitements microbiologiques ; simulation-prévision et stratégies d'application de lutte microbiologique.

Vers une « gestion » des gènes ; vers une « agriculture durable » (IARCs, 1999 ; Gatehouse et Gatehouse, 2000 ; Shatters, 2000 ; Goettel et Hajek, 2001 ; Wajnberg *et al.*, 2001 ; Vacher *et al.*, 2003).

aminés des δ-endotoxines a permis de les classer, en fonction de leur degré de similarité, en une vingtaine de familles appelées Cry (Cry1, Cry2, etc.) elles-mêmes subdivisées en sous-familles (Cry1A, Cry1B, etc.) (Schnepf *et al.*, 1998 ; Crickmore *et al.*, 1998 ; 2004). Les δ-endotoxines Cry1 sont toxiques pour les Lépidoptères,

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

les Cry2 à la fois pour les Lépidoptères et les Diptères, les Cry3 pour les Coléoptères et les Cry4 pour les Diptères exclusivement. Aujourd'hui, plus d'une centaine de gènes de δ-endotoxines (gènes *cry*) ont été clonés et séquencés à partir de différentes souches de *B. thuringiensis* (Ellar, 1997 ; Sanchis *et al.*, 1999). Les δ-endotoxines agissent au niveau des cellules de l'épithélium intestinal des insectes sensibles, après que ces derniers ont ingéré des cristaux, en déclenchant une cascade d'événements qui conduisent à la mort de l'insecte en quelques heures. Ainsi, dans l'intestin des larves de Lépidoptères, elles subissent une protéolyse qui libère des fractions toxiques actives de plus petite taille (60-70 KD) capables de reconnaître des sites récepteurs au niveau de la surface membranaire des cellules épithéliales de l'intestin. Ensuite, il y a formation d'un pore dans la membrane et perturbation des échanges ioniques qui provoque une lyse cellulaire conduisant à la mort de l'insecte, ce processus toxémique pouvant être ou non associé à une septicémie due au développement des spores. À partir de la détermination de la structure tridimensionnelle de la molécule de la δ-endotoxine Cry3Aa, on a montré que le domaine composé de feuillets β détermine la spécificité de la toxine pour le récepteur de l'insecte, alors que le domaine composé d'hélices α est impliqué dans la formation des pores.

Trois autres *Bacillus* ont été développés, *B. popilliae popilliae* et *B. lentimorbus* strictement inféodés (parasites obligatoires) au hanneton japonais, *Popillia japonica*, d'une part et *B. sphaericus* pathogène de moustiques, d'autre part (Copping, 1998). L'entérobactérie (gram-négative, asporulée et anaérobie) *Serratia entomophila* est un agent microbien pathogène des vers blancs de *Costelytra zealandica* utilisé avec succès en prairies en Nouvelle-Zélande (Jackson *et al.*, 2000).

1.2. Champignons

Plus de 800 espèces, appartenant à tous les groupes majeurs de champignons ont été reconnues comme pathogènes d'insectes et/ou d'acariens. Ces micro-organismes se distinguent des autres agents de lutte microbiologique (virus, bactéries ou protozoaires) par leur mode d'infection transcutané, ne nécessitant pas l'ingestion des propagules infectieuses. À ce titre ils sont particulièrement bien adaptés pour lutter contre les insectes piqueurs suceurs tels que les aphides, les aleurodes ou les thrips (Lacey et Goettel, 1995).

Les entomophthorales (zygomycètes) sont bien connues car elles provoquent des épizooties spectaculaires dans les populations naturelles de pucerons et de divers Diptères. En général, ces champignons présentent des spectres d'hôtes étroits. Leur cycle est relativement complexe, impliquant au moins deux types de spores : les conidies (issues de multiplication asexuée) et les spores de résistance (multiplication asexuée ou sexuée suivant les espèces). Les conidies produites à la surface des cadavres sont fragiles et leur viabilité réduite, en l'absence d'insecte hôte sensible à proximité, elles germent pour former des conidies secondaires qui sont projetées à leur tour. Lorsque les conidies sont au contact du tégument de l'insecte sensible, l'infection est rapide, la sporulation sur le cadavre avec projection du nouvel ino-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

culum en trois ou quatre jours. Les spores de résistance (zygospores de type classique issues de la reproduction sexuée chez *Neozygites spp.*) présentent une épaisse paroi double, qui permet au champignon de survivre pendant plusieurs années dans le sol en l'absence d'hôte.

Parmi les espèces les plus remarquables, on peut citer : *Neozygites fresenii* inféodé aux pucerons, en particulier *Aphis gossypii*, *Entomophaga maimaiga* sur le Lépidoptère *Lymantria dispar*, *Entomophaga grylli* pathogène de criquets et de sautériaux, *Erynia neoaphidis* parasite des pucerons *Sitobion avenae* et *Acyrtosiphon pisum* et *Zoophthora infestans* pathogène de divers groupes d'insectes (Lépidoptères et Homoptères). La plupart de ces espèces sont cosmopolites, mais chacune d'elles regroupe des pathotypes distincts (Pell *et al.*, 2001). Ainsi, l'utilisation de marqueurs moléculaires (RAPD-PCR, *random amplification of polymorphism DNA-polymerase chain reaction,* et sondes ADN) a permis de montrer les potentialités de trois pathotypes de *E. grylli* en termes de degré de spécificité dans des populations plurispécifiques de sautériaux et d'agressivité relative au cours de la dynamique des populations d'une même espèce hôte (Bidochka, 2001). La production de masse de propagules infectieuses (conidies, fragments d'hyphes ou spores de résistance) reste la contrainte majeure pour le développement des entomophthorales comme bio-insecticides et, dans une moindre mesure pour leur utilisation en introduction (lutte biologique classique) ou en inoculation-augmentation (épizooties induites).

Les hyphomycètes (deutéromycètes) comprennent des espèces très cosmopolites, appartenant aux genres *Beauveria*, *Lecanicillium* (*Verticillium*) *Metarhizium*, *Paecilomyces*, *Nomuraea*, etc., qui sont inféodés à des hôtes représentatifs de la plupart des ordres d'insectes. Ils apparaissent très fréquemment à l'état endémique et ils provoquent des épizooties essentiellement dans les zones tropicales humides, dans les zones plus sèches en cultures irriguées ou dans le sol (Ferron *et al.*, 1991 ; Inglis *et al.*, 2001 ; Fargues, 2003). Le spectre d'hôtes des hyphomycètes est généralement plus large que celui des entomophthorales et des autres micro-organismes entomopathogènes, bien que l'on puisse distinguer un certain degré de sélectivité suivant les isolats fongiques et les espèces-hôtes considérés (Ferron *et al.*, 1991 ; Butt *et al.*, 2001).

Divers outils moléculaires (PCR-RFLP, *polymerase chain reaction-restriction fragment-lenth polymorphism*, PCR-RAPD, AFLP, *amplified fragment-length polymorphism*, sondes moléculaires, etc.) ont permis :

– de révéler l'étendue du polymorphisme de ces espèces fongiques ;
– d'étudier l'effet des pressions sélectives exercées par l'espèce hôte ;
– d'aborder divers aspects de la génétique de leurs populations, à partir de l'ADN total et de séquences particulières (ADN mitochondrial, séquences de l'ADN ribosomique, sondes télomériques, microsatellites, etc.) (Bridge *et al.*, 1998 ; Enkerli *et al.*, 2001).

Le déterminisme de la pathogénicité de ces champignons à l'égard de leurs hôtes est très polygénique et le programme le plus avancé a permis de cloner plusieurs

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

centaines de gènes impliqués dans le processus infectieux (dégradation de la cuticule) chez les souches de *Metarhizium anisopliae* et d'augmenter la virulence par surexpression du gène régulant la synthèse de la protéase Pr1 (Saint-Leger et Screen, 2001). La variabilité inter et intraspécifique de la tolérance aux contraintes environnementales de ces hyphomycètes a été longtemps sous-estimée (Fargues, 2003). Les programmes internationaux en lutte microbiologique antiacridienne ont néanmoins permis de montrer que des souches sub-sahéliennes de *M. anisopliae* var. *acridum* (*Metarhizium flavoviride pro parte*) étaient capables d'exercer leur activité pathogène à 32-35 °C et 13 % d'humidité relative, dans des conditions considérées, jusqu'à présent, rigoureusement incompatibles (Fargues *et al.*, 1997).

1.3. Protozoaires

Ces micro-organismes constituent un groupe très hétérogène, une gamme de relations allant du commensalisme au parasitisme strict. Les protozoaires entomopathogènes provoquent des maladies à développement lent, ce qui n'exclut pas un rôle important dans la régulation des populations hôtes. Par ailleurs, ce type d'infection induit une baisse significative du potentiel biotique (prise alimentaire, croissance, fécondité et longévité réduites) chez les insectes infectés (Tanada et Kaya, 1993).

1.4. Nématodes

Traditionnellement les nématodes entomophages sont considérés dans la rubrique lutte microbiologique car les contraintes techniques à leur développement sont du même ordre que celles rencontrées avec les micro-organismes. En revanche, ils s'en distinguent par le fait qu'ils ne nécessitent pas d'homologation pour être commercialisés. Les bio-insecticides à base de plusieurs espèces de nématodes entomophages appartenant aux genres *Steinernema* et *Heterorabditis*, sont très spécifiques et ils concernent essentiellement des insectes vivant dans le sol. Les nématodes pénètrent dans leurs hôtes par leurs orifices buccal et anal et par les spiracles, voire par effraction à travers la cuticule. À l'intérieur de l'insecte, le nématode relargue une bactérie symbiotique, qui colonise puis tue son hôte. Ces nématodes sont capables de rechercher activement leurs hôtes dans certains habitats, notamment en milieu édaphique.

2. *Méthodes de lutte microbiologique en protection des cultures*

2.1. Lutte biologique classique : introductions de micro-organismes exogènes

La stratégie de lutte biologique dite classique n'a concerné qu'une cinquantaine de micro-organismes, alors qu'elle a porté sur plus de 2 000 espèces d'insectes

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

auxiliaires, prédateurs et parasitoïdes (Goettel et Hajek, 2001). Néanmoins, l'introduction de micro-organismes entomopathogènes exotiques comme agents de régulation à long terme d'espèces nuisibles introduites elles-mêmes accidentellement, a connu des succès très spectaculaires dans des écosystèmes stables, comme les cultures pérennes et les forêts (Maddox *et al.*, 1992).

Récemment, l'introduction du baculovirus non inclus du Coléoptère *Oryctes rhinoceros,* ravageur majeur des palmiers à huile (en Asie du Sud-Ouest) et des cocotiers (dans de nombreuses îles du Pacifique) a permis de réguler les populations de cet insecte. Le succès de ce virus est imputable à sa persistance dans des populations–hôtes de densité faible grâce à son mode de dissémination par les insectes adultes malades qui inoculent les habitats larvaires et leurs congénères avec des fæces contaminés, riches en particules virales infectieuses (Zelazny *et al.*, 1992).

Suite à l'introduction accidentelle dans l'île de la Réunion en 1972-73, d'un ravageur de la canne à sucre originaire de Madagascar, *Hoplochelus marginalis*, une souche malgache du champignon hyphomycète, *Beauveria brongniartii*, a été utilisée avec succès sous forme d'une formulation granulée (Betel®) par traitement unique et pour un coût de 200 € par ha. La régulation des populations est due à la capacité du champignon à coloniser les sols infestés à partir des cadavres de vers blancs atteints de mycose (Vercambre *et al.*, 1993). La stratégie d'application, finalement adoptée, consiste à traiter les champs en plaçant dans le sillon de plantation un mélange d'insecticide à dose réduite (granulé de chloriphos-éthyl) et de 25 kg/ha de myco-insecticide formulé (B. Vercambre, communication personnelle). L'insecticide assure la régulation dès la première année, le champignon prenant le relais pendant la seconde année et assurant par la suite une régulation à long terme.

Les entomophthorales se prêtent bien aux stratégies d'inoculation en lutte biologique classique (Lacey *et al.*, 2001). Ainsi, le puceron, *Therioaphis trifolii*, découvert en Australie en 1977, s'étant révélé très rapidement très dangereux sur luzerne, une souche israélienne de *Zoophthora radicans* a été introduite en 1979. Le champignon s'est installé et répandu en quelques années à travers le New South Wales et le sud du Queensland. Aujourd'hui, *Z. radicans* provoque de fréquentes épizooties naturelles en été et en automne. Les populations précoces du puceron, à la fin du printemps, échappant à l'infection fongique, l'introduction du parasitoïde, *Trioxys complanatus*, a été développée avec succès comme mesure complémentaire.

2.2. Épizooties naturelles et protection des cultures

Les micro-organismes entomopathogènes peuvent assurer une régulation très efficace des populations nuisibles dans des agroécosystèmes fortement anthropisés. C'est le cas, par exemple, de certaines épizooties naturelles d'origines virales ou fongiques, qui sont souvent responsables de chutes spectaculaires des niveaux de populations d'insectes d'importance économique majeure. L'induction et le développement de ces épizooties naturelles sont fréquemment dépendants de la gestion du système de culture concerné. Dans le cas des épizooties naturelles à *Nomuraea rileyi* (hyphomycète) dans les populations d'*Anticarsia gemmatalis* (noctuelle)

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

sur soja en Floride (États-Unis), Kish et Allen (1978) ont construit un modèle prévisionnel de prévalence de la maladie, dont la sortie, au plan opérationnel, a été la mise au point d'un système d'avertissements agricoles portant sur des avis de non-traitement insecticide chimique, de manière à maintenir un niveau de population larvaire suffisant pour le développement de l'inoculum initial indispensable au déclenchement des épizooties.

Plus récemment, la prévision des épizooties à *Neozygites fresenii* (entomophthorale) dans les populations d'*Aphis gossypii* sur cultures de coton conduites en IPM (*integrated pest management*) dans le sud-ouest des États-Unis a été ramenée à la semaine. Les avertissements établis sur cette base ont permis une réduction très nette des applications chimiques (Steinkraus *et al.*, 1995).

Un micro-organisme présent dans l'agroécosystème et apte à provoquer des épizooties, peut néanmoins réguler les populations nuisibles trop tardivement, alors que le seuil de tolérance a été atteint voire dépassé. Cette situation a suscité l'élaboration d'une autre stratégie d'application fondée sur des traitements inoculatifs au moyen de micro-organismes indigènes. Ainsi, dans le cas du pathosystème *N. rileyi*, *A. gemmatalis* sur soja, au Missouri – Mississipi (États-Unis), où les conditions climatiques (humidité de l'air, précipitations, etc.) sont moins favorables à la mycose qu'en Floride (États-Unis), les traitements précoces ont permis de créer des foyers initiaux suffisants pour provoquer des épizooties au moment opportun pour assurer la protection de la culture (Ignoffo, 1981).

2.3. Traitements inondatifs : bio-insecticides d'origine microbienne

2.3.1. Bacillus thuringiensis (*Bt*)

Les premières homologations de produits à base de *Bt* datent des années 60 aux États-Unis et des années 70 en France. Aujourd'hui, *Bt* est le micro-organisme le plus utilisé comme bio-insecticide. Plusieurs sous-espèces de *B. thuringiensis* ont été homologuées et commercialisées en fonction des espèces nuisibles visées. La plupart des produits homologués pour lutter contre les Lépidoptères (plus de 100 espèces sensibles) sont basés sur la souche HD-1 de *B. thuringiensis subsp. karstaki* (*Btk*). *B. thuringiensis subsp. aizawai* (*Bta*) est utilisé pour réguler les espèces de Lépidoptères peu sensibles au *Btk* telles que la teigne du chou, *Plutella xylostella*, *B. thuringiensis subsp. israelensis* (*Bti*) contre les moustiques et les mouches noires, et *B. thuringiensis subsp. tenebrionis* (*Btb*) vise les chrysomèles, comme le doryphore, *Leptinotarsa decemlineata* (Copping, 1998 ; Shah et Goettel, 1999).

Avec un marché de 150 millions d'euros, les produits à base de *B. thuringiensis* représentent plus de 90 % du marché des biopesticides, mais par rapport au marché global des insecticides cela correspond à moins de 2 %.

Actuellement, *Bt* peut être considéré comme la pierre angulaire de la protection intégrée de certaines cultures maraîchères en Amérique du Nord. Marrone (1994) rapporte les principaux résultats du travail réalisé par Trumble de 1987 à 1993 en Californie (États-Unis) sur l'utilisation de *Bt* dans les programmes d'IPM en cultures maraîchères, avec :

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

– le bénéfice de l'utilisation en alternance du *Bt kurstaki* pour éliminer la résistance aux produits chimiques chez la mineuse *Liriomyza trifolii* ;

– la régulation des chenilles de noctuelles sans détruire les parasitoïdes des mineuses de feuilles ;

– la diminution de moitié du nombre des traitements contre les ravageurs du céleri en associant *Bt*, abamectine et methamidophos, entre autres. Trumble et Alvaro-Rodriguez (1993) ont développé un programme similaire sur la tomate au Mexique en utilisant en complémentarité du *Bt kurstaki*, de l'abamectine, des trichogrammes, des phéromones et de l'endosulfan, ce qui leur a permis de réduire de moitié le coût des traitements.

2.3.2. Hyphomycètes

Les espèces de champignons (une douzaine) qui ont fait ou font l'objet d'un développement en tant que myco-insecticides sont pour la plupart des hyphomycètes (Butt *et al.*, 2001).

Une formulation en microgranulés colonisés par un mycélium sporulant de *Beauveria bassiana* (souche Bb INRA147) (Ostrinil® de Calliope-NPP) est appliquée sur maïs pour réguler les populations larvaires de la pyrale avant leur pénétration à l'intérieur de la tige. En raison de l'architecture du couvert végétal du maïs, les granules se déposent à l'aisselle engainante des feuilles où se trouvent les jeunes chenilles. À ce niveau, le microclimat est particulièrement favorable à la sporulation des granules, au contact entre l'inoculum et les larves, ainsi qu'à l'infection fongique (Riba *et al.*, 1987).

La lutte contre le hanneton *Melolontha melolontha*, dans les zones alpines est orientée sur l'utilisation d'inoculums de *Beauveria brongniartii* appliqués suivant deux stratégies initialement proposées par Ferron *et al.* (1991) :

– la pulvérisation sur les hannetons adultes avec des formulations à base de blastospores ;

– l'injection, dans le sol des prairies infestées par les vers blancs, du champignon sporulé à la surface des grains d'orge, utilisés au préalable comme support de culture (Keller, 2000).

Plusieurs biopréparations fongiques sont proposées pour lutter contre les aleurodes en cultures maraîchères sous abri ou de plein champ : Vertalec® à base de *Lecanicillium* (*Verticillium*) *lecanii* d'origine britannique (Hall, 1981) produit et commercialisé en Europe par Koppert, PreFeRal® à partir de la souche Apopka 97 de *Paecilomyces fumosoroseus* produit par W.R. Grace, puis par Thermo Trilogy et diffusé en Europe par Biobest, et enfin, plusieurs spécilités à base de *Beauveria bassiana* comme Naturalis® de Troy Biosciences, Mycotrol® et Botanigard® de Mycotech.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

2.3.3. Microsporidies

En raison du spectre d'activité pathogène de *Nosema locustae* qui comprend une soixantaine d'espèces de sautériaux et de criquets, deux produits, le Nolo Bait® et le Semaspore Bait®, ont été homologués aux États-Unis pour lutter entre autres contre le criquet mormon (Flexner et Belnavis, 2000). Ces produits, comme leurs noms commerciaux l'indiquent, sont formulés avec du son qui sert d'appât pour les insectes visés. L'impact des applications *in situ* est très variable (Lacey et Goettel, 1995). La mortalité dans les populations traitées excède rarement 50 % et la proportion d'individus survivants infectés se situe autour de 35 à 50 % (Henry, 1981 ; Johnson, 1997). Néanmoins, ces produits continuent d'être utilisés dans l'Ouest des États-Unis en raison des effets secondaires de la maladie observés chez les adultes survivants dont l'activité et la prise de nourriture sont diminuées sensiblement (Johnson, 1997) et la fécondité réduite de 60 à 80 % (Copping, 1998).

2.3.4. Nématodes

Le coût élevé de production des bio-insecticides à base de *Steinernema* ou d'*Heterorabditis*, en réserve l'usage à la protection de cultures à forte valeur ajoutée (vigne, fraise, etc.) et à des marchés-niches (gazons, par exemple) (Smits, 1997). L'espèce *Steinernema carpocapsae* a été développée et commercialisée sous une dizaine de produits visant divers groupes d'insectes du sol tels que des termites, des larves de Coléoptères élatérides ou otiorhynches, en particulier l'espèce *Otiorhynchus sulcatus* (Klein, 1990). *Heterorabditis bacteriophora* est aussi actif contre *O. sulcatus*, mais son marché cible essentiellement la lutte contre les vers blancs du hanneton japonais (*Popillia japonica*) (Copping, 1998).

3. Résistance aux endotoxines de B. thuringiensis

3.1. Résistance aux δ-endotoxines et biotechnologie des bio-insecticides à base de *Bt*

Cinquante ans d'études théoriques et pratiques ont montré que l'augmentation du nombre d'individus résistants au fil des générations est pratiquement inévitable dans les populations exposées aux traitements chimiques. Les toxines de *Bt* induiront-elles des effets différents de ceux des pesticides chimiques ? Certains l'ont pensé, mais l'espoir s'est envolé en 1985 lorsque McGaughey a sélectionné, en laboratoire, une population de *Plodia interpunctella* résistante à une δ-endotoxine de *Bt* (McGauley, 1985). Depuis cette date, environ une quinzaine d'espèces d'insectes ont développé au laboratoire une résistance à une toxine de *Bt*. Toutefois, les cas rapportés dans la pratique phytosanitaire concernent essentiellement l'espèce *Plutella xylostella* dont plusieurs populations naturelles sont également devenues résistantes (de 200 à 1 000 fois) au champ. Les premières lignées résistantes connues de la teigne des crucifères ont ainsi été prélevées sur du cresson à Hawaï

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

(Tabashnik *et al.*, 1990). L'une avait subi 15 traitements de biopesticides à base de *B. thuringiensis* en 18 mois et l'autre entre 50 et 400 traitements de 1982 à 1989. À l'heure actuelle, *P. xylostella* est la seule espèce connue pour avoir développé des niveaux de résistance ayant entraîné une perte d'efficacité des traitements à base de *Bt in situ*.

Plusieurs stratégies de développement de bio-insecticides ont été exploitées pour éviter ou diminuer les risques de résistance (Tabashnik, 1994 ; Kennedy et Whalon, 1995). Parmi celles-ci, on peut citer :

– l'emploi de produits issus de souches modifiées par conjugaison pour optimiser leur activité toxique à l'égard d'une espèce cible majeure (cas du produit Condor® d'Ecogen, avec deux δ-endotoxines toxiques pour *Pseudoplusia includens*) ;

– le recours à des synergistes ou des formulations plus performantes, comme l'encapsulation dans des cellules de *Pseudomonas fluorescens* génétiquement modifiées (produits Mvp® et M-Trak® commercialisés par Mycogen, destinés à la lutte contre certains Lépidoptères et Coléoptères) ;

– l'établissement de rotations entre produits élaborés à partir de δ-endotoxines différentes ;

– l'aménagement de zones refuges non traitées, afin de préserver des foyers de populations sensibles, susceptibles de maintenir la fréquence des gènes de résistance à un niveau relativement faible.

3.2. Résistance aux δ-endotoxines et plantes transgéniques

Les problèmes de résistance risquent d'être exacerbés par le développement et la mise en place de cultures transgéniques produisant des toxines de *Bacillus thuringiensis*. En 2002, ces cultures qui, à plus de 90 %, étaient constituées de maïs et de « coton *Bt* », ont été plantées sur plus de 10 millions d'hectares (James, 2003). L'importance de ces surfaces et l'efficacité de ces plantes (les doses de toxines produites induisent la plupart du temps un taux de mortalité supérieur à 99 %) engendrent une intense sélection sur les populations des ravageurs cibles de ces toxines. Ces ravageurs sont des Lépidoptères : la pyrale du maïs *Ostrinia nubilalis* pour le « maïs *Bt* », le ver rose du cotonnier *Pectinophora gossypiella* et le ver du tabac *Heliothis virescens* pour le « coton *Bt* ». La liste des plantes transgéniques produisant des toxines de *B. thuringiensis* étant susceptible de s'allonger, les problèmes de résistance pourraient se généraliser et avoir des conséquences directes dans le cadre de la lutte biologique, notamment lorsque les ravageurs cibles des cultures transgéniques sont polyphages. En effet, les allèles de résistance aux toxines de *Bt* sélectionnés dans les parcelles de « cultures *Bt* » pourraient augmenter en fréquence dans les populations infestant d'autres cultures (par exemple des cultures maraîchères). Cette augmentation, liée à la migration d'individus résistants, diminuerait les chances de gérer la résistance aux toxines de *Bt* dans les populations de ce même ravageur se nourrissant de ces cultures refuges, dans la mesure où des traitements à l'aide de biopesticides y seraient effectués.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Plusieurs stratégies ont été proposées afin de ralentir la sélection des allèles de résistance (Gould, 1998). On peut construire des plantes transgéniques exprimant plusieurs toxines de *B. thuringiensis*, l'apparition d'insectes porteurs de tous les allèles de résistance nécessaires étant peu probable. Cependant, la stratégie la plus souvent évoquée propose de coupler des parcelles de « culture *Bt* » produisant une grande quantité de toxine avec des parcelles de plantes non transformées, qui constituent alors une zone « refuge » pour les ravageurs (Alstad et Andow, 1995). Connue sous le nom de « haute dose-refuge » (HDR), cette option n'est efficace que lorsque les « cultures *Bt* » produisent des doses de toxine suffisantes pour tuer non seulement les insectes homozygotes sensibles mais également l'ensemble des hétérozygotes. Si tel est le cas, seuls les homozygotes résistants pourront se développer. Lorsque la fréquence initiale des allèles de résistance est faible, seuls quelques très rares homozygotes résistants émergeront des parcelles transgéniques. Si la migration est suffisante, ils se croiseront probablement avec des individus sensibles issus des zones refuges. Leur descendance, composée exclusivement d'hétérozygotes, sera alors incapable de se développer sur les « cultures *Bt* » à la génération suivante, ce qui diminuera la fréquence de l'allèle de résistance. Les modèles théoriques montrent que cette stratégie est la plus efficace pour gérer la résistance aux toxines de *Bt* (Vacher *et al.*, 2003, 2004). Il est à noter que les ennemis naturels (prédateurs et parasitoïdes) de ces ravageurs peuvent également trouver refuge dans ces cultures ne produisant pas de toxines, ce qui limiterait les répercussions des « cultures *Bt* » sur la densité de ces auxiliaires (par des effets directs ou *via* la diminution des densités de ravageurs).

Aux États-Unis, la mise en place de ces zones refuges est devenue obligatoire en 2000. Dans les régions exemptes de cultures de cotonnier, telles que la « *Corn Belt* », les agriculteurs doivent semer au minimum 20 % des surfaces en maïs avec des semences conventionnelles. Dans les zones de culture de coton (sud des États-Unis), ces zones refuges doivent atteindre au minimum 50 % des surfaces semées en maïs. L'augmentation de la taille des zones refuges se justifie par la présence de *Helicoverpa zea* dont les larves se nourrissent à la fois sur le coton et le maïs. Comme des « cotonniers *Bt* » sont plantés dans ces régions, la culture de « maïs *Bt* » peut augmenter les risques de résistance, d'où la nécessité de préserver des zones refuges plus importantes. Les cultures de maïs conventionnels dans les zones refuges peuvent être traitées par des insecticides (à l'exclusion des formulations à base de toxines de *Bt*). En pratique, les traitements insecticides ne sont pas fréquents car ils sont souvent peu justifiés économiquement. Les refuges peuvent être disposés à l'intérieur ou à l'extérieur des parcelles transgéniques. Dans le premier cas, ils doivent être semés sur au moins quatre rangs consécutifs. Dans le deuxième cas, le refuge doit être situé à moins de 800 m des parcelles transgéniques.

Un point délicat est que les modèles théoriques démontrant l'efficacité de la stratégie HDR reposent sur des paramètres biologiques qui, pour certains ravageurs, n'ont encore jamais été mesurés. La pertinence de cette approche est donc dans une phase critique. La méthode HDR repose en effet sur trois conditions nécessaires : les allèles de résistance doivent être rares dans la population de ravageurs

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

avant l'introduction des plantes transgéniques ; les individus résistants provenant des « parcelles *Bt* » doivent pouvoir se croiser avec les individus issus des zones refuges ; enfin, la résistance doit être fonctionnellement récessive. À ce jour, seulement cinq estimations de fréquences alléliques ont été publiées. S'il est impossible d'en tirer des généralités, il apparaît que ces allèles ne sont pas forcément rares puisque leur fréquence peut dépasser 10 % pour certaines toxines (Tabashnik *et al.*, 1997). Les insectes résistants issus des parcelles de « plantes *Bt* » se croiseront-ils avec les individus sensibles provenant des zones refuges ? Autrement dit, les adultes peuvent-ils facilement migrer entre les deux zones de manière à assurer une reproduction aléatoire ? En général, les ravageurs actuellement cibles des toxines de *Bt* sont des papillons dont la mobilité semble suffisante pour assurer le croisement entre les papillons résistants issus des « cultures *Bt* » et leurs homologues sensibles provenant des refuges. Par exemple, Bourguet *et al.* (2000a) ont montré en France que la structure génétique des populations de la pyrale du maïs est stable au cours du temps et homogène sur une grande aire géographique Ces résultats suggèrent un intense flux génique et une forte migration des insectes entre les parcelles de maïs. Toutefois, la simple capacité migratoire n'est pas suffisante pour assurer le brassage des individus sensibles et résistants. Ainsi, Liu *et al.* (1999) ont montré que les larves de *P. gossypiella* résistantes au « coton *Bt* » se développent plus lentement que les larves sensibles. Ce développement asynchrone pourrait favoriser la reproduction des individus résistants entre eux, et donc une sélection plus rapide des allèles de résistance. Enfin, pour que la HDR soit effective, il faut que la résistance soit fonctionnellement récessive, ce qui signifie que les « cultures *Bt* » doivent tuer non seulement les individus sensibles, mais également les hétérozygotes. Cela dépend du niveau de résistance, de la dominance de la résistance et de la dose de toxine produite par ces cultures (Bourguet *et al.*, 2000b). Il est recommandé que cette dernière soit 25 fois supérieure à la dose nécessaire pour tuer l'ensemble des homozygotes sensibles d'une population. Toutefois, la concentration de toxine peut varier d'une plante transgénique à l'autre, et elle change au cours du développement de la plante. La question est donc de savoir si, lors d'infestations tardives, ces cultures produisent encore suffisamment de toxine pour tuer les hétérozygotes. De plus, le degré de dominance intrinsèque – indépendant de la dose de toxine – de la résistance varie beaucoup d'une espèce à l'autre, même s'il est généralement plutôt récessif (en pratique, la dominance ou la récessivité absolues n'existent pas). Il paraît donc difficile de s'assurer que la résistance est fonctionnellement récessive comme l'exige la HDR.

Ces trois conditions – faible fréquence initiale, brassage génétique et résistance fonctionnellement récessive – sont essentielles. Cependant, d'autres paramètres interviennent dans les modèles de gestion de la résistance aux pesticides. C'est le cas, par exemple, du « coût » de cette résistance pour les insectes : en l'absence de pesticides, elle peut induire une diminution de la valeur sélective des individus porteurs. Plusieurs auteurs ont rapporté un ralentissement du développement larvaire ou une diminution de la fertilité et de la fécondité chez les insectes résistants (Groeters *et al.*, 1994). Il est difficile de quantifier l'influence de ce phénomène sur l'évolution

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

de la résistance dans la population, mais il va incontestablement dans le sens d'une moindre sélection de ces individus et peut même, si la quantité de refuge est suffisante, prévenir l'évolution de la résistance.

Un autre paramètre à ne pas négliger est la présence de plusieurs races au sein de populations ravageurs cibles. C'est notamment le cas de la pyrale du maïs. Les populations de ce Lépidoptère se différencient en fonction de la composition de leurs phéromones et de leur sensibilité à la photopériode qui contrôle l'entrée en diapause. Il en résulte une réduction des échanges génétiques entre races, dont il faut tenir compte si l'on veut prédire l'évolution de la fréquence des allèles de résistance dans la population totale. De plus, ce papillon se développe sur de nombreuses plantes autres que le maïs comme, par exemple, le houblon, le fraisier ou l'armoise. Ces plantes hôtes pourraient constituer un réservoir d'individus sensibles et donc jouer le rôle de zone refuge, mais il n'est pas sûr que les individus vivant sur des espèces végétales différentes se croisent de manière aléatoire. Martel *et al.* (2003) ont ainsi montré que le flux de gène entre ces populations est probablement limité.

Enfin, la présence de bio-agresseurs peut également modifier les données du problème. Schuler *et al.* (1999) ont découvert que la guêpe, *Cotesia plutellae*, parasitoïde pondant ses œufs dans les larves de la teigne des crucifères, se développe dans des larves résistantes ayant consommé du colza transgénique. Plus intéressant, ils ont montré que lorsque des individus sensibles et résistants coexistent sur du colza transgénique, les guêpes parasitent préférentiellement les larves résistantes. En population naturelle, un tel comportement pourrait limiter la propagation des individus résistants. En revanche, les prédateurs des insectes ravageurs peuvent souffrir de la présence de toxine chez des proies résistantes, ce qui aurait l'effet inverse.

Il est à noter que pour les agriculteurs qui cultivent des « plantes *Bt* », les zones refuges présentent un intérêt seulement si une participation collective est assurée, dans la mesure où un agriculteur ne peut pas freiner seul l'apparition de résistances. De plus, si de nouvelles variétés résistantes sont disponibles à moyen terme, la mise en place des zones refuges n'est pas nécessairement dans l'intérêt des agriculteurs, même au niveau collectif, car elle leur impose des coûts à court terme.

4. *Biopesticides et programmes de protection intégrée*

4.1. Protection intégrée

Le développement des bio-insecticides microbiens s'inscrit ou devrait s'inscrire dans une approche systémique de la protection des cultures, afin de valider toute innovation en matière de protection dans le cadre du fonctionnement de l'ensemble de l'agroécosystème (Fargues, 2002 ; 2003) suivant les principes réaffirmés par l'Organisation internationale de lutte biologique/Section régionale ouest paléarctique (OILB/SROP) (Boller *et al.*, 1999).

La protection intégrée des cultures sous abris peut être considérée à ce titre comme un système modèle (*cf.* chapitre 28). En dépit d'un coût négligeable de la

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

protection des cultures sous serre par rapport au coût de revient total (2 % pour la tomate, moins de 1 % pour les cultures ornementales), la serre, de par son confinement, est un environnement privilégié pour développer des innovations techniques rentables et pour répondre à la demande des consommateurs en produits (légumes et fleurs) exempts de résidus pesticides (Van Lenteren, 2000). Sans entrer dans une analyse approfondie, on peut considérer que la protection intégrée de certaines cultures maraîchères, telles que la tomate, peut être assurée avec des moyens biologiques de lutte contre les arthropodes nuisibles et contre les maladies (*Botrytis* et oïdium, en particulier) en complément du développement de cultivars résistants.

Quinze produits microbiens sont homologués dans divers pays européens pour lutter contre les arthropodes nuisibles et les maladies en cultures légumières et ornementales sous serre, et trois nouveaux produits microbiens antifongiques sont en cours d'homologation. Sur tomate, une dizaine d'auxiliaires (*Encarsia*, *Eretmocerus* et *Macrolophus* contre les aleurodes, par exemple), trois micro-organismes entomopathogènes (*Lecanicillium* ou *Verticillium* et *Paecilomyces* contre les aleurodes et *B. thuringiensis* contre divers Lépidoptères) viennent compléter l'utilisation de cultivars résistants ou tolérants ainsi que des techniques culturales et des mesures de gestion climatique (Van Lenteren, 2000).

La protection intégrée des cultures légumières sous abris est donc très avancée. Ce constat doit néanmoins être nuancé suivant les zones climatiques considérées. S'il est valable pour l'Europe tempérée (90 % des cultures légumières sous serres aux Pays-Bas), il ne recouvre pas la situation réelle en zone méridionale. Dans l'arc méditerranéen, la pression des espèces nuisibles est très forte en raison de la présence des ravageurs dans l'environnement extérieur des abris et des opportunités pour ces insectes de pénétrer à l'intérieur de la serre par les ouvrants. Les situations de pullulations d'arthropodes nuisibles, en particulier des aleurodes, y sont donc plus fréquentes et surtout elles remettent en cause la régulation exercée par les insectes auxiliaires, ce qui a conduit au recours à des traitements microbiens de type myco-insecticides. Malgré une humidité de l'air faible, ces produits d'origine fongique se sont avérés efficaces en périodes printanières et estivales sous serre et sous tunnel plastique en zone méditerranéenne (Fargues *et al.*, 2003). En fait, le microclimat régnant dans la couche limite de la surface inférieure des feuilles de tomate, où vivent fixées les larves d'aleurodes, présente des humidités relatives au voisinage des stomates très supérieures aux humidités ambiantes de la serre, en raison de la transpiration du végétal (Boulard *et al.*, 2002).

4.2. Bio-insecticides et gestion des systèmes de culture : un hiatus ?

Van Lenteren (2000) estime que dans le courant de cette décennie la serre sans pesticides chimiques conventionnels sera une alternative réaliste, mais il serait très hasardeux de généraliser les perspectives établies sur cet agroécosystème très particulier. En effet, on peut s'interroger avec Dent (1997) en analysant la nature des travaux publiés, sur l'état de nos connaissances et sur la pertinence des démarches qui président dans les programmes de recherche et de développement en matière

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

d'insertion et d'évaluation des biopesticides microbiens en production intégrée. De fait, l'analyse des publications consacrées aux micro-organismes entomopathogènes de 1973 à 1996, tous sujets confondus, montre clairement que la plupart des recherches s'inscrivent dans une logique très autocentrée sur le développement des produits microbiens :

- isolement et caractérisation des souches ;
- essais pathologiques (virulence et spécificité) ;
- technologie de la production des propagules ;
- stockage ;
- technologie de la formulation ;
- stratégies d'application ;
- évaluation de l'efficacité au champ et commercialisation. L'intensification de la production scientifique au cours des années 90, correspond à la montée en puissance des travaux sur les manipulations génétiques.

En revanche, on note que la part relative des recherches orientées vers l'intégration des bio-insecticides microbiens dans des systèmes de production intégrée reste relativement faible et presque à niveau constant. Parallèlement, on constate qu'au cours des 20 dernières années :

- l'approche réductionniste s'est développée aux dépens des démarches intégratives et de l'approche systémique ;
- la recherche dite académique a privilégié systématiquement l'analyse des mécanismes à l'échelle moléculaire aux dépens de l'analyse des mécanismes à l'échelle populationnelle ;
- les recherches en écologie microbienne et en épizootiologie ont peu progressé ;
- le fossé entre disciplines dures et disciplines intégratives s'est accentué.

On peut aussi regretter que les récentes avancées en dynamique et en génétique des populations microbiennes entomopathogènes et dans l'élaboration d'outils performants de modélisation soient encore sous-exploitées (Carruthers et Smits, 1994 ; Fargues, 2002).

Heureusement, la forte demande sociale en matière de développement durable est de plus en plus prise en compte par les organismes de recherche et de développement publics et privés dans l'Union européenne, aux États-Unis et dans de nombreux autres pays (Lisansky, 1994 ; 1997). Depuis quelques années, le débat a été ouvert en laissant émerger des réflexions sur une recherche décloisonnée autour de projets transdisciplinaires élaborés en partenariat avec l'ensemble des acteurs techniques et socio-économiques concernés par la production intégrée des cultures. Il n'en reste pas moins que le développement des bio-insecticides microbiens nécessite de surmonter les contraintes du marché phytosanitaire (*cf.* chapitre 41).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Conclusion et perspectives

Il est encore trop tôt pour discerner quelles limites seront imposées à l'innovation biotechnologique sur la base du principe de précaution. Quel que soit le pays, les bio-insecticides microbiens utilisés en IPM sont encore pour une large part soit des micro-organismes naturels, soit des souches bactériennes transconjuguées, soit des souches génétiquement manipulées (*via* des mutations classiques), soit des virus recombinés ou des produits bactériens issus du génie génétique, mais inertes (Copping, 1998 ; Shah et Goettel, 1999). Depuis quelques années, la plupart des pays anglo-saxons, se sont clairement engagés, derrière les États-Unis, dans le développement des microbes génétiquement transformés et surtout des plantes transgéniques. La position de l'Union européenne (UE) est très en deçà de la politique américaine, car elle est partagée entre les pressions de son agro-industrie et une opinion publique de plus en plus hostile aux OGM (organismes génétiquement modifiés). Quoi qu'il en soit, en dehors des opérations de lutte biologique classique, les perspectives de développement des bio-insecticides microbiens, génétiquement modifiés ou pas, dépendront du succès de leur insertion dans des programmes de protection intégrée des cultures.

Les progrès concernant l'amélioration technologique des bio-insecticides sont constants (Harrison et Bonning, 2000), mais les programmes de recherche consacrés à leur intégration dans le fonctionnement des systèmes de culture sont insuffisants (Waage, 1997). Le décalage entre l'approche réductionniste des disciplines biologiques et l'approche holistique de disciplines intégratives est dénoncé depuis plusieurs années par les auteurs anglo-saxons (Ehler, 1998). Le développement des méthodes de lutte microbiologique dans la protection phytosanitaire ne repose plus seulement sur l'innovation technologique, mais il doit prendre en compte l'ensemble des contraintes agronomiques, environnementales et socio-économiques (Evans, 1997 ; Lacey *et al.*, 2001 ; Wanjberg *et al.*, 2001 ; Fargues, 2002). En raison des charges spécifiques à l'homologation des agents microbiens, l'effort du partenariat recherche-industrie dépend étroitement de la politique volontariste de la part des gouvernements et des institutions internationales, soucieux de soutenir les alternatives visant la qualité sanitaire et environnementale des productions dans un contexte d'agriculture durable.

Références bibliographiques

Alstad D., Andow, D.A. (1995). Managing the evolution of insect resistance to transgenic plants. *Science*, **268** : 1894-1896.

Bidochka M.J. (2001). Monitoring the fate of biocontrol fungi. *In* Butt T.M., Jackson C.W., Magan N. *Fungi as Biocontrol Agents. Progress, Problems and Potential.* CABI Publishing, Oxon, 193-218.

Boller E.F., El Titi A., Gendrier J.-P., Avilla J., Jörg E., Malavolta C. (1999) Integrated Production: Principles and Technical Guidelines. *IOBC/WPRS Bull*, **22** : 1-37.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Boulard T., Mermier M., Fargues J., Smits N., Rougier M., Roy J.-C. (2002). Tomato leaf boundary layer climate: implications for microbiological whitefly control in greenhouses. *Agric Forest Meteorol*, **110** : 159-176.

Bourguet D., Béthenod M.-T., Pasteur N., Viard, F. (2000a). Gene flow in the European corn borer *Ostrinia nubilalis*: implications for the sustainability of transgenic insecticidal maize. *Proc Roy Soc Lond B*, **267** : 117-122.

Bourguet D., Génissel A. Raymond M. (2000b). Insecticide resistance and dominance levels. *J Econ Entomol*, **93** : 1588-1595.

Bridge P., Couteaudier Y., Clarkson J. (1998). *Molecular Variability of Fungal Pathogens*. CAB International, Oxon.

Burges H.D., Hussey N.W. (1971). *Microbial Control of Insects and Mites*. Academic Press, London.

Burges H.D. (1981). *Microbial Control of Pests and Plant Diseases*. Academic Press, London.

Butt T.M., Jackson C., Magan N. (2001). *Fungi as Biocontrol Agents Progress, Problems and Potential*. CABI Publishing, Oxon.

Carruthers R.I., Smits N. (1994). Computer modelling of insect fungal pathogens: a functional approach to epizootiological modelling and more! VIth Intern. Coll Invertebr Pathol Microbiol Control Symp, New approaches in the study of entomogenous fungi, Montpellier, 316-324.

Copping L.G. (1998). *The Biopesticide Manual*. BCPC, Farnham, UK.

Crickmore N., Ziegler D.R., Feitelson J., Schnepf E., Van Rie J., Lereclus D., Baum J., Dean D.H. (1998). Revision of the nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* pesticidal crystal proteins. *Microbiol Mol Biol R*, **62** : 807-813.

Crickmore N., Ziegler D.R., Feitelson J., Schnepf E., Van Rie J., Lereclus D., Baum J., Dean D.H. (2004). *Bacillus thuringiensis* toxin nomenclature. http://www.biols.susx.ac.uk/home/Neil_Crickmore/Bt/

Dent D.R. (1997). Integrated pest management and microbial insecticides. *In* Evans H.F., *Microbial Insecticides: Novelty or Necessity? British Crop Protection Council Symposium*, **68** : 127-138.

Ehler L.E. (1998). Conservation biological control: past, present, and future. *In* Barbosa P., *Conservation Biological Control*; Academic Press, New York, 1-8.

Ellar D.J. (1997). The structure and function of *Bacillus thuringiensis* δ-endotoxins and prospects for biopesticide improvement. *In* Evans H.F. *Microbial Insecticides: Novelty or Necessity? British Crop Protection Council Symposium*, **68** : 83-100.

Enkerli J., Widmer F., Gessler C., Keller S. (2001). Strain specific microsatellite markers in the entomopathogenic fungus *Beauveria brongniartii*. *Mycol Res*, **102** : 250-256.

Evans H.F. (1997). *Microbial Insecticides: Novelty or Necessity?* British Crop Protection Council, Farnham, UK.

Fargues J. (2002). La lutte biologique avec des micro-organismes contre les insectes ravageurs des cultures : contraintes, bilan et perspectives. 2e Conférence Internationale Moyens alternatifs de lutte contre les organismes nuisibles aux végétaux. Lille, 49-61.

Fargues J. (2003). New Challenges for Fungal Bio-insecticides. *IOBC/WPRS Bull*, **26** : 9-20.

Fargues J., Ouedraogo A., Goettel M., Lomer C. (1997). Effect of temperature, humidity and inoculation method on susceptibility of *Schistocerca gregaria* to *Metarhizium flavoviride*. *Biocontrol Sci Techn*, **7** : 345-356.

Fargues J., Vidal C., Smits N., Rougier M., Boulard T., Mermier M., Nicot P., Reich P., Jeannequin B., Ridray G., Lagier J. (2003). Climatic factors on entomopathogenic hyphomycetes infection of *Trialeurodes vaporariorum* (*Homoptera: aleyrodidae*) in Mediterranean glasshouse tomato. *Biol Control*, **28** : 320-331.

Ferron P., Fargues J., Riba G. (1991). Fungi as microbial insecticides against pests. *In* Arora D.K., Ajello L., Mukerji K.G., *Handbook of Applied Mycology*, Marcel Dekker Inc, New York, Vol 2, 665-706.

Flexner J.L., Belnavis D.L. (2000). Microbial insecticides. *In* Rechcigl J.E., Rechcigl N.A., *Biological and Biotechnological Control of Insect Pests*, Lewis Publishers, Boca Raton, 35-62.

Fuxa J.R., Tanada Y. (1987). *Epizootiology of Insect Diseases*. John Wiley & Sons, New York.

Gatehouse A., Hilder V., Boulter D. (1992). *Plant Genetic Manipulation for Crop Protection*. CAB International, Oxon.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Gatehouse J.A., Gatehouse A.M.R. (2000). Genetic engineering of plants for insect resistance. *In* Rechcigl J.E., Rechcigl N.A. *Biological and Biotechnological Control of Insect Pests*, Lewis Publishers, Boca Raton, 211-241.

Gelernter W.D. (1997). Resistance to microbial insecticides: the scale of the problem and how to manage it. *In* Evans H.F., *Microbial Insecticides · Novelty or Necessity? British Crop Protection Council Symposium*, **68** : 201-212.

Goettel M.S., Hajek A.E. (2001). Evaluation of non-target effects of pathogens used for management of arthropods. *In* Wajnberg E., Scott J.K., Quimby P.C., *Evaluating Indirect Ecological Effects of Biological Control*, CAB International Publishing, 81-97.

Gould F. (1998). Sustainability of transgenic insecticidal cultivars: integrating pest genetics and ecology. *Annu Rev Entomol*, **43** : 701-726.

Groeters F., Tabashnik B.E., Finson N., Johnson M. (1994). Fitness costs of resistance to *Bacillus thuringiensis* in the diamondback moth (*Plutella Xylostella*). *Evolution*, **48** : 197-201.

Hall R.A. (1981). The fungus *Verticillium lecanii* as a microbial insecticide against aphids and scales. *In* Burges H.D., *Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980*, Academic Press, London, 483-498.

Harrison R.L., Bonning B.C. (2000). Genetic engineering of biocontrol agents for insects. *In* Rechcigl J.E., Rechcigl N.A., *Biological and Biotechnological Control of Insect Pests*, Lewis Publishers, Boca Raton, 243-280.

Henry J.E. (1981). Natural and applied control of insects by Protozoa. *Annu Rev Entomol*, 26 : 49-73.

IARC (1999). *Microbial control in sustainable pest management. Beneficial Microorganisms Tasf Force. An initiative of the System-Wide Program on Integrated Pest Problems.* International Agricultural Research Centers, Washington, D.C.

Ignoffo C.M. (1981). The fungus *Nomuraea rileyi* as a microbial insecticide. *In* Burges H.D., *Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980*, Academic Press, London, 513-538.

Inglis G.D., Goettel M.S., Butt T.M., Strasser H. (2001). Use of hyphomycetous fungi for managing insect pests. *In* Butt T.M., Jackson C.W., Magan N., *Fungi as Biocontrol Agents. Progress, Problems and Potential.* CABI Publishing, Oxon, 23-69.

Jackson T.A., Alves S.B., Pereira R.M. (2000). Success in biological control of soil-dwelling insects by pathogens and nematodes, *In* Gurr G., Wratten S., *Biological Control: Measures of Success*, Kluwer Academic Publ, Dordrecht, 271-296.

James C. (2003). Global status of commercialized transgenic crops: 2002. *In* ISAAA Briefs vol 27 Preview. ISAAA Ithaca, NY.

Johnson D.L. (1997). Nosematidae and other Protozoa as agents for control of grasshoppers and locusts: Current status and prospects, *In* Goettel M.S., Johnson D.L., *Microbial Control of Grasshoppers and Locusts, Mem Entomol Soc Can*, **171** : 375-389.

Keller S. (2000). Use of *Beauveria brongniartii* in Switzerland and its acceptance by farmers. *IOBC/WPRS Bull*, **23** : 67-71.

Kennedy G.G., Whalon M.E. (1995). Managing pest resistance *to Bacillus thuringiensis* endotoxins: Constraints and incentives to implementation. *Environ Entomol*, **88** : 454-460.

Kish L.P., Allen G.E. (1978). The biology and ecology of *Nomuraea rileyi* and a program for predicting its incidence on *Anticarsia gemmatalis* in soybean. *IFAS Univ Florida, Tech Bull*, **795**, 48 p.

Klein M.G.(1990). Efficacy against soil-inhabiting pests. *In* Gaugler R., Kaya H.K., *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control*, CRC Press, Boca Raton, 195-214.

Lacey L., Goettel M.S. (1995). Current developments in microbial control of insect pests and prospects for the early 21st century. *Entomophaga*, **40** : 3-27.

Lacey L.A., Frutos R., Kaya H.K., Vail P. (2001). Insect pathogens as biological control agents: do they have a future? *Biol Control*, **40** : 3-27.

Laird M., Lacey L.A., Davidson E.W. (1990). *Safety of Microbial Insecticides*. CRC Press, Boca Raton.

Lisansky S.G. (1994). The potential for biopesticides. *In* Monsour C.J., Reid S., Teakle R.E., *Biopesticides · Opportunities for Australian Industry?* 1st Brisbane Symposium, 1-7.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Lisansky S. (1997) Microbial insecticides. *In* Evans H.G., *Microbial Insecticides. Novelty or Necessity? British Crop Protection Council Symposium*, **68** : 3-10.

Liu Y.B., Tabashnik B.E., Dennehy T.J., Patin A.L., Bartlett A.C. (1999). Development time and resistance to *Bt* crops. *Nature*, **400** : 519.

Maddox J.V., Mcmanus M.L., Jeffords M.R., Webb R.E. (1992). Exotic insect pathogens as classical biological control agents with an emphasis on regulatory considerations. *In* Kauffman W.C., Nechols J.E. *Selection Criteria and Ecological Consequences of Importing Natural Enemies*, Thomas Say Publ & Entomol Soc Am, Lanham, MD, 27-29.

Martel C., Réjasse A., Rousset F., Bethenod M.T., Bourguet D. (2003). Host-plant associated genetic differentiation in Northern French populations of the European corn borer. *Heredity*, **90** : 141-149.

Marrone P.G. (1994). Present and future use of *Bacillus thuringiensis* in Integrated Pest Management system: an industrial perspective. *Biocontrol Sci Techn*, **4** : 517-526.

McGaughey W.H. (1985). Insect resistance to the biological insecticide *Bacillus thuringiensis*. *Science*, **229** : 193-195.

Pell J.K., Eilenberg J., Hajek A.E, Steinkraus D.C. (2001). Biology, ecology and pest management potential of Entomophthorales. *In* Butt T.M., Jackson C.W., Magan N., *Fungi as Biocontrol Agents. Progress, Problems and Potential*, CABI Publ. Oxon, 71-153.

Riba G., Gheng-Foung H., Goussard J. (1987). Perspectives d'utilisation de l'hyphomycète *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill contre la pyrale du maïs. *Intern. Conf. on Pests in Agriculture, ANPP*, Paris, 199-209.

Saint Leger R.J., Screen S. (2001). Prospects for strain improvement of fungal pathogens of insects and weeds. *In* Butt T.M., Jackson C.W., Magan N., *Fungi as Biocontrol Agents. Progress, Problems and Potential*, CABI Publishing, Oxon, 219-237.

Sanchis V., Chaufaux J., Lereclus D. (1999). Amélioration biotechnologique de *Bacillus thuringiensis* : les enjeux et les risques. *Les dossiers de l'Environnement de l'INRA*, **19** : 71-86.

Schnepf E., Crickmore N., Van Rie J., Lereclus D., Baum J., Feitelson J., Ziegler D.R., Dean D.H. (1998). *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal proteins. *Microbiol Mol Biol Rev*, **62** : 775-806.

Schuler T.H., Poppy G.M., Kerry B.R., Denholm I. (1999). Potential side effects of insect-resistant transgenic plants on arthropod natural enemies. *Trends Biotechnol*, **17** : 210- 216

Shah P.A., Goettel M. (1999). *Directory of Microbial Control Products and Services*. Soc Invertebr Pathol, Gainesville, Florida, USA. www.sipweb.org/directorymcp/directory.htm

Shatters R.G. (2000) Environmental impact of biotechnology. *In* Rechcigl J.E., Rechcigl N.A., *Biological and Biotechnological Control of Insect Pests*, Lewis Publishers, Boca Raton, 281-302.

Silvy C., Riba G. (1999). Biopesticides contre maladies, insectes, mauvaises herbes. *Les dossiers de l'Environnement de l'INRA*, **19** : 157-201.

Smits P.H. (1997). Insect pathogens: their suitability as biopesticides. *In* Evans H.F., *Microbial Insecticides: Novelty or Necessity? British Crop Protection Council Symposium*, **68** : 21-28.

Steinhaus E.A. (1963). *Insect Pathology. An Advanced Treatise*. Academic Press, New York.

Steinkraus D.C., Hollingsworth R.G., Slaymaker P.H. (1995) Prevalence of *Neozygites fresenii* (Entomophthorales : *Neozygitaceae*) on cotton aphids (*Homoptera: Aphididae*) in Arkansas cotton. *Environ Entomol*, **24** : 465-474.

Tabashnik B.E. (1994). Evolution of resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annu Rev Entomol*, **39** : 47-79.

Tabashnik B.E. (1998). Transgenic crops for the Pacific Badin: prospects and problems. *In* Zalucki M.P., Drew R.A.I., White G.G., *Pest Management-Future Challenges*, Sixth Australian Applied Entomological Research Conference, Brisbane, Australia, AAERC, 161-168.

Tabashnik B.E., Cushing N.L., Finson N., Johnson M.W. (1990). Field development of resistance to *Bacillus thuringiensis* in diamondback moth (*Lepidoptera*: *Plutellidae*). *J Econ Entomol*, **83** : 1671-1676.

Tabashnik B.E., Liu Y.B., Finson N., Masson L., Heckel D. (1997). One gene in diamondback moth confers resistance to four *Bacillus thuringiensis* toxins. *Proc Natl Acad Sci USA*, **94** : 1640-1644.

Tanada Y., Kaya H.K. (1993). *Insect Pathology*, Academic Press, San Diego.

Trumble J.T., Alvaro-Rodriguez B. (1993). Development and economic evaluation of an IPM program for fresh market tomato production in Mexico. *Agric Ecosyst Environ*, **43** : 267-284.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Vacher C., Bourguet D., Rousset F., Chevillon C., Hochberg M. (2003). Modelling the spatial configuration of refuges for a sustainable control of pests: a case study of *Bt* cotton. *J Evolution Biol*, **16** : 378-387.

Vacher C., Bourguet D., Rousset F., Chevillon C., Hochberg M. (2004). High dose refuge strategies and genetically modified crops – reply to Tabashnik *et al.*, *J Evolution Biol*, **17** : 913-918.

Van Lenteren J.-C. (2000). A greenhouse without pesticides: fact or fantasy? *Crop Prot*, **19** : 375-384.

Vercambre B., Goebel O., Neuveglise C., Desgranges C., Robert P.-H., Riba G. (1993). Lutte biologique contre *Hoplochelus marginalis* (*Coleopt. Melolonthinae*) à l'aide de *Beauveria brongniartii* (*Deuteromycotina*: *Hyphomycète*). ANPP III[rd] International Conférence. Pest in Agriculture, Montpellier, 167-174.

Waage J.K. (1997). Biopesticides at the crossroads: IPM products or chemical clones?. *In* Evans H.F., *Microbial Insecticides: Novelty or Necessity? British Crop Protection Council Symposium*, **68** : 201-212.

Wajnberg E., Scott J.K., Quimby P.C. (2001). *Evaluating Indirect Ecological Effect of Biological Control*, CABI Publishing, Oxon

Zelazny B., Lolng A., Pattang B. (1992). *Oryctes rhinoceros* (*Coleoptera: Scarabaeidae*) populations suppressed by a baculovirus. *J Invertebr Pathol*, **59** : 61-68.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

26

Maîtrise des communautés microbiennes pour lutter contre les maladies d'origine tellurique

Claude Alabouvette, Chantal Olivain,
Christian Steinberg

Les maladies provoquées par des organismes d'origine tellurique, c'est-à-dire par des organismes qui vivent dans le sol et pénètrent dans la plante au niveau des organes souterrains, provoquent des dégâts importants dans de nombreuses cultures. L'importance de ces dégâts est difficile à chiffrer car le diagnostic de ces maladies est rendu délicat par le fait que nous n'avons pas un accès direct aux organes souterrains des plantes et que les symptômes de fonte de semis, de jaunissement, de flétrissement de la plante peuvent avoir des causes multiples. La fréquence accrue de ces maladies, relevée par de nombreux observateurs, est certainement une conséquence de l'intensification de la production agricole et de la simplification des techniques culturales.

Au cours des années 60-70, les agronomes considéraient le sol comme le support dans lequel la plante prenait appui, les racines y puisant l'eau et les éléments minéraux indispensables à leur croissance. Les techniques de travail du sol et de fertilisation visaient donc uniquement à favoriser une bonne alimentation de la plante. Dans le cas des cultures maraîchères, cette conception du sol « support de culture » a conduit au développement de cultures dites « hors-sol » qui permettent grâce à la ferti-irrigation de satisfaire les besoins nutritifs de plantes n'explorant qu'un volume très limité de substrat d'origine organique, minéral ou synthétique. Un des principaux arguments pour promouvoir ces techniques de culture « hors-sol » était l'absence de contact direct entre le système racinaire des plantes et le sol infesté permettant ainsi d'éliminer les dégâts causés par les maladies d'origine tellurique.

Cette approche ne prenait pas en considération le sol, milieu vivant, hébergeant non seulement des agents pathogènes mais aussi de très nombreuses populations microbiennes aux effets bénéfiques pour les cultures. Il est rapidement apparu qu'en absence d'une microflore saprophyte jouant le rôle de tampon microbien, ces subs-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

trats de culture peuvent être rapidement infestés par des champignons pathogènes tels que *Pythium spp.* ou *Fusarium oxysporum* qui se généralisent rapidement à l'ensemble de la culture. Il est donc nécessaire de mettre en œuvre des méthodes de lutte contre les maladies d'origine tellurique, même en culture « hors-sol ».

Dans les cultures en sol, la lutte contre les maladies d'origine tellurique repose essentiellement sur des méthodes de désinfection du sol à l'aide de fumigants extrêmement toxiques tels le bromure de méthyle dont l'usage, proscrit par le protocole de Montréal, devait être totalement interdit au 31 décembre 2004. Ce type de désinfection présente l'inconvénient majeur de détruire indistinctement les organismes pathogènes et la microflore saprophyte qui comprend des micro-organismes antagonistes des agents pathogènes. La destruction de cette microflore saprophyte favorise une recolonisation rapide par les agents pathogènes des sols désinfectés . Une nouvelle désinfection est donc nécessaire avant chaque culture ce qui contribue à un déséquilibre de plus en plus poussé des communautés microbiennes des sols.

Le rôle bénéfique de la microflore saprophyte des sols a été clairement mis en évidence grâce à l'étude de sols résistants aux maladies d'origine tellurique c'est-à-dire de sols qui s'opposent à la manifestation de certains agents pathogènes pourtant présents dans ces sols. L'existence de ces sols résistants prouve que la lutte biologique se manifeste naturellement dans certaines situations et la compréhension des mécanismes de résistance des sols doit permettre de proposer des moyens de lutte faisant appel à des micro-organismes antagonistes, spécifiques ou non, des agents pathogènes à combattre.

Dans ce chapitre, après avoir présenté les concepts de potentiel infectieux et de résistance des sols aux maladies d'origine tellurique, nous décrirons les principaux mécanismes de l'antagonisme microbien puis nous présenterons quelques moyens d'intervention consistant soit à introduire des populations antagonistes spécifiques soit à stimuler les populations antagonistes autochtones pour lutter contre les maladies d'origine tellurique.

1. *Concepts de potentiel infectieux et de réceptivité des sols aux maladies d'origine tellurique*

Une maladie résulte de l'interaction entre une population de plantes et une population d'agents pathogènes ; mais cette interaction n'est pas indépendante des facteurs climatiques et environnementaux et en particulier de l'environnement du sol qui joue un rôle prépondérant dans le cas des maladies d'origine tellurique. Louvet (1973) fut le premier à proposer une formule résumant les principaux facteurs conditionnant la gravité d'une maladie d'origine tellurique. Selon cette formule, la gravité d'une maladie résulte de l'interaction entre le potentiel infectieux du sol et la réceptivité de la culture à la maladie.

La réceptivité de la culture tient compte de la sensibilité de l'espèce végétale ou de la variété cultivée à l'agent pathogène considéré et de l'ensemble des facteurs climatiques et culturaux qui modulent cette sensibilité de la plante.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Mais dans le cadre de ce chapitre nous insisterons sur le premier terme de cette équation, à savoir le potentiel infectieux du sol. La notion de potentiel infectieux du sol découle de l'idée qu'il n'est pas possible de dissocier l'inoculum du sol qui l'héberge. La définition proposée par Bouhot (1979) est la suivante : « *le potentiel infectieux d'un sol infesté par un agent pathogène est la quantité d'énergie pathogène stockée et disponible dans le sol* ». Cette définition découle de la définition du potentiel infectieux de Garrett (1970) à savoir : « *le potentiel infectieux est l'énergie de croissance d'un champignon parasite disponible à la surface de l'organe de l'hôte à infecter* ». Ces deux définitions indiquent clairement que la capacité d'un agent pathogène à induire la maladie n'est pas seulement fonction de sa densité mais aussi de ses capacités physiologiques à infecter l'hôte, elles-même conditionnées par les facteurs de l'environnement. C'est pourquoi Louvet (1973) a proposé une formule développée selon laquelle le potentiel infectieux du sol résulte de l'interaction entre la densité de l'inoculum exprimée en nombre de propagules par millilitre de sol, les capacités infectieuses de cet inoculum et les effets de l'environnement sol sur l'inoculum, c'est-à-dire sur la densité et/ou les capacités infectieuses de l'inoculum. En d'autres termes, pour qu'une maladie d'origine tellurique se manifeste, il faut que l'agent pathogène soit présent dans le sol à une certaine densité, qu'il possède des capacités infectieuses vis-à-vis de l'hôte et que l'environnement sol permette l'expression de ses capacités infectieuses. Dès lors qu'un des facteurs fait défaut, la maladie ne se manifeste pas.

La réceptivité d'un sol se définit comme « *la capacité du sol à permettre l'installation, le développement et la conservation de l'agent infectieux ainsi que l'expression de son pouvoir pathogène sur une population de plantes-hôtes sensibles* » (Alabouvette *et al.*, 1982). Cette définition a le mérite de préciser que l'environnement peut agir soit sur la phase saprophytique de l'inoculum soit sur sa phase parasitaire.

Ce cadre théorique étant tracé nous allons, grâce à des exemples tirés de l'étude des sols résistants aux maladies, illustrer le rôle de chacun de ces facteurs dans la gravité de la maladie.

2. *Les sols résistants aux maladies*

2.1. Mise en évidence de la résistance des sols

La réceptivité des sols aux maladies, telle qu'elle a été définie ci-dessus, décrit un gradient de comportement qui va des sols sensibles, dans lesquels une faible densité d'inoculum suffit à induire la maladie, aux sols résistants dans lesquels même une forte densité d'inoculum pathogène est incapable de provoquer la maladie (Alabouvette, 1990). D'ailleurs, la méthode expérimentale la plus simple pour apprécier la réceptivité d'un sol à une maladie consiste à infester artificiellement le sol avec des concentrations croissantes d'un inoculum virulent, à cultiver une plante-hôte sensible dans des conditions standardisées, puis à suivre l'évolution

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

de la maladie au cours du temps. Ce sont bien sûr les sols résistants qui ont retenu l'attention des chercheurs.

De nombreux exemples de sols résistants à certaines maladies d'origine tellurique ont été décrits, et rares sont les maladies pour lesquelles aucun exemple de sol résistant n'a été rapporté. Cependant, les exemples les plus étudiés concernent le piétin échaudage des céréales et les fusarioses vasculaires qui représentent chacun un type caractéristique de résistance. D'après Baker et Cook (1974), on distingue plusieurs types de sols résistants : ceux dans lesquels l'agent pathogène ne peut s'installer, ceux dans lesquels il s'installe mais ne provoque pas de maladie et ceux dans lesquels il s'installe, provoque la maladie, mais l'intensité de celle-ci diminue progressivement avec la répétition des cultures sensibles. Dans le premier cas, on peut parler de sol résistant à l'agent pathogène puisque le sol ne permet pas son développement saprophytique, les deux autres cas illustrent des sols résistants à la maladie puisque celle-ci ne se manifeste pas malgré la présence d'un inoculum pathogène. La recherche des mécanismes, par lesquels les sols résistants inhibent l'expression de la maladie, a été initiée dans l'espoir d'être capable de reproduire ces mécanismes dans des sols sensibles et ainsi de lutter contre ces maladies par induction de résistance des sols.

D'un point de vue théorique le sol peut interagir avec l'agent pathogène et la plante soit à travers ses caractéristiques physicochimiques, soit à travers ses caractéristiques biologiques. Mais dans la grande majorité des exemples étudiés, ce sont les facteurs biotiques qui contribuent le plus à la résistance des sols aux maladies. En effet, la désinfection des sols résistants les rend sensibles. Généralement une désinfection ménagée de quelques 15 à 30 minutes à 60 °C suffit à rendre sensible un sol résistant. La nature microbiologique de la résistance est confirmée par le fait qu'il suffit de réintroduire un faible pourcentage de sol résistant dans le sol désinfecté pour rétablir la résistance (Louvet *et al.*, 1976).

Il existe cependant quelques exemples démontrant le rôle des caractéristiques physicochimiques dans la résistance des sols. Il est ainsi bien connu que les valeurs élevées de pH ne permettent pas l'expression de la hernie des crucifères ou que les sols riches en argiles de type « smectites » s'opposent à l'expression du flétrissement bactérien des Solanacées. Même lorsque la résistance est de nature microbiologique, il est clair que les caractéristiques abiotiques jouent un rôle indirect car elles contrôlent la structure et l'activité des communautés microbiennes (Alabouvette *et al.*, 1996a).

2.2. Micro-organismes et mécanismes responsables de la résistance des sols

Ayant démontré que la résistance est de nature microbiologique, les chercheurs ont tenté d'identifier les micro-organismes et de caractériser les mécanismes responsables de cette résistance. Étant dans l'incapacité de comparer de manière exhaustive la microflore d'un sol résistant à celle d'un sol sensible, ces travaux ont fait appel à des hypothèses *a priori* et à des méthodes empiriques pour les valider.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Ainsi, Scher et Baker (1980) ont enfoui dans un sol résistant des « galettes » de mycélium de *Fusarium oxysporum* pour piéger les micro-organismes antagonistes responsables de la résistance du sol. C'est ainsi qu'ils ont isolé des *Pseudomonas spp.* appartenant au groupe des *Pseudomonas* fluorescents, *Pseudomonas* qu'ils ont introduits dans un sol sensible pour démontrer leur capacité à rendre un sol résistant aux fusarioses.

Rouxel *et al.* (1979), surpris par l'abondance des *Fusarium oxysporum* et *F. solani* dans les sols résistants de Châteaurenard, ont formulé l'hypothèse *a priori* du rôle de ces populations dans la résistance des sols aux fusarioses vasculaires. Ils ont alors infesté artificiellement le sol préalablement désinfecté avec des souches de ces espèces pour démontrer que celles-ci permettaient de rétablir la résistance dans le sol désinfecté. Ce type d'expérimentation qui permet de conclure à la capacité antagoniste d'un micro-organisme introduit dans un sol désinfecté, ne permet pas de conclure à l'implication de ces micro-organismes dans les mécanismes de résistance des sols. Ainsi, plusieurs espèces microbiennes différentes isolées d'un même sol peuvent présenter des activités antagonistes vis-à-vis d'un même agent pathogène, et il est impossible de connaître leur rôle réel dans la résistance naturelle du sol dont elles ont été isolées. Deux exemples classiques permettent d'illustrer cette complexité. Baker aux États-Unis (1974) et Alabouvette en France (Alabouvette *et al.*, 1996b) attribuaient respectivement aux *Pseudomonas* fluorescents et aux *Fusarium oxysporum* non pathogènes la résistance des sols aux fusarioses vasculaires. Des travaux ultérieurs ont permis, à chacune de ces équipes, de montrer que les deux populations étudiées co-existaient dans les sols résistants et contribuaient ensemble à la résistance des sols (Park, 1988). L'autre exemple est celui des sols résistants au piétin échaudage des céréales connu sous le terme anglo-saxon de « *take all decline* ». Ce sont successivement des populations hypovirulentes de *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, de *Phialophora spp.*, d'amibes mycophages, et enfin de *Pseudomonas* fluorescents qui se sont vues attribuer un rôle dans la résistance de ces sols (Hornby, 1979).

Aujourd'hui, grâce aux progrès des techniques de biologie moléculaire, d'autres approches sont possibles ; elles permettent de caractériser, sans *a priori*, la structure des communautés microbiennes des sols et de mettre en corrélation l'existence de certaines populations avec la résistance des sols. Mais ce type d'approche moderne n'enlève rien à la complexité des sols résistants et on peut affirmer que, quel que soit le rôle démontré d'une population microbienne donnée, la résistance naturelle des sols résulte toujours de mécanismes complexes et repose sur l'activité complémentaire de plusieurs populations de micro-organismes. Dans un milieu aussi complexe que le sol, l'activité d'une population antagoniste donnée est forcément influencée par l'activité des autres communautés microbiennes.

Cook et Baker (1983) ont ainsi défini les notions de résistance générale et de résistance spécifique des sols aux maladies.

La résistance générale résulte de l'activité globale de la microflore s'exprimant à un moment critique du cycle de développement de l'agent pathogène. Cette résistance générale est due, au moins pour partie, à la compétition trophique intense qui

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

règne dans les sols et qui conditionne la fongistase. La fongistase désigne le phénomène d'inhibition de la germination des spores de champignon dans le sol alors qu'apparemment toutes les conditions sont favorables à cette germination. Lockwood (1981) a démontré que cette inhibition de la germination est en partie due à la compétition trophique exercée par les autres organismes du sol. Ce dernier est un milieu oligotrophe dans lequel les éléments indispensables à la croissance des micro-organismes sont toujours en quantité limitée. Alabouvette *et al.* (1985) ont ainsi montré que la fongistase s'exprime avec beaucoup plus d'intensité dans un sol résistant que dans un sol sensible.

La résistance spécifique résulte de l'activité d'une population antagoniste particulière, s'exerçant à l'encontre de l'agent pathogène. Cette résistance spécifique s'exprime toujours dans un contexte de compétition générale, leurs effets pouvant être complémentaires, comme cela a pu être démontré dans le cas des sols de Châteaurenard résistants aux fusarioses vasculaires.

Pour lutter contre les maladies d'origine tellurique, deux approches différentes découlent de ces recherches d'écologie microbienne démontrant l'implication de nombreux micro-organismes dans le phénoméne de résistance des sols. La première consiste à favoriser les populations autochtones bénéfiques qui existent dans les sols sensibles, la seconde consiste à développer des préparations commerciales à partir de micro-organismes antagonistes isolés ou non de sols résistants.

3. *Lutte écologique par stimulation des populations microbiennes antagonistes* in situ

Le concept de réceptivité des sols aux maladies d'origine tellurique implique que tout sol présente un certain niveau de résistance aux maladies (Cook et Baker, 1983). En effet, même un sol sensible présente, après désinfection, une sensibilité accrue aux maladies. Cela signifie qu'il existe des populations microbiennes antagonistes au sein des communautés hébergées par les sols sensibles, ces populations n'étant pas assez abondantes ou actives pour contrôler la maladie. Il en résulte qu'il devrait être possible de rendre résistant un sol sensible en stimulant sélectivement les populations microbiennes bénéfiques au sein de la microflore des sols.

3.1. Amendements organiques

De manière plus ou moins empirique, certains auteurs ont pu, grâce à l'apport de matières ou de substrats organiques variés, augmenter la résistance des sols à certaines maladies d'origine tellurique. D'une manière générale, l'apport d'amendements organiques augmente la densité et l'activité des populations microbiennes. Il en résulte théoriquement une augmentation de la résistance générale aux maladies. Cependant, selon la nature des amendements apportés et la maladie considérée, ces effets bénéfiques ne sont pas systématiquement observés et il peut arriver que

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

ce soit la gravité de la maladie qui soit augmentée. Tout dépend du type de population favorisé par cet apport d'amendements organiques. La mise en œuvre de nouvelles méthodes de biologie moléculaire permet aujourd'hui la caractérisation des micro-organismes dans leur habitat naturel sans avoir recours à la mise en culture. Différentes techniques telles que :

– l'électrophorèse en gradient dénaturant (DGGE : *denaturing gradient gel electrophoresis*) ;

– l'analyse du polymorphisme de fragments de restriction en position terminale (TRFLP : *terminal restriction fragment length polymorphism*) ;

– l'analyse du polymorphisme de taille de l'intergène de l'ADNr (RISA : *ribosomal intergenic spacer analysis* ;

– le clonage et séquençage systématique des produits d'amplification afin de caractériser les fragments d'ADNr isolés, devraient permettre d'identifier les populations associées à une augmentation de la résistance des sols.

Certains travaux démontrent de manière évidente l'intérêt des composts et autres matières organiques pour la protection des plantes. Ainsi, Hoitink (1980) a élaboré des supports de culture enrichis en compost pour lutter de manière efficace contre les pourritures à *Phytophthora* des plantes ornementales acidophiles (azalées et rhododendrons).

3.2. Rotation culturale

Une autre approche pour gérer les communautés microbiennes des sols est la rotation des cultures. Celle-ci est le plus souvent décrite comme un moyen d'éviter la prolifération des agents pathogènes spécifiques d'une espèce végétale donnée. Mais la rotation culturale permet aussi d'introduire de la diversité dans le système cultural, ce qui se traduit par une microflore rhizosphérique plus diversifiée. Cependant, la monoculture qui favorise l'augmentation de la densité de l'inoculum pathogène, peut aussi entraîner la résistance des sols. Dans le cas du « déclin » du piétin échaudage, il est bien démontré que la monoculture de blé induit une prolifération de certaines populations de *Pseudomonas* antagonistes de l'agent pathogène qui, après quelques années sont suffisamment abondantes pour limiter la gravité de la maladie (Raaijmakers *et al.*, 1999). Il est vraisemblable que ce type d'influence bénéfique d'une monoculture se manifeste vis-à-vis d'autres agents pathogènes, mais il paraît difficile de recommander la monoculture qui stimule à la fois certains agents pathogènes et leurs populations antagonistes. D'un point de vue écologique, il semble préférable de recommander une rotation culturale choisie de manière à éviter la multiplication des agents pathogènes et à favoriser les populations saprophytes à capacité antagoniste.

3.3. Solarisation et biodésinfection

Parmi les alternatives à la désinfection chimique des sols, la solarisation est une méthode particulièrement efficace en climat méditerranéen. Elle consiste à utiliser

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

l'énergie solaire pour « chauffer » les sols et en modifier les équilibres microbiens. La solarisation n'affecte pas seulement les populations pathogènes qu'elle détruit ou affaiblit, mais stimule certaines populations antagonistes qui achèvent la destruction des pathogènes et évitent une recolonisation brutale des sols désinfectés (Katan, 1996).

Plus récemment certains auteurs ont proposé d'utiliser des espèces végétales particulières en cultures dérobées ou en engrais verts pour détruire certains agents pathogènes et modifier les équilibres microbiens des sols en faveur des populations bénéfiques. Les plantes de la famille des Cruciféracées et des Alliacées libèrent dans le sol des molécules toxiques pour certains arthropodes, nématodes ou champignons. L'effet de ces plantes peut être accentué lorsque, après culture, la biomasse produite est incorporée au sol qui peut être bâché. Les substances toxiques émises, associées à une anoxie plus ou moins poussée, exercent donc une double sélection, défavorable à certains agents pathogènes, favorables à certaines populations antagonistes. Les recherches concernant ces techniques dites de « biodésinfection » sont encore récentes, mais les premières applications de ces méthodes sont déjà pratiquées en particulier en Australie et aux Pays-Bas.

4. *Lutte biologique par application de micro-organismes antagonistes*

Au cours des vingt dernières années, de nombreuses équipes ont tenté de valoriser leurs travaux fondamentaux en sélectionnant des souches microbiennes antagonistes, dans le but d'élaborer des produits biologiques qui seraient formulés et s'appliqueraient comme un fongicide.

4.1. Sélection et modes d'action des agents de lutte biologique

La première étape pour développer un procédé de lutte biologique basé sur l'activité d'une souche microbienne déterminée consiste à sélectionner une souche efficace vis-à-vis de la cible choisie.

Deux approches différentes sont utilisées pour identifier des souches microbiennes potentiellement intéressantes pour la lutte biologique. La première consiste à s'intéresser à des plantes ou des parcelles saines au sein d'une culture ou d'une région infestée pour y découvrir des agents antagonistes inconnus. La seconde consiste à se focaliser d'emblée sur des genres ou des espèces de micro-organismes déjà connus pour leurs activités antagonistes tels les *Trichoderma spp.*, les *Bacillus spp.* ou les *Pseudomonas spp.*

Le criblage des souches les plus performantes au sein des populations sélectionnées repose également sur deux approches différentes, l'une consiste à faire appel à des essais biologiques pour démontrer une réduction de la gravité de la maladie en présence de l'antagoniste, l'autre à caractériser *in vitro* les activités antagonistes

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

des souches vis-à-vis de l'agent pathogène. Bien que cette seconde approche ne soit pas nécessairement la meilleure pour sélectionner la souche la plus efficace au champ, elle est très employée car elle permet d'aborder l'étude des modes d'action des souches antagonistes. Or, cette connaissance des modes d'action est indispensable pour définir les conditions de mise en œuvre de l'agent de lutte.

Les modes d'action des agents de lutte sont extrêmement divers. On distingue classiquement l'antagonisme direct entre micro-organismes et l'antagonisme indirect *via* la plante-hôte.

4.1.1. Antagonisme microbien

On désigne sous ce terme toutes les interactions directes entre un micro-organisme antagoniste et le micro-organisme cible. Les principaux mécanismes relèvent du parasitisme, de la compétition ou de l'antibiose. Ces termes font l'objet de définitions quelque peu divergentes selon le domaine scientifique considéré. Nous nous référons ci-dessous aux définitions proposées par Cook et Baker (1983) et qui sont généralement admises dans le domaine de la lutte biologique contre les maladies des plantes.

4.1.1.1. Parasitisme

Le parasitisme décrit une interaction dans laquelle un organisme se développe aux dépens d'un autre organisme vivant après avoir lui-même pénétré ou émis des structures particulières (suçoirs) qui pénètrent dans l'organisme cible. Les exemples les plus classiques dans le domaine de la lutte biologique contre des maladies d'origine tellurique sont le parasitisme de certaines souches de *Trichoderma sp* vis-à-vis de *Rhizoctonia solani* (Elad *et al.*, 1983) et celui de *Coniothyrium minitans* vis-à-vis des champignons à sclérotes et en particulier de *Sclerotinia minor* et *Sclerotinia sclerotiorum* (Turner et Tribe, 1976). La conséquence de ce parasitisme est une diminution de la densité de l'inoculum primaire de l'agent pathogène. L'efficacité qui en résulte en terme de lutte biologique dépend en grande partie de la relation existant entre densité de l'inoculum primaire et gravité de la maladie. Les attaques de *Sclerotinia sclerotiorum* sont dues, le plus souvent, à une contamination par les ascospores libérées par les apothécies formées à partir des sclérotes situés en surface du sol. Un seul sclérote peut donner naissance à plusieurs apothécies et à des milliers d'ascospores. Dans ces conditions, une réduction importante du nombre de sclérotes provoquée par *Coniothyrium minitans* peut, selon les conditions climatiques, ne pas être suffisante pour engendrer une diminution significative de la gravité de la maladie.

Le parasitisme des champignons pathogènes par des virus ne se traduit pas par une diminution de la densité d'inoculum mais peut provoquer une perte de virulence du champignon. L'exemple le plus célèbre est celui de *Cryphonectria parasitica*, agent du chancre du châtaigner, mais dans le domaine des champignons d'origine tellurique on peut citer le cas de souches hypovirulentes de *Gaeumannomyces*

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

graminis que certains auteurs ont tenté d'utiliser comme moyen de lutte contre le piétin échaudage des céréales (Hornby, 1979).

Des organismes divers, y compris des protozoaires, sont donc capables de parasiter des champignons pathogènes dans le sol et le parasistisme constitue de façon certaine, un mode d'action des agents de lutte biologique. Cependant, le nombre d'exemples pour lesquels le parasitisme conduit à une réduction démontrée de la gravité de la maladie est très limité. *Coniothyrium minitans*, premier antagoniste fongique à bénéficier d'une autorisation de mise sur le marché dans l'Union européenne constitue une exception digne d'être signalée.

4.1.1.2. Compétition

La compétition pour les éléments nutritifs indispensables au développement des micro-organismes est un mécanisme fondamental, dont l'importance est souvent sous-estimée (Lockwood, 1990).

La compétition trophique explique en particulier la résistance générale exercée par l'ensemble des communautés microbiennes à l'encontre de l'agent pathogène. Cependant, la compétition trophique peut aussi expliquer pour partie la résistance spécifique exercée par une population microbienne particulière à l'encontre de l'agent pathogène. L'efficacité antagoniste d'une collection de souches *de F. oxysporum* non pathogènes a pu être corrélée à leur aptitude à la compétition saprophytique par rapport à une source carbonée démontrant ainsi que la compétition trophique pour le substrat carboné est un des modes d'action des *F. oxysporum* non pathogènes.

D'autres travaux ont montré que certaines souches de *Pseudomonas spp.* fluorescents antagonistes des *F. oxysporum* ont pour mode d'action la compétition pour le fer. Dans les sols résistants où *F. oxysporum* et *Pseudomonas* fluorescents cohabitent, la compétition pour le fer exercée par les *Pseudomonas* vient renforcer la compétition pour le carbone exercée par les *F. oxysporum* non pathogènes à l'égard des pathogènes. Lemanceau *et al.* (1993), ont en effet démontré que le métabolisme carboné des *F. oxysporum* est beaucoup moins efficace lorsqu'il y a carence en fer assimilable. Il existe donc une complémentarité entre la compétition pour le fer et la compétition pour le carbone expliquant que la lutte biologique contre les fusarioses soit plus efficace lorsque l'on associe un *Pseudomonas* et un *F. oxysporum* non pathogène. Ces interactions *Pseudomonas*/*F. oxysporum* pathogènes/*F. oxysporum* non pathogènes constituent l'exemple le mieux documenté de la compétition comme mode d'action des agents de lutte biologique. Mais d'autres micro-organismes ont recours à ce mode d'action ; c'est en particulier le cas de certaines souches de *Trichoderma* qui possèdent la capacité de coloniser activement les plaies de taille, ou la surface de la racine. Ces souches s'opposent à la colonisation de la surface des organes végétaux par les agents pathogènes et protègent les « sites » d'infection, c'est-à-dire les tissus qui constituent les portes d'entrée privilégiées pour les agents pathogènes.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

4.1.1.3. Antibiose

L'antibiose est le mécanisme par lequel une souche antagoniste inhibe le développement d'une souche cible grâce à la production de métabolites secondaires toxiques. À la différence de la compétition trophique qui s'exerce en un même site, les substances toxiques sont susceptibles de diffuser dans le milieu ; il en résulte que l'effet d'un micro-organisme agissant par antibiose ne nécessite pas la juxtaposition des deux micro-organismes. L'antibiose est facile à mettre en évidence *in vitro*, dans des expériences de confrontation de micro-organismes. Mais ces interactions observées *in vitro* sont rarement représentatives de l'antibiose *in situ*, dans le sol ou les tissus de la plante.

L'antibiose est le mode d'action prédominant chez les antagonistes bactériens. Les *Pseudomonas* fluorescents sont capables de produire une très grande diversité de métabolites secondaires aux effets anti-bactériens ou anti-fongiques. Ainsi, l'acide cyanhydrique, les pseudobactines, pyochélines, pyocyanines, pyolutéorines, pyrrolnitrines sont tous des métabolites secondaires produits par différentes souches de *Pseudomonas spp.* et dont l'activité toxique vis-à-vis de divers champignons phytopathogènes (*Pythium spp.*, *Rhizoctonia solani*, *Gaeumannomyces graminis*, *Thielaviopsis basicola*) a été démontrée *in vitro* mais également *in vivo* (Haas et Keel, 2003). De plus, l'implication de ces molécules toxiques dans la résistance de certains sols aux maladies a été clairement démontrée. La première démonstration rigoureuse concerne le rôle de la phénazine dans le phénomène de déclin du piétin échaudage. Thomashow et Weller (1988) ont démontré, en faisant appel à des mutants de la souche 2-79 non-producteurs de phénazine, que cet antibiotique était réellement responsable de l'inhibition du développement de l'agent pathogène dans les sols. De plus, il a pu être montré que cet antibiotique était produit dans la rhizosphère du blé à une concentration capable d'inhiber l'agent pathogène. Plus récemment la même équipe a utilisé une méthode moléculaire de détection du gène codant la production d'un autre antibiotique, le diacétylphloroglucinol (2-4 DAPG) pour démontrer non seulement l'implication de cet antibiotique dans l'inhibition de certains champignons phytopathogènes mais aussi la corrélation entre la densité des populations de *P. fluorescens* producteurs de 2-4 DAPG et le niveau de résistance des sols à certaines maladies (Raaijmakers *et al.*, 1999).

Certains champignons antagonistes ont également recours à l'antibiose. C'est en particulier le cas des *Trichoderma spp.* et des *Gliocladium spp.* qui produisent certains composés qualifiés d'anti-fongiques tels que la gliotoxine et la gliovirine produites par *G. virens* (Howell, 1998), ou la chaetomine produite par *Chaetomium globosum*. D'autres métabolites produits par certains champignons participent à leur activité antagoniste. Il s'agit des enzymes glucanases et chitinases qui sont capables d'hydrolyser les constituants de la paroi des champignons cibles (Lorito *et al.*, 1993). En plus de leur action directe sur les organismes cibles, ces enzymes interviennent dans les modes d'action indirects car elles sont impliquées dans les mécanismes d'induction de résistance.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

4.1.2. Induction des mécanismes de résistance de la plante

Outre ces interactions directes entre un agent de lutte biologique et sa cible microbienne, il existe des interactions indirectes se manifestant *via* la plante. Ces mécanismes aujourd'hui très étudiés ont été décrits, il y a fort longtemps, sous le terme de prémunition ou résistance croisée. Dans le cas des fusarioses vasculaires, il est établi que l'inoculation à une plante-hôte sensible d'une souche non pathogène de *Fusarium oxysporum* ou d'une souche pathogène incompatible se traduit par un allongement de la phase de latence et une réduction de l'incidence de la maladie lorsque la plante-hôte est ultérieurement inoculée avec une souche pathogène compatible (Matta, 1989). Une manière simple de démontrer qu'il s'agit d'un phénomène de résistance induite chez la plante consiste à utiliser un dispositif expérimental qui interdit tout antagonisme direct entre les micro-organismes. C'est ainsi qu'il a été montré que certaines souches de *Pseudomonas* ou de *F. oxysporum* induisaient la résistance aux fusarioses vasculaires (Fravel *et al.*, 2003). De très nombreux micro-organismes (*Trichoderma spp*, les *Pseudomonas spp.*, les *Fusarium oxysporum*) possèdent cette capacité à stimuler les mécanismes de défense des plantes. Les recherches fondamentales se focalisent sur les voies de signalisation qui conduisent à la stimulation des gènes de défense, l'objectif étant de manipuler les micro-organismes ou les plantes pour amplifier cette résistance.

4.1.3. Complémentarité des modes d'action

Tous les modes d'action décrits ci-dessus existent au sein d'une même espèce microbienne et parfois au sein d'une même souche. Généralement, une même souche antagoniste possède plusieurs modes d'action qui interviennent indépendamment, conjointement ou successivement, pour assurer l'efficacité de l'antagonisme selon la cible visée et les conditions d'environnement.

4.2. Conditions requises pour l'expression de l'antagonisme

Pour qu'un agent de lutte biologique soit efficace, encore faut-il qu'il soit présent et qu'il exprime ses capacités antagonistes au bon moment et au bon endroit. En d'autres termes, il convient de définir les conditions d'application qui lui permettront d'être efficace. Dans le cas de la lutte contre les maladies d'origine tellurique, le problème est difficile car il faut protéger les racines des plantes qui, par définition ne sont pas directement accessibles aux traitements. Deux solutions principales sont disponibles : introduire l'antagoniste en enrobage de semences ou dans le substrat d'élevage du jeune plant. Dans les deux cas, pour être efficace, le micro-organisme antagoniste devra être capable de coloniser la rhizosphère de la plante pour protéger les racines. C'est pourquoi de nombreux travaux portent sur la compétence rhizosphérique des agents de lutte biologique (Weller, 1988). La rhizosphère, définie comme la zone de sol directement ou indirectement influencée par la racine, est un lieu d'intense activité microbienne. En effet, la racine des plantes libère des composés organiques variés qui constituent des sources nutritives pour les micro-organismes du sol. Parmi ces composés, les exsudats, constitués de petites molécules

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

solubles ou volatiles, jouent un rôle important. Ils peuvent en effet exercer une influence sélective sur les micro-organismes colonisant la rhizosphère.

La rhizosphère est aussi le siège d'échanges gazeux et ioniques exerçant une pression de sélection sur les micro-organismes. Il en résulte que pour s'installer dans la rhizosphère d'une espèce végétale donnée et pour y exercer son activité bénéfique, un agent de lutte biologique devra être, d'une part adapté à cette espèce végétale, et d'autre part compétitif vis-à-vis des autres micro-organismes colonisateurs de cette rhizosphère. Il a été montré que les plantes exercent un effet sélectif vis-à-vis des micro-organismes du sol, la diversité microbienne dans la rhizosphère étant plus réduite que celle du sol environnant (Latour *et al.*, 1996).

Un des exemples d'adaptation les plus sophistiqués à la rhizosphère est celui *d'Agrobacterium tumefaciens* : cette espèce bactérienne, qui induit des galles au collet de nombreuses espèces végétales induit, grâce à un plasmide intégré dans le génome végétal, la production par la plante d'acides aminés spécifiques (les opines) qui lui servent de source nutritive exclusive. Pour lutter contre cette bactérie, on utilise une bactérie appartenant à une espèce voisine, *Agrobacterium radiobacter*, productrice de bactériocines et qui est, elle aussi, capable d'utiliser les mêmes opines et qui peut ainsi coloniser la rhizosphère des plantes comme l'organisme cible (Penyalver *et al.*, 2000).

Il convient également que les souches antagonistes soient adaptées à l'environnement physicochimique du sol dans lequel elles seront introduites. Ainsi, certaines souches sont plus actives dans des sols à pH neutre d'autres dans des sols à pH plutôt acide : il sera *a priori* difficile de sélectionner des souches également efficaces dans tous les types de sol (Alabouvette et Steinberg, 1995).

4.3. Production, formulation, application

La production d'agents de lutte biologique consiste à produire une biomasse vivante, apte à être formulée et appliquée tout en conservant les capacités pour lesquelles le micro-organisme a été sélectionné, et cela à un coût abordable. L'industrie pharmaceutique comme l'industrie alimentaire sait produire par fermentation en milieu liquide de grandes quantités de micro-organismes pour récolter un métabolite secondaire antibiotique, enzyme ou arôme produit par ce micro-organisme. Le plus souvent il s'agit de bactéries produites par fermentation en milieu liquide, dans des fermenteurs de grande contenance, et cette technologie peut être employée pour produire des agents de lutte biologique. Mais la difficulté réside dans la formulation de ces micro-organismes. En effet, il s'agit d'éliminer le milieu de culture pour ne conserver que les micro-organismes qui devront être formulés de telle sorte que le produit soit apte à être stocké puis transporté sans que le micro-organisme perde sa viabilité. Un procédé classique comme la lyophilisation est trop onéreux pour des agents de lutte biologique. Il faut donc recourir à d'autres procédés qui constituent le plus souvent des savoir-faire industriels non communiqués.

La fermentation sur milieu solide est souvent préconisée pour des agents de lutte biologique, en particulier lorsqu'il s'agit de champignons. La production d'hyphes

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

est en effet plus facile sur un substrat solide, qui pourra éventuellement servir de substrat de formulation. C'est ce type de procédé qui a été adopté depuis longtemps pour produire les rhizobiacées destinées à l'inoculation des légumineuses. Ces bactéries sont produites dans un substrat tourbeux stérilisé par irradiation, substrat qui peut directement être appliqué en enrobage de semences. Ce type de procédé a été récemment proposé pour produire un inoculum mixte associant deux agents de lutte conte les fusarioses : un *F. oxysporum* non pathogène et un *Pseudomonas* fluorescent. Les auteurs ont montré que, quelle que soit la concentration initiale de l'inoculum la population atteignait après trois semaines d'incubation, des niveaux très élevés : respectivement 10^{10} et 10^{9} *colony forming units* (CFU) mL^{-1} par gramme de tourbe pour la bactérie et le champignon. Cet inoculum mixte se conserve à un niveau de population élevé pendant plus d'un an, et présente, à l'issue de cette période de stockage, une activité antagoniste aussi bonne que celle d'un inoculum fraîchement produit (Olivain *et al.*, 2004).

La fermentation sur milieu solide peut permettre de valoriser des résidus de l'industrie agricole ou alimentaire telles des pailles, des pulpes de betterave, etc. À partir de culture sur milieu solide, il est aussi possible de récolter des spores et de les formuler indépendamment du support de fermentation.

À supposer qu'un processus de production et de formulation acceptable ait été développé, il convient d'appliquer l'agent de lutte de telle sorte qu'il soit efficace. S'agissant de la lutte contre les maladies d'origine tellurique, les deux principaux modes d'application sont l'enrobage des semences et la biotisation des jeunes plants. L'enrobage de semences est le mode d'application de la souche de *Pseudomonas chlororaphis* sélectionnée pour lutter contre les maladies du pied des céréales. Les recherches ont montré que la bactérie colonise les jeunes racines et protège ainsi la jeune plantule au niveau des sites d'infection. La biotisation consiste à apporter les agents de lutte biologique dans le substrat généralement tourbeux qui sert à l'élevage des jeunes plants en pépinière. Cette technique permet à la plante d'être colonisée par les agents de lutte avant qu'elle n'entre en contact avec le sol hébergeant les agents pathogènes à combattre. Ce procédé confère ainsi un avantage aux agents de lutte qui peuvent coloniser la racine sans avoir à subir la compétition de la microflore du sol.

Il est enfin possible d'apporter l'agent de lutte directement au sol, par épandage comme il est préconisé pour le *Coniothyrium minitans*. Mais, dans ce cas, les quantités d'inoculum nécessaires sont beaucoup plus importantes, il faut donc que le processus de fabrication permette de produire de grandes quantités de spores à un coût extrêmement faible.

Pour favoriser l'installation de ces inoculums dans le sol ou sur l'organe végétal à coloniser, il a été suggéré de les formuler avec une source nutritive spécifique qui leur confère un avantage compétitif.

Là encore, les solutions trouvées par des industriels restent confidentielles, il est donc impossible de les décrire dans cet article.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

4.4. Autorisation de mise sur le marché

Comme n'importe quel autre produit de protection des plantes, une préparation à base de micro-organismes doit bénéficier d'une autorisation de mise sur le marché avant de pouvoir être commercialisée. Cette autorisation est obtenue après examen d'un dossier qui doit permettre de déterminer que l'emploi de cette préparation est sans danger pour l'homme et l'environnement mais aussi qu'elle est efficace. Le dossier qui doit être préparé conformément à la directive « 91/414 CEE », nécessite une identification précise de l'espèce microbienne concernée et une caractérisation précise de la souche pour laquelle l'autorisation est demandée. Il convient de décrire la biologie de cette souche, son ou ses modes d'action antagoniste et préciser en particulier s'il y a production de métabolites secondaires toxiques. Puis, il faut démontrer grâce à des études toxicologiques l'absence de danger pour l'homme et pour l'environnement. L'efficacité de la préparation doit être démontrée grâce à deux années d'expérimentation pluri-locale, conduites selon les recommandations de la Commission des essais biologiques (CEB) et dans le respect des bonnes pratiques d'expérimentation (BPE). Cependant, compte tenu de la nature particulière de ces moyens de lutte biologique, il n'est pas requis de comparer l'efficacité à celle d'une préparation chimique de référence. Mais il convient de démontrer que, pour un usage déterminé, l'effet bénéfique est reproductible.

Ces exigences réglementaires sont souvent critiquées, car elles représentent un travail important et ont un coût très élevé, sans rapport avec le bénéfice attendu de la mise sur le marché de produits de lutte biologique qui, pour l'essentiel, s'adressent à des marchés-niches.

Conclusion

L'attente des consommateurs pour des produits exempts de résidus de pesticides devrait favoriser le développement des méthodes alternatives de lutte. Des progrès certains ont été réalisés au cours des 20 dernières années à la fois dans la compréhension des mécanismes de résistance des sols aux maladies et dans la connaissance des modes d'action des micro-organismes antagonistes utilisables en lutte biologique. Les premières préparations commerciales à base d'un champignon et d'une bactérie antagoniste viennent de recevoir une autorisation de mise sur le marché dans l'Union européenne (Contans® préparé à partir de *Coniothyrium minitans* pour lutter contre *Sclerotinia sclerotiorum*, Cedomon® préparé à partir de *Pseudomonas chlororaphis* pour lutter contre les maladies du pied des céréales). Cependant, ces progrès restent insuffisants et la lutte biologique contre les maladies d'origine tellurique reste confidentielle.

Il est évident que la lutte biologique par apport inondatif de micro-organismes antagonistes n'est pas à proprement parler une lutte écologique. Elle tend à remplacer un pesticide de synthèse par un pesticide naturel, sans remettre en cause le raisonnement qui préside à la lutte contre les maladies. Il faut au contraire changer

© Lavoisier - La photocopie non autorisée est un délit

de stratégie et se placer dans un contexte de protection intégrée des cultures et tout mettre en œuvre pour que la maladie ne se manifeste pas. Dans ce contexte, la lutte biologique par apport de micro-organismes antagonistes n'est qu'un des éléments qui viendra renforcer les autres méthodes de protection des cultures. Il convient de raisonner l'ensemble des interventions culturales et de privilégier les méthodes qui permettront de limiter la prolifération des agents pathogènes et de favoriser l'activité des communautés microbiennes associées au bon état sanitaire des sols. Mais il est actuellement difficile de prévoir les effets bénéfiques ou néfastes des pratiques qui modifient la structure et l'activité des communautés microbiennes des sols. C'est pourquoi la recherche d'indicateurs fiables de la qualité biologique des sols est un objectif à promouvoir de même que l'élaboration de modèles de prévision des risques (*cf.* chapitre 14). L'abandon de la stratégie du traitement d'« assurance » nécessite une prise en compte globale du système et donc la mise à disposition de l'agriculteur d'outils d'aide à la décision. Les progrès technologiques devraient aussi permettrent de mettre sur le marché des agents de lutte biologique « améliorés », c'est-à-dire cumulant par exemple plusieurs modes d'action et une bonne compétence rhizosphérique. Il faut également prévoir la mise sur le marché de plantes, transgéniques ou non, sur-exprimant des mécanismes de défense et donc aptes à résister aux agents pathogènes. Mais ce serait une erreur de ne miser que sur cette seule stratégie de lutte. La capacité d'adaptation des micro-organismes pathogènes implique de n'utiliser ces nouvelles sources de résistance que dans le cadre d'une stratégie de lutte intégrée, afin d'assurer la durabilité de ces nouveaux moyens de lutte.

Références bibliographiques

Alabouvette C. (1990). Biological Control of Fusarium Wilt Pathogens in Suppressive Soils. *In* Hornby D., *Biological Control of Soil-Borne Plant Pathogens.* C.A.B. International, Wallingford, 27-43.

Alabouvette C., Steinberg C. (1995). Suppressiveness of soils to invading micro-organisms. *In* Hokkanen H.M.T., Lynch J.M. Biological control benefits and risks, Cambridge University Press, Cambridge, 3-12.

Alabouvette C., Couteaudier Y., Louvet J. (1982). Comparaison de la réceptivité de différents sols et substrats de culture aux fusarioses vasculaires. *Agronomie*, **2** : 1-6.

Alabouvette C., Couteaudier Y., Louvet J. (1985). Soils suppressive to Fusarium wilt: Mechanisms and management of suppressiveness. *In* Parker C.A. Rovira A.D. Moore K.J., Wong P.T., Koll Morgen J.F., *Ecology and Management of Soil Borne Plant Pathogens.* APS Press, St. Paul, Minnesota,101-106.

Alabouvette C., Hoeper H., Lemanceau P., Steinberg C. (1996a). Soil suppressiveness to diseases induced by soilborne plant pathogens. *In* Stotzky G. and Bollag J.-M., *Soil Biochemistry*, Vol. 9. Marcel Dekker, New York, 371-413.

Alabouvette C., Schippers B., Lemanceau P., Bakker P.A.H.M. (1996b). Biological control of fusarium wilts: towards development of commercial products. *In* Bolland G.J., Kuykendal D., *Plant-Microbe Interactions and biological Control*, Marcel Dekker Inc., New York, 15-36.

Baker K.F., Cook R.J. (1974). *Biological control of plant pathogens* The American Phytopathological Society, St-Paul Minnosota.

© Lavoisier - La photocopie non autorisée est un delit

Bouhot D. (1979). Estimation of inoculum density and inoculum potential: Techniques and their value for disease prediction. *In* Schippers B., Gams W., *Soil-borne plant pathogens*. Academic Press, London, 21-34.

Cook R., Baker K.F. (1983). *The nature and practice of biological control of plant pathogens*. The APS Press, St-Paul, Minnesota.

Elad Y., Chet I., Boyle P., Henis Y. (1983). Parasitism of *Trichoderma spp.* on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotinum rolfsii*. Scanning electron microscopy and fluorescence microscopy. *Phytopathology*, **73** : 85-88.

Fravel D., Olivain C., Alabouvette C. (2003). *Fusarium oxysporum* and its biocontrol. *New Phytol*, **157** : 271-279.

Garrett S.D. (1970). *Pathogenic root-infection fungi*. Cambridge University Press, London.

Haas D., Kell C. (2003). Regulation of antibiotic production in root colonizing *Pseudomonas spp.* and relevance for biological control of plant disease. *Annu Rev Phytopathol*, **41** : 117-153.

Hoitink H.A.J. (1980). Composted bark, a lightweight growth medium with fungicidal properties. *Plant Dis*, **66** : 142-147.

Hornby D. (1979). Take-all decline: a theorist's paradise. *In* Schippers B., Gams W., *Soil-borne Plant Pathogens*. Academic Press, London, 133-156.

Howell C.R. (1998). The role of antibiosis in biocontrol, 173-180. *In* Harman G.E., Kubieck C.P., *Trichoderma and Gliocladium*, Vol. 2. Taylor & Francis LTD, London.

Katan T. (1996). Soil solarization: integrated control aspects. *In* Hall R., *Principle and practice of managing soilborne plant pathogens*. APS Press, St-Paul, Minnesota.

Latour X., Corberand T., Laguerre G., Allard F., Lemanceau P. (1996). The composition of fluorescent pseudomonad populations associated with roots is influenced by plant and soil type. *Appl Environ Microb*, **62** : 2449-2456.

Lemanceau P., Bakker P.A.H.M., De Kogel W.J., Alabouvette C., Schippers B. (1993). Antagonistic effect on nonpathogenic *Fusarium oxysporum* strain Fo47 and pseudobactin 358 upon pathogenic *Fusarium oxysporum* f.*sp. dianthi*. *Appl Environ Microb*, **59** : 74-82.

Lockwood J.L. (1981). Exploitation competition. Its organization and role in the ecosystem. *In* Wicklow D.T., Caroll G.C. *The fungal community: organization and role in the ecosystem*. Marcel Dekker Inc, New York.

Lockwood J.L. (1990). Relation to energy stress to behaviour of soil-borne plant pathogens and to disease development. *In* Hornby D., *Biological Control of Soil-borne Plant Pathogens*. CAB International, Wallingford, U.K, 197-214.

Lorito M., Harman G.E., Hayes C.K., Broadway R.M., Tronsmo A., Woo S.L., Di Pietro A. (1993). Chitinolytic enzymes produced by *Trichoderma harzianum*: antifungal activity of purified endochitinase and chitobiosidase. *Phytopathology*, **83** : 302-307.

Louvet J. (1973). Les perspectives de lutte biologique contre les champignons parasites des organes souterrains des plantes. *In* Rochaix M. *Perspectives de lutte biologique contre les champignons parasites des plantes cultivées et des tissus ligneux*. Station fédérale de recherches agronomique, Lausanne.

Louvet J., Rouxel F., Alabouvette C. (1976). Recherches sur la résistance des sols aux maladies. I – Mise en évidence de la nature microbiologique de la résistance d'un sol au développement de la fusariose vasculaire du melon. *Annales de Phytopathologie*, **8** : 425-436.

Matta A. (1989). Induced resistance to fusarium wilt diseases, 197-214. *In* Tjamos E.C., Beckman C.H., *Vascular wilt diseases of plants – Basic studies and control*. Springer Verlag, NATO ASI Series, Berlin, 197-214.

Olivain C., Alabouvette C., Steinberg C. (2004). Production of a mixed inoculum of *Fusarium oxysporum* Fo47 and *Pseudomonas fluorescens* C7 to control Fusarium diseases. *Biocontrol Sci Technol*, **14** : 227-238.

Park C.S. (1988). Biocontrol of fusarium wilt of cucumber resulting from interaction between *Pseudomonas putida* and nonpathogenic isolates of *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*, **78** : 190-194.

Penyalver R., Vicedo B., Lopez M.M. (2000). Use of the genetically engineered *Agrobacterium* strain K1026 for biological control of crown gall. *Eur J Plant Pathol*, **106** : 801-810.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Raaijmakers J.M., Bonsall R.E., Weller D.M. (1999). Effect of population density of *Pseudomonas fluorescens* on production of 2,4-diacetylphloroglucinol in the rhizosphere of wheat. *Phytopathology*, **89** : 470-475.

Rouxel F., Alabouvette C., Louvet J. (1979). Recherches sur la résistance des sols aux maladies. IV – Mise en évidence du rôle des Fusarium autochtones dans la résistance d'un sol à la Fusariose vasculaire du Melon. *Annales de Phytopathologie*, **11** : 199-207.

Scher F.M., Baker R. (1980). Mechanism of biological control in a *Fusarium*-suppressive soil. *Phytopathology*, **70** : 412-417.

Thomashow L.S., Weller D.M. (1988). Role of a phenazine antibiotic from *Pseudomonas fluorescens* in biological control of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. *J Bacteriol*, **170** : 3499-3508.

Turner G.J., Tribe H.T. (1976). On *Coniothyrium minitans* and its parasitism of *Sclerotinia* species. *Trans Br Mycol Soc*, **66** : 97-105.

Weller D.M. (1988). Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annu Rev Phytopathol*, **26** : 379-407.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

27

Les enjeux écologiques des biopesticides à base de baculovirus

Miguel López-Ferber, Gérard Devauchelle

L'utilisation des virus entomopathogènes pour le contrôle des insectes nuisibles, ravageurs des cultures ou vecteurs de maladies, est répandue dans le monde entier, mais le plus souvent à petite échelle. Parmi tous les virus pathogènes chez ces arthropodes, les baculovirus constituent le seul groupe pour lequel des préparations virales sont autorisées, commercialisées et utilisées en routine.

Le développement et la généralisation de l'utilisation de ces virus pour le contrôle des populations d'insectes se heurtent cependant à plusieurs problèmes :

– les caractéristiques propres du matériel vivant, comme la spécificité qui peut être un atout mais aussi un désavantage en impliquant la production de plusieurs agents de contrôle pour plusieurs ravageurs dans une même culture ;

– la production du produit actif, un virus : il faut le produire sur du matériel vivant, larves d'insectes ou cultures cellulaires ;

– la nécessité d'une formulation des produits et des techniques d'administration spécifiques ;

– le contrôle de qualité du bio-insecticide, réalisable seulement sur l'insecte.

Ce sont là quelques-uns des problèmes essentiels posés par l'utilisation de ces virus en lutte biologique. Au-delà, il est important d'étudier les effets qu'une utilisation massive de tels virus pourrait avoir sur l'environnement : accumulation, risques de pathogénicité pour d'autres espèces, apparition de souches résistantes.

Paradoxalement, c'est l'état d'esprit des industriels spécialisés dans la protection des cultures, de même que celle des grands agriculteurs, qui est un réel frein dans l'utilisation de ces insecticides biologiques. Cet état d'esprit est basé essentiellement sur une tradition et une bonne connaissance de l'utilisation des produits issus de la chimie, alors que des contraintes nouvelles apparaissent avec ce matériel biologique.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

C'est ainsi que les programmes de contrôle par baculovirus n'ont pas répondu aux espérances escomptées dans les pays développés, mais fournissent aujourd'hui des résultats remarquables dans les pays en développement, pays dans lesquels les producteurs n'ont pas d'*a priori* sur une façon d'entretenir les cultures et où le coût de la main-d'œuvre n'est pas un facteur limitant.

Pour comprendre l'intérêt potentiel de ces virus comme agents de lutte biologique et les risques que leur utilisation massive peut engendrer, nous donnerons tout d'abord quelques informations sur la biologie de ces baculovirus et sur les données récentes les concernant. Nous verrons ensuite les implications que ces données peuvent avoir sur l'utilisation de ces virus.

1. *La structure du baculovirus*

Les baculovirus sont des virus à ADN, enveloppé et à structure hélicoïdale. L'ADN viral nu est infectieux par transfection. Le cycle de ces virus est complexe. Le génome est composé d'une molécule d'ADN double brin, circulaire et dont la taille est comprise entre 80 et 200 kbp selon les espèces. Dans la particule virale, il est hyper-enroulé grâce à une petite protéine très basique (de 6 à 7 kD) viro-codée.

Ce complexe nucléoprotéique est renfermé dans une capside dont le composant principal est la protéine VP39. Celle-ci, de symétrie hélicoïdale, confère au baculovirus une forme de bâtonnet caractéristique. Cette symétrie, originale pour les gros virus à ADN, explique la variabilité de taille du génome, taille qui n'est pas limitée comme chez la plupart des virus à symétrie icosaédrique, mais qui est fonction de la quantité d'information génétique encapsidée.

Au cours du cycle de multiplication dans une cellule, les baculovirus présentent deux formes virales qui jouent des rôles différents dans l'infection : une forme libre qui est produite par bourgeonnement de la membrane cytoplasmique dans la cellule infectée (*budded virus*, BV), qui apparaît tout d'abord et qui est responsable de l'infection de cellule à cellule au sein d'un organisme ; puis une deuxième forme, qui apparaît dans ces mêmes cellules mais plus tardivement et qui est protégée dans un corps d'inclusion (*occlusion body*, OB). Celui-ci est responsable de la transmission de l'infection d'individu à individu. Ces deux formes virales sont produites dans la même cellule et contiennent le même génome.

La forme et la structure des corps d'inclusion sont des caractères taxonomiques. S'il ne contient qu'un seul virion, on parle de « granule », s'il contient plusieurs virions, il s'agit d'un « polyèdre ». La famille des *Baculoviridae* est ainsi divisée en deux genres, les virus de granulose (*Granulovirus*, GV) et les virus de polyédrose nucléaire (*Nucleopolyhedrovirus*, NPV) (figure 1). Les « granules » sont plus petits, leur taille est à la limite de la résolution de la microscopie photonique (0,4 µm), par contre, les polyèdres, qui mesurent 2 µm de diamètre en moyenne, sont tout à fait visibles sous le microscope (Caballero *et al.*, 2001).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

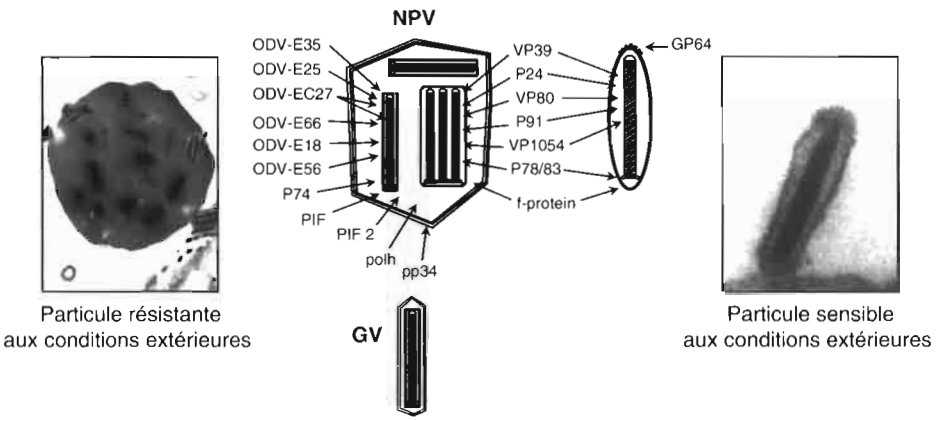


Figure 1 ■ Les deux formes virales des baculovirus et les principales protéines associées. La forme incluse, OB (*occlusion body*) des *nucleopolyhedrovirus* (NPV) contient plusieurs virions (environ une centaine), tandis que celle des granulovirus n'en contient qu'un seul (exceptionnellement 2). Chez certains NPV, un « virion » contient plusieurs nucléocapsides. On les appelle NPV multiples. Les virus bourgeonnants (BV, *budded virus*), de structure similaire pour les NPV et les GV (*granulovirus*), ne contiennent qu'une seule nucléocapside.

La réplication des baculovirus est nucléaire. Chez certains granulovirus cependant, la membrane nucléaire disparaît pendant l'infection et il n'est alors plus possible de différencier le noyau du cytoplasme.

2. *La pathogenèse de la larve infectée*

C'est l'analyse du déroulement du cycle dans la larve, des différentes étapes et des « barrières » qui s'opposent à l'envahissement par le virus qui nous fournit des informations importantes sur les possibilités et les limites dans l'utilisation des baculovirus en contrôle biologique intégré.

Le cycle viral dans la larve commence par l'ingestion des corps d'inclusion présents dans son alimentation (feuilles, fruits). Cependant, il ne faut pas regarder les seules interactions entre le virus et l'hôte : en effet, des facteurs de l'environnement doivent être pris également en considération. Par exemple, le type de nourriture de la chenille peut avoir un effet. Des sensibilités variables aux baculovirus en fonction des plantes dont se nourrissent les chenilles ont été décrites sur plusieurs modèles : les chenilles de *Heliothis virescens* nourries sur du coton sont moins sensibles aux baculovirus que celles nourries sur milieu artificiel (Hoover *et al.*, 2000) ; il en est de même pour les chenilles de *Spodoptera littoralis*.

Les corps d'inclusion se dissolvent dans l'intestin moyen des larves, dans des conditions très alcalines (pH supérieur à 10) ; par contre, ils ne se dissolvent pas dans les conditions physiologiques normales de l'intestin des vertébrés (oiseaux, mammifères). Il a même été montré qu'ils sont toujours infectieux après un transit

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

intestinal chez ces animaux, et que ceux-ci agissent alors comme un véritable facteur d'essaimage.

Les interactions au niveau de l'intestin de l'hôte sont multiples et mal connues. Le bol alimentaire chez la larve est séparé de l'épithélium intestinal par la membrane péritrophique. Sa structure varie chez les insectes (Lehane, 1997), mais il s'agit d'une matrice de chitine recouverte de glycoprotéines. Cette structure est une véritable protection contre l'abrasion due aux particules ingérées et une barrière contre le passage des agents pathogènes (virus, bactéries). Ces pathogènes potentiels doivent donc traverser cette membrane pour pouvoir infecter la larve (figure 2). Or, en plus des virions, les corps d'inclusion des baculovirus contiennent des enzymes qui dégradent cette membrane péritrophique. Des gènes codant pour des chitinases et des métalloprotéases (enzymes appelées enhancines) (Popham *et al.*, 2001), ainsi que des protéases de type cathepsine (Hawtin *et al.*, 1997), ont été identifiés chez les baculovirus. Les enhancines ont été détectées dans les polyèdres. Un des substrats de ces enzymes n'est autre que la mucine qui compose la membrane péritrophique (Wang et Granados, 1997). Probablement tous les virus de grande taille, ainsi que les bactéries entomopathogènes, doivent dégrader cette membrane péritrophique pour atteindre les cellules intestinales. De fait, il a été récemment démontré que des bactéries entomopathogènes utilisent des mécanismes similaires (Fedhila *et al.*, 2002).

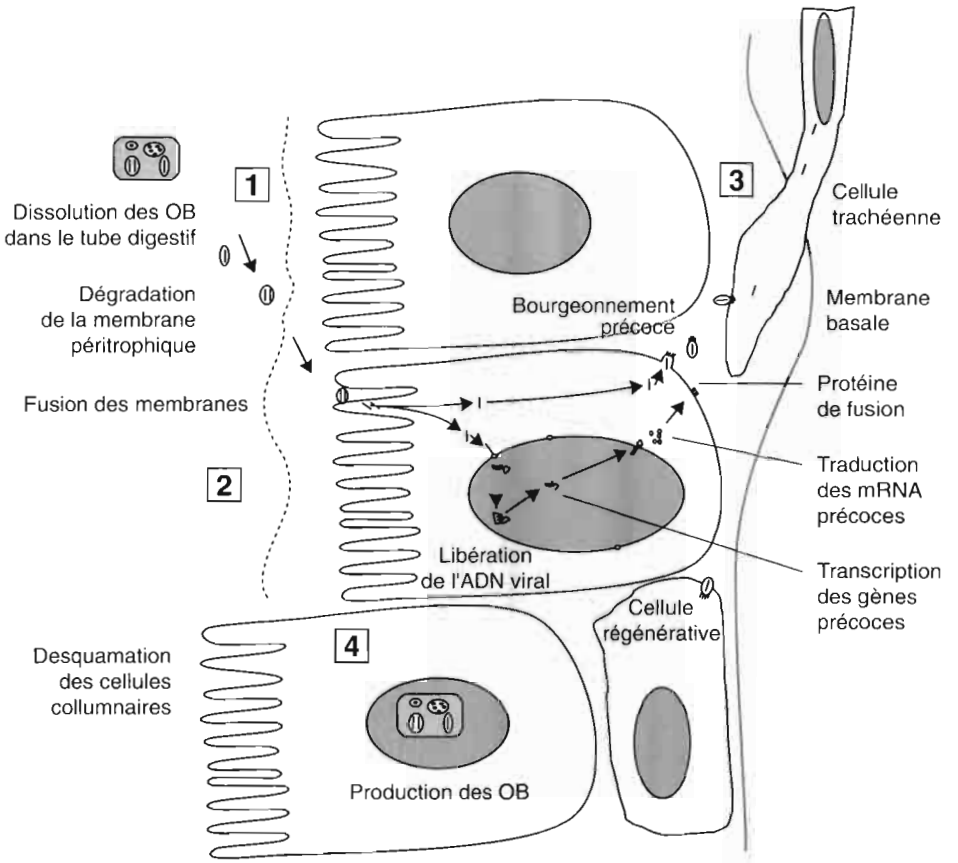
Une fois cette membrane perméabilisée, les virions peuvent rentrer en contact direct avec l'intestin au niveau de la bordure en brosse des cellules épithéliales. L'internalisation des virions se fait alors par fusion des membranes, dans un processus en deux étapes (Horton et Burand, 1993).

Ce mécanisme semble être semblable pour tous les baculovirus. Jusqu'à présent, trois gènes viraux ont été décrits dont la délétion inhibe l'infection *per os*, *p74* (Kuzio *et al.*, 1989), *pif* (Kikhno *et al.*, 2002) et *pif-2* (Piljman *et al.*, 2003). Par contre, le mécanisme de pénétration, la fusion des membranes à pH basique, n'ont pas encore été élucidés.

Un aspect original chez les baculovirus responsables de polyédrose concerne la structure des virions contenus dans les corps d'inclusion. Ces virions peuvent contenir une seule nucléocapside, et donc un seul génome (SNPV, *single nucleopolyhedrovirus*), ou plusieurs nucléocapsides, et donc plusieurs génomes (MNPV, *multiple nucleopolyhedrovirus*) entourés d'une seule enveloppe. Ce caractère permet de distinguer des baculovirus « simples », les granuloses et une partie des virus responsables de polyédrie nucléaire, des baculovirus « multiples ». Cette encapsidation multiple, unique dans le monde viral, peut trouver plusieurs explications.

Parmi les différentes hypothèses, des travaux récents (Washburn *et al.*, 1999, 2003) montreraient que, dans les MNPV, une partie des nucléocapsides migrerait directement vers la région basale de la cellule, sans passer par le noyau, tandis que les autres migreraient vers le noyau où la réplication virale a lieu. Parmi les premières protéines virales à être synthétisées se trouvent les glycoprotéines de fusion responsables du pouvoir infectieux des virions bourgeonnants (Monsma *et al.*, 1996) qui

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit



1. La forme OB (*occlusion body*) est dissoute dans l'environnement alcalin de l'intestin, libérant les virions (ODV, *occlusion-derived virus*) ainsi que des enzymes qui dégradent la membrane péritrophique (PM, *peritrophic membrane*).
2. Les virions traversent cette membrane et pénètrent dans les cellules columnaires par fusion des enveloppes virales avec la membrane cellulaire de ces cellules.
3. Une partie des nucléocapsides migre vers l'extrémité basale de la cellule, l'autre migre vers le noyau où la transcription commence. La protéine de fusion est produite très tôt, elle migre vers la partie basale de la cellule et sert pour la formation de virus bourgeonnants qui infectent les cellules trachéennes et, quelquefois, les cellules souches.
4. Les cellules columnaires se détachent de l'intestin par desquamation et leur renouvellement est assuré par les cellules souches.

Figure 2 ■ Schéma du cycle d'infection du baculovirus dans l'intestin.

sont acquises au moment du bourgeonnement (Pearson *et al.*, 2001). Après leur synthèse, ces glycoprotéines migrent vers la membrane cellulaire. Les nucléocapsides sont alors enveloppées dans cette membrane cellulaire qui renferme ces protéines sous forme de péplomères. Dans le cas de l'infection des cellules de la bordure en brosse, l'expression précoce de ces glycoprotéines de fusion permettrait l'enveloppement par trans-complémentation des nucléocapsides encore présentes dans le cytoplasme, permettant ainsi leur bourgeonnement et le démarrage rapide

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

des infections secondaires. Ce processus a été étudié chez certaines noctuelles (Washburn *et al.*, 2003). L'importance de ce phénomène de bourgeonnement précoce est à mettre en relation avec la physiologie du tube digestif de la larve. En effet, les cellules de la bordure en brosse subissent un renouvellement rapide. Il a été calculé que la durée de vie moyenne de ces cellules chez le Lépidoptère *Trichoplusia ni* est d'environ quatre heures. Or, le délai entre l'entrée du baculovirus et la formation des premières particules bourgeonnantes est d'environ 10 heures pour le baculovirus du Lépidoptère *Autographa californica* (AcMNPV, à virus multiples) en culture de cellules. Sans un processus de trans-complémentation, il serait difficile pour le virus de dépasser le stade de l'infection primaire. Une heure après le début de l'infection par le baculovirus AcMNPV dans les cellules intestinales d'une larve de *T. ni* on retrouve des particules bourgeonnantes dans l'hémolymphe. Par contre, il y a un délai de huit heures entre ces deux événements pour les infections par le baculovirus du Lépidoptère *Heliothis zea* (HzSNPV, à virion unique) (Washburn *et al.*, 2003).

De fait, on avait observé depuis longtemps que si on sépare par fractionnement (gradient de densité) les virions en fonction du nombre de particules enveloppées, les virions contenant une seule nucléocapside tuaient les larves plus lentement que ceux contenant plusieurs nucléocapsides (van Beek *et al.*, 1988).

Chez les larves du moustique *Culex nigripalpus*, il ne semble pas y avoir un tel renouvellement des cellules de l'épithélium intestinal. Le baculovirus qui a été décrit chez cette espèce a une réplication limitée aux seules cellules du tube digestif (Becnel *et al.*, 2003).

L'origine du mécanisme de desquamation (*sloughing*) peut être due en partie à la très forte activité de ces cellules ainsi qu'aux contraintes qu'elles subissent, notamment l'abrasion par le passage du bol alimentaire, même si elles sont protégées par la membrane péritrophique. Il est néanmoins probable que ce mécanisme ait évolué aussi comme système de protection contre les infections virales (Engelhard *et al.*, 1995). L'inhibition ou le ralentissement de ce renouvellement a comme conséquence une diminution de la dose de virus, exprimée en nombre de corps d'inclusion nécessaires pour tuer la larve. L'utilisation de produits chimiques comme le calcofluor, aussi appelé Stilbene ou M2R®, comme additif des baculovirus, induit cet effet (Washburn *et al.*, 1998).

La suite du processus infectieux a fait l'objet de controverses. Certains auteurs supposaient que des virions pourraient passer directement dans l'hémolymphe, ce qui permettrait alors une infection généralisée. Or, l'existence d'une « lamina » basale qui enveloppe l'intestin rend cette hypothèse peu vraisemblable, car cette membrane ne permet pas le passage des virions. Par contre, les cellules trachéennes traversent cette lamina basale pour oxygéner l'intestin. L'infection de ces cellules est concomitante de la production précoce des virions bourgeonnants par les cellules intestinales : elle semble constituer un passage obligatoire pour la généralisation de l'infection à d'autres tissus (Engelhard *et al.*, 1994).

La libération de virions bourgeonnants dans l'hémolymphe de la larve permet alors l'accès des virions à tous les tissus et la généralisation de l'infection.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

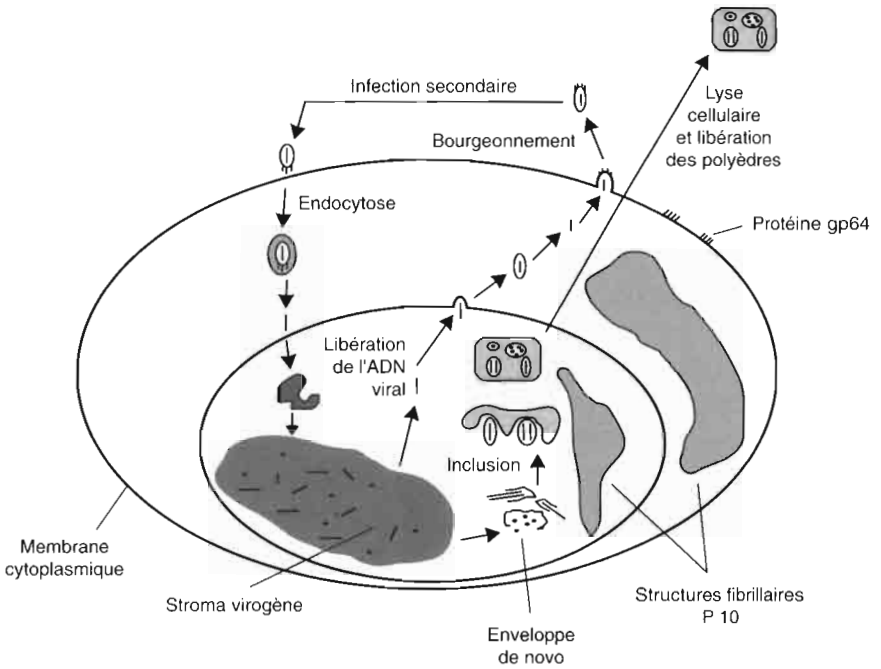


Figure 3 ■ Le cycle du baculovirus dans les cellules.
Une fois l'infection primaire réussie à partir des ODV (*occlusion-derived virus*), les BV produits sont capables d'infecter par endocytose les autres cellules de la larve. À pH acide, l'enveloppe virale fusionne avec la membrane du lysosome, libérant la nucléocapside dans le cytoplasme. Celle-ci migre vers le noyau ou la réplication virale commence. D'abord les gènes précoces sont transcrits. Dans leur majorité, ils interviennent dans le cycle cellulaire, le blocage des réponses cellulaires de défense (apoptose, nécrose), ainsi que dans la préparation de la réplication du génome virale (DNA polymérase, hélicases). Puis, l'ADN viral est répliqué et la phase tardive commence, avec la transcription des éléments structuraux des BV. Plus tard dans le cycle, les nucléocapsides arrêtent leur migration vers la membrane cytoplasmique, et sont enveloppées dans le noyau où elles sont incluses dans les OB. En parallèle, des structures fibrillaires composées de la protéine P10 se forment. Leur fonction n'est pas encore tout à fait connue. Elles semblent intervenir dans la rupture de la cellule. Les OB sont alors libérés à la mort de la cellule, puis de la larve.

En fin de cycle (figure 3), pratiquement chaque cellule de l'insecte est infectée. Au cours d'une infection expérimentale, pour s'assurer d'une infection de plus de 90 % des cellules, une multiplicité d'infection de cinq unités infectieuses par cellule est nécessaire. Des analyses expérimentales ont permis de déterminer que chez *T. ni* chaque cellule est infectée en moyenne par 4,3 particules (Bull *et al.*, 2001). Cette « infection multiple » n'est pas sans conséquence pour le virus. En effet, elle permet un mélange efficace de tous les génotypes présents dans la larve, ce qui facilite d'une part l'apparition de nouveaux génotypes par recombinaison, très active chez les baculovirus (Croizier et Ribeiro, 1992), mais aussi la trans-complémentation (présence dans le virion d'un ADN ne correspondant pas au contenu en protéines de la particule), et la « co-encapsidation » chez les MNPV (présence dans une même unité infectieuse de plusieurs génotypes différents). (López-Ferber *et al.*, 2003).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

À la fin de l'infection, les cellules de la larve se désintègrent, libérant les corps d'inclusion dans la cavité interne, puis le tégument larvaire est détruit grâce notamment aux chitinases et cathepsines codées par le virus (Hawtin *et al.*, 1997). Une fois ce tégument dégradé, ces corps d'inclusion se répandent dans l'environnement permettant le démarrage d'un nouveau cycle. Mais, le plus souvent, il ne suffit pas que ceux-ci soient présents dans l'environnement pour permettre de nouvelles infections. Il faut aussi qu'ils se trouvent dans des endroits où la prise de nourriture par d'autres larves a lieu. Or, les premières recherches sur les baculovirus ont mis en évidence que les larves infectées changeaient leur comportement : dans le cas du Lépidoptère *Lymantria monarcha*, les larves infectées avant leur mort, montent sur les branches supérieures des arbres, et meurent pendues aux feuilles par les pseudopattes abdominales. Ce comportement permet une contamination maximale des feuilles inférieures, et notamment les jeunes pousses, qui constituent la nourriture de prédilection des premiers stades larvaires, les plus sensibles à l'infection (Goulson, 1997).

3. *La composition génétique des populations virales : un génotype unique ou une population virale*

Dans les conditions du laboratoire, l'analyse du déroulement de l'infection virale n'est qu'un « modèle d'étude », comme souvent en expérimentation. En fait, dans la nature, la situation est beaucoup plus complexe : l'analyse du génotype des virus en est une bonne illustration.

Dès les premières études sur les baculovirus, on avait observé une grande variabilité génotypique dans les populations virales. Pourtant, la relation entre variabilité génotypique et pouvoir infectieux (figure 4), n'a pas souvent été mise en évidence (López-Ferber *et al.*, 2001). Les études sur le virus de la polyédrose nucléaire de *Panolis flamea*, Lépidoptère ravageur des forêts de conifères en Écosse, ont montré l'existence de nombreux variants génotypiques. Comme *P. flamea* est difficile à multiplier au laboratoire, un hôte de substitution a été recherché. *Mamestra brassicae* qui permet une bonne réplication de ce virus a été choisi. Lors des cycles de réplication sur cet hôte alternatif, la proportion de chaque variant génotypique évolue de façon caractéristique et bien différente de celle de l'hôte d'origine (Weitzman *et al.*, 1992).

La variabilité génotypique semble être plus faible chez les virus de granulose que chez les virus de polyédrose nucléaire et, parmi ces derniers, c'est chez les MNPV qu'elle est la plus importante. Le maintien de la variabilité de ces virus est probablement dépendant du mode de transmission entre individus. En effet, l'infection des cellules par plusieurs virus est la règle (Bull *et al.*, 2001). L'encapsidation multiple permet l'infection de chaque larve par un « échantillon » des génotypes présents dans la population d'origine. Par ailleurs, il a été démontré que les génomes des baculovirus sont capables de recombinaison, soit entre plusieurs génomes de virus (Croizier et Ribeiro, 1992), soit avec le génome de l'hôte. Il a même été montré

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

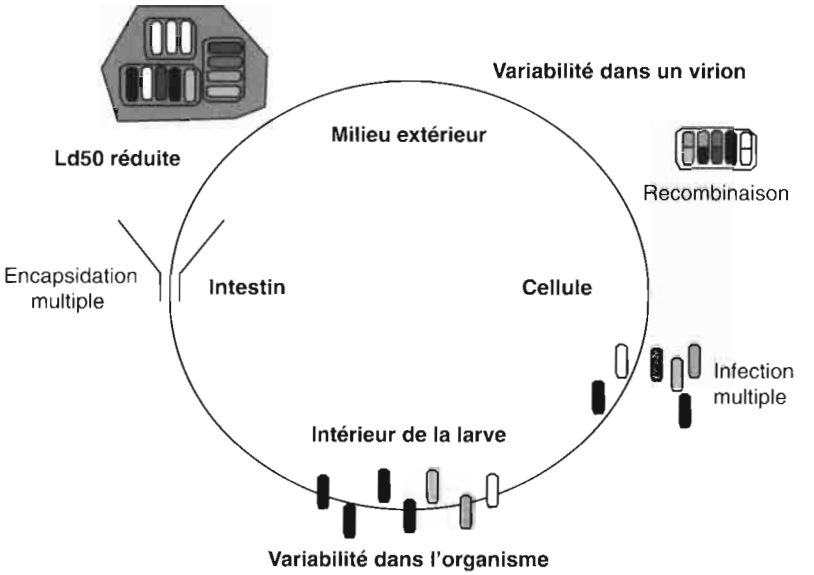


Figure 4 ■ Le maintien de la variabilité dans les MNPV (*multiple nucleopolyhedrovirus*). Les OB sont composés de virions contenant plusieurs génomes. L'infection dans une seule cellule permet de transmettre à l'organisme un échantillon varié de la population virale. Une fois dans l'organisme, les BV sont indépendants. Chaque cellule est infectée par plusieurs BV. À l'intérieur des cellules, des recombinaisons entre les génomes ont lieu, générant ainsi de nouvelles combinaisons, qui peuvent être enveloppées par une seule membrane.

que les baculovirus pouvaient être vecteurs de rétrotransposons (« *piggy back* », à l'origine dénommé IFP2) (Fraser *et al.*, 1996). L'existence de ces mécanismes de recombinaison chez les MNPV a comme conséquence qu'il est difficile de parler d'un génotype viral fixe. La population virale se comporte comme un ensemble de gènes « fluides », certains allèles et/ou combinaisons de gènes se trouvant avantagés dans un hôte donné, ou dans des conditions précises.

Pour la plupart des virus, une fréquence d'infections élevée facilite l'apparition de variants défectifs (particules défectives interférentes), lesquels par trans-complémentation peuvent se multiplier en utilisant les protéines virales produites par les virus dont le génotype est complet. Ils supplantent alors les virus sauvages car leur vitesse de réplication est plus élevée compte-tenu de leur plus petite taille. Jusqu'à présent, on admet que la présence de génotypes défectifs, aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*, réduit l'efficacité biologique des génotypes « complets » auxquels ils sont associés (Muñoz et Caballero, 2001). Par conséquent, il semblerait logique, pour le développement d'insecticides à base de baculovirus, de réaliser un clonage des génotypes, puis de sélectionner le ou les clone(s) le(s) plus virulent(s).

On pourra par exemple développer un bio-insecticide à base de baculovirus, à partir d'une population virale venant d'une localité donnée, ou d'un clone viral issu de cette population. Au départ, on peut supposer que la composition génétique de la population virale est adaptée à la population d'hôte sur laquelle elle a été

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

isolée. Lors de son utilisation dans la région d'origine, l'apport de « génotypes viraux » de cette même région, sans apport de nouveaux génotypes exogènes, peut provoquer un déséquilibre dans les proportions de génotypes présents. Par contre, si ce bio-insecticide est utilisé dans d'autres localités, la probabilité existe d'une interférence entre le virus « importé » et les populations virales locales. Ainsi, ces populations virales seraient probablement mieux adaptées pour lutter contre les ravageurs cibles. À titre d'exemple, les travaux réalisés sur les populations espagnoles de SeMNPV (baculovirus du Lépidoptère *Spodoptera exigua*) montrent que dans la population d'origine importée (US2), qui a servi pour le développement d'un bio-insecticide viral contre cet insecte, il y a des génotypes défectifs qui ne sont pas présents dans les populations locales espagnoles. Lors des co-infections des larves de *S. exigua* par les populations locales et celles importées, on observe une apparition et une multiplication importante de génotypes défectifs : il en résulte une perte d'infectiosité des populations locales, d'où, un moins bon contrôle du ravageur (Muñoz et Caballero, 2001). Ces observations posent donc la question de l'utilisation de produits à grande échelle d'un génotype viral donné, par rapport à l'utilisation de « génotypes locaux ». De plus, elles sembleraient montrer l'intérêt de l'utilisation d'un génotype unique par rapport à l'utilisation d'une population de « génotypes viraux ».

Cependant, la mise en évidence récente d'un bénéfice mutuel pour des associations entre des génotypes « complets » et des génotypes « défectifs » remet en cause cette notion (López-Ferber *et al.*, 2003). Les mécanismes impliqués n'ont pas encore été complètement élucidés. Nous ne savons pas non plus si cette coopération entre ces génotypes complets et défectifs est un phénomène général ou s'il s'agit d'une stratégie particulière au virus chez lequel il a été décrit : le virus de la polyédrose nucléaire de *Spodoptera frugiperda*, SfMNPV. Il n'est donc pas possible pour le moment d'établir une règle générale. Il est d'ailleurs possible qu'une telle règle n'existe pas, ce qui nous conduit à une analyse détaillée pour chaque situation dans l'utilisation de ces virus en « lutte biologique ».

4. *La production en masse du virus*

L'utilisation des baculovirus comme agents de contrôle biologique impose une production à grande échelle, avec un suivi très strict de la chaîne de « fabrication » et du contrôle de qualité.

Trois approches peuvent être envisagées pour aboutir à cette production : la production sur cultures cellulaires en fermenteurs, la production sur des larves dans des unités spécialisées et la production en champs dans des parcelles naturellement attaquées par les chenilles (Claus et Sciocco de Cap, 2001).

Aujourd'hui, tous les insecticides viraux commercialisés sont produits *in vivo*. Les investissements nécessaires pour une production de ce type sont moindres par rapport à une production *in vitro*. Pour cette dernière, la technologie reste encore lourde, son coût la rend difficilement exploitable pour les pays en voie de dévelop-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

pement, là où les baculovirus sont les plus utilisés. En effet, la production *in vivo* sur des larves permet, pour leur production, d'utiliser une alimentation disponible dans la région où le ravageur cause les problèmes.

Cependant, une analyse économique montre que le coût de la production est fonction de la quantité produite. Les économies d'échelle (*scaling up)* ne sont pas du tout semblables pour une production *in vivo* ou une production *in vitro*.

Ainsi, on considère qu'une production *in vitro* devient plus économique à mesure que les quantités à produire augmentent (Claus et Sciocco de Cap, 2001). Cette production *in vitro*, demande l'existence de cultures cellulaires qui se multiplient dans des milieux peu onéreux, à haute densité et qui puissent être infectés facilement par le virus à produire. Ces conditions sont souvent déterminantes pour beaucoup de baculovirus pour lesquels il n'y a pas encore de lignées cellulaires suffisamment productrices.

La production *in vivo*, sur des élevages de laboratoire, en unité de production ou en plein champ rend plus difficile la standardisation du produit, et donc le contrôle de qualité, même si plusieurs entreprises ont développé cette approche. Elle a comme avantage cependant le maintien du pouvoir infectieux du virus en reproduisant d'une manière plus exacte les conditions naturelles.

La façon la plus naturelle de produire le bio-insecticide est de récolter les larves mortes sur le terrain à la suite d'une épizootie, naturelle ou provoquée. Les corps d'inclusion extraits de ces larves seront infectieux pour la population d'origine. Cependant, la composition génétique de la population virale pourra être variable d'une récolte à l'autre, en fonction des conditions extérieures et donc du processus de sélection.

Dans le cas du baculovirus du Lépidoptère *Anticarsia gemmatalis* au Brésil, les parcelles naturellement les plus infectées au début de la campagne de production de soja sont consacrées à la production du virus. Entre 1991 et 1992, 11 000 kg de larves mortes ont pu être ainsi récoltées ce qui a permis de traiter 550 000 ha. La généralisation d'une telle méthode permet actuellement la protection de plus de 2 000 000 d'hectares. La limite de cette méthode est la disponibilité de parcelles pouvant être consacrées à la production du virus, la variabilité génomique des virus récoltés et aussi le risque de contamination avec d'autres virus (Cherry et Williams, 2001).

La production sur des larves sur milieu artificiel permet un contrôle précis de l'inoculum de départ donc, théoriquement, du produit final ; elle élimine le poids de la sélection naturelle face au développement de résistances éventuelles des insectes dans la nature. Si cette production se fait « en série », en utilisant comme inoculum la production précédente, les risques de perte du pouvoir infectieux due à une dérive génétique peuvent être à terme assez grands, d'où l'importance de maîtriser les techniques de contrôle de qualité, c'est-à-dire de pouvoir mesurer simplement et efficacement les titres infectieux produits. La production industrielle de granulose contre le carpocapse des arbres fruitiers est un exemple intéressant de cette méthode de production.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

5. *Les problèmes relatifs à l'application*

5.1. La formulation : pourquoi et comment ?

Une fois les polyèdres produits, *in vivo* ou *in vitro*, il faut pouvoir les apporter aux sites où les larves sont susceptibles de les ingérer, et garantir leur conservation pendant un temps suffisant. De nombreux travaux ont été consacrés à ce sujet (Steinke et Giles, 1995 ; Burges et Jones. 1997 ; Williams et Cisneros, 2001). Selon Williams et Cisneros, une formulation pour un tel bio-insecticide doit répondre à plusieurs critères :

- stabiliser le virus pendant la période de stockage ;
- faciliter l'utilisation du produit par l'agriculteur ;
- optimiser l'application et l'ingestion du virus par le ravageur ;
- augmenter l'activité insecticide face au pathogène ;
- optimiser sa persistance dans l'environnement.

Par exemple, l'utilisation d'adjuvants peut augmenter la sensibilité des larves aux virus, permettant ainsi de réduire les doses répandues. C'est le cas des dérivés du stilbene. Le mélange de baculovirus et d'autres insecticides, chimiques ou biologiques, ne semble pas augmenter le développement de résistances croisées. Par contre, des effets synergiques ont été observés entre des baculovirus et *Bacillus thuringiensis* (Jacques *et al.*, 1989), ou baculovirus et pyréthrinoïdes (Peters et Coaker, 1993).

5.2. Peut-on améliorer les baculovirus ?

Un des freins au développement des insecticides à base de baculovirus a été la comparaison défavorable avec les insecticides d'origine chimique ou ceux à base de toxine de *Bacillus thuringiensis*. Un résumé des principales caractéristiques de ces agents est présenté dans le tableau 1.

L'examen de ce tableau de la comparaison entre « bio-insecticide » et « insecticide chimique » met en évidence trois problèmes majeurs : la vitesse d'action, la persistance et la spécificité.

Au-delà des appréciations que l'on peut porter sur la validité d'une telle comparaison, voire sur l'appellation « bio-insecticide » des préparations à base de baculovirus, au cours des dernières années plusieurs groupes ont analysé les possibilités d'amélioration des caractères jugés défavorables. Plusieurs revues récentes sur ce sujet existent (Bonning et Hammock, 1996 ; López-Ferber et Del Rincón Castro, 2001). On pourra y trouver de nombreuses informations, nous n'en présenterons que quelques données.

Les premiers essais visaient une augmentation de la vitesse d'action par insertion de gènes étrangers, notamment de toxines ou d'hormones spécifiques aux insectes, mais les résultats furent décevants. Il a fallu attendre les expériences des groupes de L. Miller et de R. Possee pour que des améliorations significatives appa-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau I ■ Caractéristiques des propriétés insecticides des baculovirus comparées à celles des produits chimiques.

Propriétés	Produits chimiques	Baculovirus
Vitesse	Rapide	Lent
Dose	Variable	Variable
Persistance	Basse	Haute
Spécificité	Basse	Haute

raissent (Stewart *et al.*, 1991 ; Tomalski et Miller, 1991). De même, l'insertion de l'estérase de l'hormone juvénile (JHE) permit l'obtention d'un baculovirus à action plus rapide (Hammock *et al.*, 1990). D'autres molécules ont été essayées depuis, seules ou en combinaison. Il est ainsi possible de réduire le temps de survie de 30 à 40 %, ce qui conduit à une réduction des dégâts supérieure à 50 % (Stewart *et al.*, 1991 ; Cory *et al.*, 1994).

La délétion d'un gène du baculovirus, le gène *egt* codant pour une ecdystéroïde-glucosyl transférase, conduit à des effets comparables. Cette enzyme est impliquée dans la dégradation de l'ecdysone, hormone de mue essentielle pour l'insecte. Sa délétion permet ainsi d'augmenter la vitesse d'action du baculovirus de 20 à 30 % (O'Reilly 1995).

Dans tous les cas, la rapidité d'action du virus est corrélée à la diminution de la taille des larves infectées et, par conséquent, à une réduction très importante des dommages aux cultures. Par contre, une autre conséquence est le moindre rendement dans la production de ces virus, en particulier lors des amplifications *in vivo* (Cory *et al.*, 1994 ; Ignoffo et García, 1996).

Pour un baculovirus et un hôte donnés, la dose léthale (DL_{50}) augmente en fonction du stade larvaire (approximativement d'un facteur 10 ; Rovesti *et al.*, 2000). Les modifications ayant pour objectif une diminution de cette dose ont consisté à introduire des gènes codant pour des enzymes de dégradation de la membrane péritrophique comme les enhancines. Ainsi, l'insertion de l'enhancine du granulovirus de *T. ni* dans le baculovirus d'*A. californica* conduit à une diminution de la dose léthale de 52 % (López-Ferber et Del Rincón Castro, 2001). Cependant, les résultats les plus spectaculaires dans ce domaine ont été observés pour un mélange des corps d'inclusion avec des substances chimiques, tel le calcofluor M2R®, utilisé comme protecteur contre les UV dans l'industrie des peintures (*optical brigthners*). L'introduction de ces composés à 1 % dans les préparations de baculovirus rend la larve sensible au baculovirus quel que soit son stade larvaire. La sensibilité, mesurée par la concentration létale (CL_{50}) des larves de *S. frugiperda* à leur virus, est d'environ 10^4 corps d'inclusion par millilitre pour les larves de 2e stade, avec ou sans calcofluor. Par contre, pour les larves de 4e stade, les DL_{50} sont sans et avec calcofluor respectivement de 3,1 10^5 et de 5,1 10^3 corps d'inclusion par millilitre (Martinez *et al.*, 2003).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

La modification du spectre d'hôtes des baculovirus a fait aussi l'objet de plusieurs recherches. Deux groupes ont analysé les déterminants de spectre d'hôtes sur un modèle de laboratoire, les virus du Lépidoptère *Bombyx mori* (BmNPV) et celui d'*Autographa californica* (AcMNPV), sur des lignées cellulaires de *Spodoptera frugiperda* (Sf9) et de *B. mori* (Bm5, BmN). AcMNPV ne se multiplie pas sur les cellules Bm5 ou BmN. La substitution d'un fragment du génome de ce virus par un fragment homologue de BmNPV permet la multiplication de AcMNPV sur les cellules de Bm, et aussi sur les larves. Le fragment du génome le plus court obtenu par recombinaison a été de 400 paires de bases. Une analyse plus approfondie par délétion progressive et par mutation exhaustive a permis de démontrer que le remplacement de seulement quelques aminoacides dans le gène de l'hélicase virale (1 ou 2, selon la méthode utilisée) était suffisant pour permettre la réplication (Kamita et Maeda, 1997 ; Argaud *et al.*, 1998). L'analyse par des méthodes similaires des déterminants de spectre d'hôtes entre AcMNPV et LdMNPV, baculovirus de *Lymantria dispar,* a montré que l'addition chez AcMNPV d'un gène provenant de LdMNPV était suffisante pour permettre sa multiplication chez *L. dispar*. Ce gène, dénommé *hr-1* (*host range factor 1*), serait impliqué dans le blocage de la réponse des cellules à l'infection (Mazzacano *et al.*, 1999). Chaque virus s'est adapté à un ou plusieurs hôtes et chaque hôte réagit à l'infection par des mécanismes, actifs ou passifs, certainement différents.

La modification de la persistance vise surtout à limiter les risques liés à la présence de baculovirus recombinants dans l'environnement. En effet, nous avons indiqué que les baculovirus étaient capables de recombinaison entre eux et, en partie, avec le génome de leurs hôtes. Leur survie de longue durée laisse penser qu'une fois le baculovirus recombinant libéré dans l'environnement, le gène étranger qu'il contient sera également présent pendant de longues périodes. La diminution de cette persistance devrait donc conduire à limiter ces risques. Un exemple est l'élimination du gène codant la polyédrine, ce qui conduit à une persistance très limitée dans l'environnement, mais présente des problèmes pour l'infection *in vivo*. La possibilité de co-occlusion des virions sans polyédrine contenant un gène à activité insecticide, avec un virus codant pour la polyédrine, pourrait répondre à ce problème. Des expériences ont été faites sur le devenir de tels baculovirus modifiés en co-infection. Les données obtenues montrent que leur présence diminue progressivement jusqu'à devenir indétectable (Wood *et al.*, 1994). Une autre méthode développée par la même équipe consiste à utiliser les mêmes virus dépourvus de polyédrine, mais dans des préparations qui les protégent. Ainsi, les virus, une fois la larve tuée, n'ayant ni la polyédrine ni cette préparation protectrice, disparaîtraient (Hughes et Wood, 1996 ; Wood, 1996).

5.3. L'utilisation : quels problèmes ?

L'utilisation massive des baculovirus soulève donc de nombreuses questions sur la résistance, la modification des génotypes de souches locales par ceux contenus

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

dans la préparation virale dans le cas d'utilisation de souches exotiques, les risques théoriques de la présence massive du virus dans la nature et dans les aliments, humains ou animaux, sans parler des risques potentiels lors de l'utilisation des baculovirus génétiquement modifiés.

Les exemples de traitement à grande échelle, en utilisant des souches locales et par production du virus sur larves, sont cependant rassurants. Les résultats obtenus sont très prometteurs. Une augmentation de la résistance des insectes au virus n'a, à ce jour, été obtenue, qu'au laboratoire et en conditions contrôlées.

Aujourd'hui, la difficulté à laquelle se trouvent confrontées les initiatives dans l'utilisation de ces virus comme bio-insecticides concerne principalement les questions de production et de contrôle du pouvoir infectieux des préparations.

Conclusion et perspectives

Comme nous l'évoquions initialement, l'utilisation de « bio-insecticides » comme les baculovirus ouvrent de réelles perspectives même si, aujourd'hui, les traitements chimiques contre les insectes prédateurs restent les « armes » privilégiées dans nos pays : une étude économique pourrait peut-être justifier un tel choix. Cependant, dans l'esprit d'une « agriculture raisonnée », l'utilisation de baculovirus représente un des moyens de passer d'une agrochimie, certes efficace à court terme mais souvent aveugle et polluante à long terme, à une agrobiologie où c'est d'abord l'équilibre des populations naturelles qui prévaut. Ici, il s'agit principalement de diminuer le niveau de prédation des insectes en augmentant le niveau de contrôle « naturel » des ravageurs. Dans le cas des baculovirus, ce niveau de contrôle dépend de l'efficacité des virus. Ils doivent être présents et en quantité suffisante au bon moment. Il ne s'agit pas de « tout tuer » mais de réduire les nuisances à un taux économiquement acceptable. Cette démarche est de plus en plus développée dans les pays du sud par exemple, comme le Brésil, l'Égypte, l'Indonésie ou l'Équateur.

En ce qui concerne l'utilisation des baculovirus, aboutir à ces modifications de l'équilibre des populations d'insectes est tout à fait envisageable. Ils présentent un énorme potentiel. Mais un gros travail reste à faire pour en faire des acteurs efficaces dans la lutte biologique. Il ne suffit pas de trouver un virus dans une population locale pour en faire un insecticide. Les problèmes de la connaissance approfondie de la souche, son comportement dans les populations d'insectes pour le rendre plus ou moins spécifique, plus ou moins efficace, les compétitions entre populations virales indigènes et exogènes sont autant de points qu'il faut maîtriser. Le virus de la granulose du carpocapse est un très bel exemple de l'utilisation d'un baculovirus contre les Lépidoptères des arbres fruitiers. De nombreuses souches ont été homologuées en Europe comme en Amérique du Nord et chaque souche semble bien adaptée à son environnement géographique. Il en est de même pour quelques autres baculovirus. Demain, d'autres virus de type granulose pourront être utilisés contre d'autres Lépidoptères, certains le sont déjà dans des conditions souvent « arti-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

sanales », contre la teigne de la pomme de terre par exemple. D'autres baculovirus pourront aussi être utilisés si l'on se donne les moyens d'aller de l'analyse moléculaire des génomes de ces virus à l'étude de leur évolution en plein champ, en passant par le comportement des insectes ravageurs et aux risques liés à de nouveaux virus modifiés génétiquement.

Références bibliographiques

Argaud O., Croizier L., López-Ferber M., Croizier G. (1998). Two key mutations in the host-range specificity domain of the p143 gene of *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus are required to kill *Bombyx mori* larvae. *J Gen Virol*, **79** : 931-935.

Becnel J.J., White S.E., Shapiro A.M. (2003). *Culex nigripalpus* nucleopolyhedrovirus (CuniNPV) infections in adult mosquitoes and possible mechanisms for dispersal. *J Invertebr Pathol*, **83** : 181-183.

Bonning B.C., Hammock B.D. (1996). Development of recombinant baculoviruses for insect control. *Annu Rev Entomol*, **41** : 191-210.

Bull J.C., Godfray H.C.J., O'Reilly D. (2001). Persistence of an occlusion-negative recombinant nucleopolyhedrovirus in *Trichoplusia ni* indicates high multiplicity of cellular infection. *Appl Environ Microbiol*, **67** : 5204-5209.

Burges H.D., Jones K.A. (1997). Formulation of bacteria protozoa and viruses. *In* Burges H.D., *Formulation of microbial biopesticides: beneficial microorganisms, nematodes and seed treatments*. Kluwer Acad Pubs, Dordrecht, 33-127.

Caballero P., Williams T., López-Ferber M. (2001). Estructura y clasificación de los baculovirus. *In* Caballero P., Williams T., López-Ferber M., *Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas*. Phytoma/Universidad Pública de Navarra, 15-46.

Cherry A., Williams T. (2001). Control de insectos plage mediante los baculovirus. *In* Caballero P., Williams T., López-Ferber M., *Los baculovirus y sus plicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas*. Phytoma/Universidad Pública de Navarra, 389-452.

Claus J.D., Scioco de Cap (2001). Producción masiva de baculovirus. *In* Caballero P., Williams T., López-Ferber M., *Los baculovirus y sus plicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas*. Phytoma/Universidad Pública de Navarra, 257-314.

Cory J.S., Hirst M.L., Williams T., Hails R.S., Goulson D., Green B.M., Carty T.M., Possee R.D., Cayley P.J., Bishop D.L.H. (1994). Field trial of a genetically improved baculovirus. *Nature*, **370** : 138-140.

Croizier G., Ribeiro C.H.T. (1992). Recombination as a possible major cause of genetic heterogeneity in *Anticarsia gemmatalis* nuclear polyhedrosis virus wild populations. *Virus Res*, **26** : 183-196.

Engelhard E.K., Kam-Morgan L.N.W., Washburn J.O., Volkman L.E. (1994). The insect tracheal system: a conduit for the systemic spread of *autographa californica* M nucelar polyhedrosis virus. *Proc Natl Acad Sci USA*, **91** : 3224-3227.

Engelhard E.K., Keddie B.A., Volkman L.E. (1995). Developmental resistence within four instar *Trichoplusia ni* orally inoculated with *Autographa californica* M nuclear polyhedrosis virus. *Virology*, **209** : 384-389.

Fedhila S., Nel P., Lereclus D. (2002). The InhA2 metalloprotease of *Bacillus thuringiensis* strain 407 is required for pathogenicity in insects via the oral route. *J Bacteriol*, **184** : 3296-3304.

Fraser M.J., Ciszczon T., Elick T., Bauser C. (1996). Precise excision of TTAA-specific lepidopteran transposons piggyBac (IFP2) and tagalong (TFP3) from the baculovirus genome in cell lines from two species of Lepidoptera. *Insect Mol Biol*, **5** : 141-151.

Goulson D. (1997). Wipfelkrankheit: manipulation of host behaviour by a baculovirus. *Oecologia*, **109** : 219-228.

Hammock B.D., Bonning B.C., Possee R.D., Hanzlik T.N., Maeda S. (1990). Expression and effects of the juvenile hormone esterase in a baculovirus vector. *Nature*, **344** : 458-461.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Hawtin R.E., Zarkowska T., Arnold K., Thomas C.J., Gooday G.W., King L.A., Kuzio J.A., Possee R.D. (1997). Liquefaction of Autographa californica nucleopolyhedrovirus-infected insects is dependent on the integrity of virus-encoded chitinase and cathepsin genes. *Virology*, **238** : 243-253.

Hoover K., Washburn J.O., Volkman L.E. (2000). Midgut-based resistance of *Heliothis virescens* to baculovirus infection mediated by phytochemicals in cotton. *J Insect Physiol*, **46** : 999-1007.

Horton H.M., Burand J.-P. (1993). Saturable attachment sites for polyhedron-derived baculovirus on insect cells and evidence for entry via direct membrane fusion. *J Virol*, **67** : 1860-1868.

Hughes P.R., Wood H.A. (1996). *In vivo* production, stabilization, and infectivity of baculovirus preoccluded virions. *Appl Environ Microbiol*, **62** : 105-108.

Ignoffo C.M., García C. (1996). Rate of larval lysis and yield and activity of inclusion bodies harvested from *Trichoplusia ni* larvae fed a wild or recombinant strain of the nuclear polyhedrosis virus of *Autographa californica*. *J Invertebr Pathol*, **68** : 196-198.

Jaques R.P., Laing D.R., Maw H.E.L. (1989). Efficacy of mixtures of microbial insecticides and permethrin against the cabbage looper (*Lepidoptera: Noctuidae*) and the imported cabbageworm (*Lepidoptera: Pyralidae*). *Can Entomol*, **121** : 809-820.

Kamita S.G., Maeda S. (1997). Sequencing of the putative DNA helicase-encoding gene of the Bombyx mori nuclear polyhedrosis virus and fine-mapping of a region involved in host range expansion. *Gene*, **190** : 173-179.

Kikhno I., Gutierrez S., Croizier L., Croizier G., López Ferber M. (2002). Characterization of pif, a gene required for the *per os* infectivity of Spodoptera littoralis nucleopolyhedrovirus. *J Gen Virol*, **83** : 3013-3022.

Kuzio J., Jacques R., Faulkner P. (1989). Identification of *p74*, a gene essential for virulence of baculovirus occlusion bodies. *Virology*, **173** : 759-763.

Lehane M.J. (1997). Peritrophic matrix structure and function. *Annu Rev Entomol*, **42** : 525-550

López-Ferber M., Del Rincón Castro M.C. (2001). Baculovirus recombinantes en control integrado. *In* Caballero P, Williams T., López-Ferber M., *Los baculovirus y sus plicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas*. Phytoma/Universidad Pública de Navarra, 225-255.

López-Ferber M., Argaud O., Croizier L., Croizier G. (2001). Diversity, distribution and mobility of *bro* gene sequences in *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus. *Virus genes*, **22** : 247-254.

López-Ferber M., Simón O., Williams T., Caballero P. (2003). Defective or effective? Mutualistic interactions between virus genotypes. *Proc Roy Soc B*, **270** : 2249-2255.

Martinez A.M., Simón O., Williams T., Caballero P. (2003). Effect of optical brighteners on the insecticidal activity of a nucleopolyhedrovirus in three instars of *Spodootera frugiperda*, *Entomol Exp Appl*, **109** : 139-146.

Mazzacano C.A., Du X., Thiem S.M. (1999). Global protein synthesis shutdown in *Autographa californica nucleopolyhedrovirus* – infected Ld652Y cells is rescued by tRNA from uninfected cells. *Virology*, **260** : 222-231.

Monsma S.A., Oomens A.G., Blissard G.W. (1996). The GP64 envelope fusion protein is an essential baculovirus protein required for cell-to-cell transmission of infection. *J Virol*, **70** : 4607-4616.

Muñoz D., Caballero P. (2001). Diversidad natural de los baculovirus. *In* Caballero P., López-Ferber M., Williams T., *Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas*. Phytoma/Universidad Pública de Navarra, 95-118.

O'Reilly D.R. (1995). Baculovirus-encoded ecdysteroid UDP-glucosyltransferases. *Insect biochem mol biol*, **25** : 541-550.

Pearson M.N., Russell R.L.Q., Rohrmann G.F. (2001). Characterization of a Baculovirus-Encoded Protein That Is Associated with Infected-Cell Membranes and Budded Virions. *Virology*, **291** : 22-31.

Peters S.E.O., Coaker T.H. (1993). The enhancement of *Pieris brassicae* (L.) (*Lep., Pieridae*) granulosis virus infection by microbial and synthetic insecticides. *Appl Entomol Zool*, **116** : 72-79.

Pijlman G.P., Pruijssers A.J., Vlak J.M. (2003). Identification of *pif-2*, a third conserved baculovirus gene required for *per os* infection of insects. *J Gen Virol*, **84** : 2041-2049

Popham H.J.R., Bischoff D.S., Slavicek J.M. (2001). Both *Lymantria dispar* nucleopolyhedrovirus *enhancin* genes contribute to viral potency. *J Virol*, **75** : 8639-8648

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Rovesti L., Crook N.E., Winstanley D. (2000). Biological and Biochemical Relationships between the Nucleopolyhedroviruses of *Mamestra brassicae* and *Heliothis armigera*. *J Invertebr Pathol*, **75** : 2-8.

Steinke W.E., Giles D.K. (1995). Delivery systems for biorational agents, *In* Hall F.R., Barry J.W., *Biorational pest control agents: formulation and delivery*. ACS Symposium Series 595, Amer. Chem. Soc., Washington, D.C., 80-94.

Stewart L.M., Hirst M., López-Ferber M., Merryweather A.T., Cayley P.J., Possee R.D. (1991). Construction of an improved baculovirus insecticide containing an insect-specific toxin gene. *Nature*, **352** : 85-88.

Tomalski M.D, Miller L.K. (1991). Insect paralysis by baculovirus-mediated expression of a mite neurotoxin gene. *Nature*, **352** : 82-85.

van Beek N.A.M., Wood H.A., Hughes P.R. (1988). The numbers of nucleocapsids of enveloped *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus particles affects the survival time of neonate *Trichoplusia ni* larvae. *J Invertebr Pathol*, **52** : 185-186.

Wang P., Granados R.R. (1997). An intestinal mucin is the target substrate for a baculovirus enhancin. *Proc Natl Acad Sci USA*, **94** : 6977-6982.

Washburn J.O., Kirkpatrick B.A., Haas-Stapleton E., Volkman L.E. (1998). M2R enhances *Autographa californica* M nucleopolyhedrovirus infection of *Trichoplusia ni* and *Heliothis virescens* by preventing sloughing of infected midgut epithelial cells. *Biol Control*, **11** : 58-69.

Washburn J.O., Lyons E.H., Haas-Stapleton E.J., Volkman L.E. (1999). Multiple nucleocapsid packaging of *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus accelerates the onset of systemic infection in *Trichoplusia ni*. *J Virol*, **73** : 411-416.

Washburn J.O., Trudeau D., Wong J.F., Volkman L.E. (2003). Early pathogenesis of *Autographa californica multiple nucleopolyhedrovirus* and *Helicoverpa zea single nucleopolyhedrovirus* in *Heliothis virescens*: a comparison of the 'M' and 'S' strategies for establishing fatal infection. *J Gen Virol*, **84** : 343-351.

Weitzman M.D., Possee R.D., King L.A. (1992). Characterization of two variants of *Panolis flammea* multiple nucleocapsid nuclear polyhedrosis virus. *J Gen Virol*, **73** : 1881-1886.

Williams T., Cisneros J. (2001). Formulación y Aplicación de los Baculovirus Bioinsecticidas. *In* Caballero P., Williams T., López-Ferber M., *Los baculovirus y sus plicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas*. Phytoma/Universidad Pública de Navarra, 313-372.

Wood H.A. (1996). Genetically enhanced baculovirus insecticides *In* Gunasekaran M., Weber D.J., *Molecular biology of the biological control of pests and diseases of plants*. CRC Press, Inc., Boca Ratón, Florida, 91-104

Wood H.A., Hughes P., Shelton A. (1994). Field studies of the co-occlusion strategy with a genetically altered isolate of the *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus. *Environ Entomol*, **23** : 211-219.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

28

Différents aspects de la protection biologique intégrée sous serre en France

Jean-Charles Maisonneuve, Elizabeth Rat-Morris, Susan Johnson

Les serres procurent un environnement idéal à la croissance des plantes, du fait du contrôle des facteurs climatiques et agronomiques (température, humidité, ensoleillement, composition gazeuse de l'air, irrigation et fertilisation). Les cultures y sont protégées des facteurs extrêmes (gel, forte chaleur, vent, grêle, etc.). Ces conditions de croissance, optimales pour les plantes, le sont également pour un certain nombre de ravageurs de ces cultures. À 21 °C, la durée d'une génération de l'aleurode des serres, *Trialeurodes vaporariorum*, d'environ 30 jours (Di Pietro, 1977) tandis que le temps de doublement de l'effectif d'une colonie de pucerons est de 2,4 à 2,7 jours pour *Macrosiphum euphorbiae* (Rabasse, 1981).

La multiplicité des ravageurs (plus de 10 dans les cultures de tomate *Lycopersicum esculentum*), ainsi que la vitesse de développement de leurs populations, nécessitent un contrôle permanent, qui oblige les serristes à multiplier les applications phytosanitaires pour se maintenir au-dessus du seuil de rentabilité économique.

Développée en France depuis plus de 30 ans, la protection biologique intégrée (PBI) privilégie la lutte biologique : apport sur les cultures d'organismes auxiliaires vivants, usage limité de produits phytosanitaires compatibles avec ces auxiliaires et intégration de mesures prophylactiques et agronomiques. Dans la littérature, on trouve les résultats d'expérimentations mises en place en 1970, dans la région de Rennes, pour contrôler le tétranyque tisserand *Tetranychus urticae* en cultures de concombre (*Curcumis melo*) avec l'acarien prédateur *Phytoseiulus riegeli* (Redlich et Dubois, 1970), appelé plus tard *Phytoseiulus persimilis*.

Au cours de cette période, la PBI n'a cessé de se développer. Dans ce chapitre, nous ferons un état des lieux, le plus exhaustif possible, de son usage en France, des cultures utilisatrices, des ravageurs contrôlés et des différents auxiliaires utilisés dans l'environnement particulier que procurent les serres.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1. Situation et évolution

1.1. En Europe

Utilisée dans la plupart des pays d'Europe, la PBI recouvre des superficies très différentes d'un pays à l'autre. Le tableau 1 montre que la méthode est utilisée, en cultures légumières sous abri, dans la plupart des pays européens. Les surfaces ont été recensées entre 1984 (pour la Roumanie) et 2003 (pour le Danemark). Elles donnent néanmoins une idée de l'importance relative de la PBI dans les différents pays pour lesquels des données sont disponibles.

Tableau 1 ■ Surfaces en protection biologique et intégrée (PBI) en cultures légumières sous serre en Europe (Maisonneuve, 2003).

Pays	Année de référence	Superficie (ha)
Allemagne	1997	356
Angleterre	1999	470
Autriche	2000	273
Belgique	1999	1 174
Bulgarie	1986	554
Danemark	2003	118
Espagne	1999	1 217
France	2001	1 802
Finlande	1999	220
Grèce	2001	100

Pays	Année de référence	Superficie (ha)
Hongrie	1999	258
Italie	1999	258
Irlande	1984	22
Norvège	1988	11
Pays-Bas	1999	3 000
Pologne	2002	360
Roumanie	1984	30
Suède	1999	110
Suisse	1999	37

Au Danemark, la proportion de cultures sous serre utilisant la PBI avoisine les 100 % ; elle est de 55 % en France en culture de tomate. Pour l'Espagne, les données correspondent uniquement aux cultures de poivron (*Capsicum annuum*) (Maisonneuve, 2003).

La PBI est utilisée un peu partout dans le monde, principalement dans les zones de production de tomate sous serre (États-Unis, Canada, Japon, Corée, Australie, Nouvelle-Zélande, etc.) avec toutefois des variantes quant aux auxiliaires utilisés. Les choix se font, en effet, en fonction des disponibilités locales ainsi que des législations sur les introductions d'organismes exotiques. Dans ce cadre, l'Europe occupe la première place, avec plus de 12 000 ha de cultures sous serre, sous PBI.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1.2. En France

En cultures sous serre, la PBI utilise essentiellement la lutte biologique par apports inondatifs, qui consiste à apporter régulièrement de grandes quantités d'auxiliaires, à la différence de la technique d'inoculation qui procède par petits apports limités et peu répétitifs (*cf.* chapitre 22).

À partir de 1979, nous avons pu quantifier les superficies utilisatrices de la PBI en France et les données sont présentées dans la figure 1.

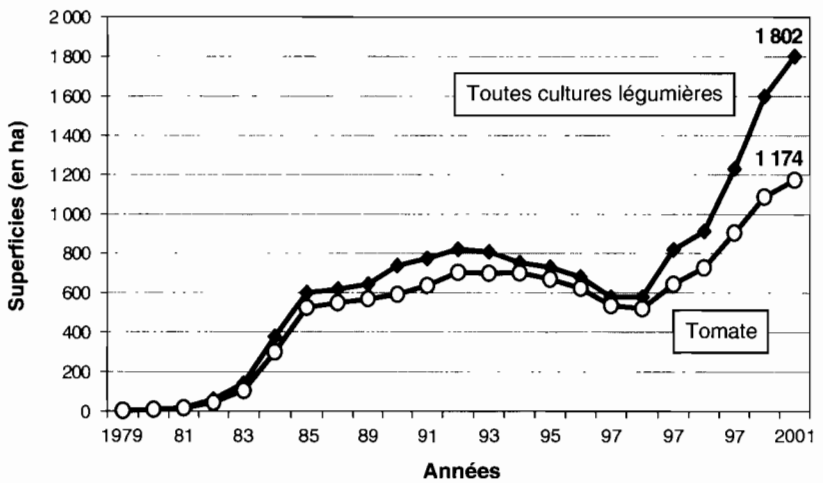


Figure 1 ■ Évolution des surfaces en protection biologique et intégrée (PBI) en cultures légumières sous serre en France (Maisonneuve, 2001).

Jusqu'en 1989, les superficies croissent régulièrement. À cette date, deux nouveaux ravageurs nouvellement introduits en France, le thrips *Frankliniella occidentalis* et l'aleurode *Bemisia tabaci*, viennent modifier les données du problème. Une certaine crainte s'installe chez les maraîchers, dont certains préfèrent revenir à la lutte chimique conventionnelle, plutôt que de prendre le risque de voir s'installer sur leurs exploitations ces deux ravageurs, capables de transmettre des virus comme le *tomato spotted wilt virus* (TSWV) (Maisonneuve, 1998).

La recherche puis la commercialisation de nouveaux auxiliaires et la mise au point de stratégies d'apports adaptées ont permis la reprise du développement de la PBI à partir de 1996. Depuis cette date, l'augmentation des surfaces est constante, montrant ainsi le degré de fiabilité atteint par cette technique.

Plusieurs arguments expliquent cette progression : un coût inférieur ou égal à la lutte chimique ; une efficacité supérieure ; l'inexistence de phénomènes de résistance chez les ravageurs ; une facilité d'emploi ; un respect total de la législation sur les pesticides ; une demande – voire une certaine pression – des centrales d'achat ; une réponse aux aspirations des consommateurs. Tout ceci induit des effets positifs au niveau de l'environnement (plus de gestion des emballages vides, respect de la faune auxiliaire spontanée) et ne peut que satisfaire la demande citoyenne.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

2. *Cultures utilisatrices*

Alors qu'en 1980 la PBI était essentiellement appliquée sur deux cultures, la tomate et le concombre, actuellement elle est utilisée sur des cultures très diversifiées : des cultures légumières et ornementales sous serre et de plein champ, ainsi que sur des cultures non commerciales.

2.1. Cultures légumières

Parmi les dix principales cultures légumières en serre, utilisatrices de la PBI (figure 2), la tomate est de loin la plus importante, avec environ 1 175 ha pour 2 200 ha cultivés sous serre en 2001 (Maisonneuve, 2001). Cette valeur correspond à 55 % des surfaces sous abri cultivées en France. Dans l'Ouest de la France, plus de 80 % des surfaces cultivées en tomate sont protégées par la PBI. À l'origine, la protection des cultures de tomate était considérée comme relativement facile, puisqu'il fallait seulement la protéger contre deux ravageurs principaux : l'aleurode et les pucerons. Le contrôle des mouches mineuses et des Lépidoptères s'est ensuite révélé nécessaire et a été maîtrisé. Celui des acariens s'est avéré plus difficile. La culture du concombre, dont les superficies totales sont estimées à 330 ha, couvre 219 ha en PBI ; mais le contrôle des thrips par la lutte biologique y est difficile.

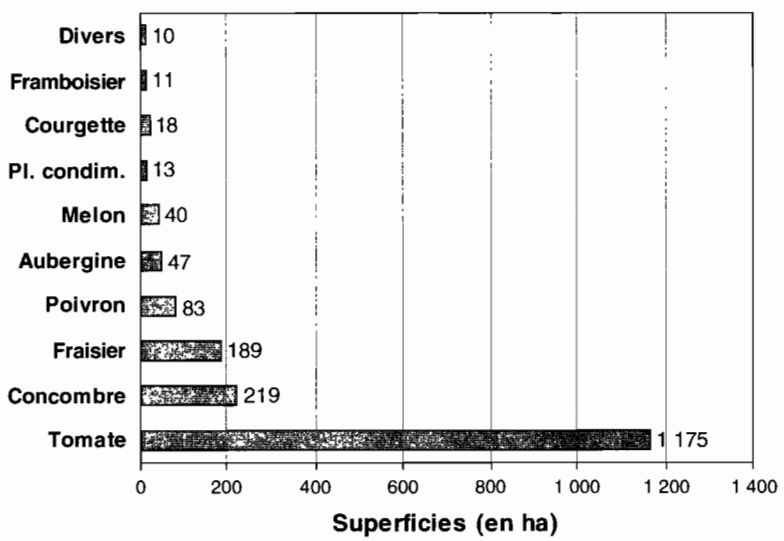


Figure 2 ■ Cultures légumières sous abri utilisatrices de la protection biologique intégrée (PBI) en France (Maisonneuve, 2001).

En cultures légumières de plein champ, dont la principale, sur 160 ha, est le maïs doux, le parasitoïde *Trichogramma brassicae* est utilisé pour le contrôle de la pyrale

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Ostrinia nubilalis. À titre de comparaison, sur maïs grande culture en 2001, cet auxiliaire était utilisé sur 75 000 ha (Maisonneuve, 2001).

La PBI commence également à se développer en production grainière sous abri (Franco *et al.*, 1999 ; Rat-Morris, 1999).

2.2. Cultures ornementales

En France, le développement de la PBI en cultures ornementales sous serre est plus récent qu'en cultures légumières. Les premières données remontent à 1988. Toutefois, c'est à partir de 1995, qu'une progression relativement constante est observée (Maisonneuve et Tréguier, 1996). Beaucoup plus exigeante techniquement qu'en cultures légumières, la PBI s'est néanmoins diversifiée rapidement sur différents types de cultures : fleurs coupées, plantes en pots, parcs et jardins, ainsi que dans les serres techniques des villes (Mary *et al.*, 2000). Les chiffres publiés correspondent souvent, en particulier pour les plantes en pots, à des superficies agronomiques (comptées pour chaque série de plante), et sont, de ce fait, supérieurs aux superficies physiques.

Pratiquée sur 52 hectares en 2001, la PBI en cultures ornementales ne connaît pas d'évolution significative par rapport à l'année précédente (figure 3). Toutefois, la culture des fleurs coupées régresse de 13,6 ha à 12,6 ha. Ce phénomène est à peine plus marqué pour les plantes en pots avec des chiffres qui varient de 28 à 26,8 h. Les surfaces des serres techniques de villes et des parcs ouverts au public (12,6 ha) sont relativement importantes.

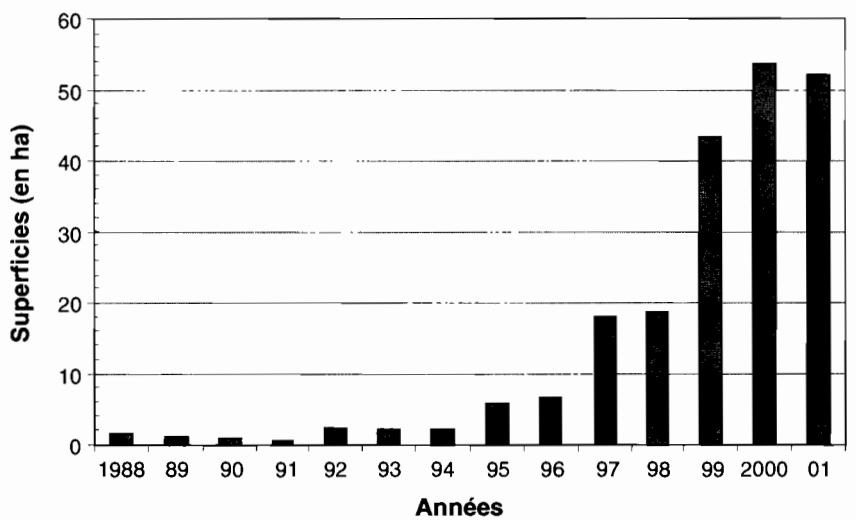


Figure 3 ■ Évolution des surfaces de cultures ornementales conduites en protection biologique intégrée (PBI) en France (Maisonneuve, 2001).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

2.3. Cultures non commerciales

La PBI se développe également sous des serres d'exposition ouvertes au public pour lesquelles la culture des plantes n'est pas l'objectif commercial. Les raisons en sont diverses :

- réduction des risques engendrés par la lutte chimique par rapport au public ;
- création et maintien d'une image de marque ;
- incompatibilité des traitements phytosanitaires avec la faune présente ;
- absence de produits homologués sur les ravageurs présents et sur des plantes très diversifiées, représentant des surfaces trop faibles pour intéresser les firmes qui commercialisent des produits phytosanitaires.

Il est impossible d'énumérer toutes ces structures non commerciales mais les principales sont : les serres d'exposition de papillons vivants ; les conservatoires botaniques nationaux ; les serres tropicales et les roseraies des villes.

L'action de la ville de Caen, pionnière dans ce domaine, est exemplaire. Elle a bâti et mis au point, depuis plus de vingt ans, son propre élevage d'auxiliaires : la coccinelle à sept points *Coccinella septempunctata*, vulgarisant ainsi largement, auprès de ses habitants, la notion que l'usage des auxiliaires peut avoir des effets bénéfiques.

La grande diversité de plantes présentes dans ces structures n'est pas incompatible avec la PBI. Bien que ces serres ne soient pas des serres de production, la PBI y a été mise en place en tenant compte des contraintes budgétaires auxquelles ces structures sont confrontées ; et les coûts unitaires par m^2 s'avèrent tout à fait acceptables. Des centres de recherche, ainsi que des établissements d'enseignement utilisent également la PBI, ce qui reflète le degré de fiabilité atteint par cette technique.

3. *Les ravageurs en serre et les auxiliaires utilisés*

3.1. Les aleurodes

Trialeurodes vaporariorum, l'aleurode des serres, a été le « facteur déclenchant », à la fin des années 70, pour la mise en place de la PBI sur culture de tomate. Ce ravageur, qui est très présent sur la plupart des cultures légumières et ornementales, a été identifié pour la première fois par Speyer en Grande-Bretagne en 1926 (Hussey et Scopes, 1985). Un Hyménoptère parasitoïde, *Encarsia formosa*, fut alors expérimenté et utilisé à partir de 1979. Au début des années 80, *E. formosa* était utilisé efficacement sur les cultures de tomate, avec des températures nocturnes de l'ordre de 14 °C. À partir de 1990, un prédateur polyphage, la punaise *Macrolophus caliginosus*, fut introduit pour compléter efficacement l'action du parasitoïde *E. formosa*. La lenteur d'installation de *M. caliginosus*, peut être compensée par l'utilisation de « plantes relais » comme le tabac *Nicotiana tabacum*, ou une alimentation artificielle avec des œufs de la teigne de la farine *Ephestia kuehniella* (Maisonneuve, 2000).

À la même époque, l'introduction en France de l'aleurode *Bemisia tabaci*, tout d'abord sur cultures ornementales (poinsettia, hibiscus, etc.), puis sur cultures légumières, mit les professionnels de la PBI en difficulté. Mais ce nouveau ravageur put être partiellement contrôlé, par *E. formosa*, et surtout par les Hyménoptères parasitoïdes *Eretmocerus eremicus*, et *Eretmocerus mundus*.

D'autres auxiliaires commercialisés en Europe, sont peu utilisés en France, comme la coccinelle *Delphastus pusillus*, qui demande, pour être efficace, des températures supérieures à 28 °C (Hoelmer *et al.*, 1993).

3.2. Les pucerons

Les principaux pucerons des cultures légumières sous serre sont : *Aulacorthum solani*, *Aphis gossypii*, *Macrosiphum euphorbiae* et *Myzus persicae*. Ils peuvent également contaminer les cultures ornementales, pour lesquelles il convient d'ajouter une liste de pucerons plus spécifiques tels que *Macrosiphum rosae*, *Aulacorthum circumpflexum*, *Macrosiphonella sanborni*, *Brachycaudus helichrysi*. Leur contrôle peut être assuré par de nombreux auxiliaires qui sont commercialisés.

Alors que la spécificité des auxiliaires vis-à-vis des pucerons des cultures légumières est bien connue par les professionnels de cette filière, elle l'est moins par ceux des cultures ornementales. De ce fait, les prédateurs, polyphages, doivent être utilisés prioritairement ; les parasitoïdes, très spécifiques, ne seront éventuellement utilisés qu'après une identification précise des pucerons présents. Le tableau 2, qui présente les différents auxiliaires commercialisés, ainsi que les « pucerons cibles » correspondants, illustre bien cette spécificité.

Des plantes relais sont parfois utilisées pour contribuer à l'efficacité des parasitoïdes introduits, et améliorer ainsi leur présence permanente sur la culture. Ce sont principalement des graminées (blé, orge et éleusine). Ce système, encore peu développé, fait preuve d'efficacité chaque fois qu'il est utilisé (*cf.* 4.1.).

3.3. Les mouches mineuses

Identifiée pour la première fois en France en 1977, *Liriomyza trifolii* causa alors de nombreux dégâts tant en cultures légumières qu'ornementales. D'autres mineuses du même genre, *L. strigata*, *L. bryoniae* et *L. huidobrensis*, furent également identifiées sur de nombreuses cultures légumières et ornementales. Deux auxiliaires furent alors commercialisés au milieu des années 80 et utilisés en PBI : *Dacnusa sibirica*, endo-parasitoïde se développant à l'intérieur de l'asticot, et *Diglyphus isaea*, ectoparasitoïde, restant fixé à l'extérieur. Remarquables pour leur efficacité, ils permirent de contrôler rapidement ces mouches mineuses. À l'époque, des observations réalisées par le service de la Protection des végétaux (SPV) dans le Sud-Est de la France montrèrent qu'une réduction du nombre de traitements insecticides améliorait considérablement l'efficacité des auxiliaires, et de ce fait le niveau de la protection des cultures (Villevieille, 1987).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau 2 ■ Spécificité et efficacité des auxiliaires utilisés dans le contrôle des pucerons.

Auxiliaires	Pucerons Type d'auxiliaire	*Macrosiphum euphorbiae*	*Aulacorthum solani*	*Myzus persicae*	*Aphis gossypii*
Aphelinus abdominalis	Parasitoïde	+	+	–	–
Aphidius colemani		–	+	+	+
Aphidius ervi		+	+	–	–
Aphidius matricariae		–	–	+	–
Aphidoletes aphidimyza	Prédateur	+	+	+	+
Harmonia axyridis		+	+	+	+
Hippodamia convergens		+	+	+	+
Chrysoperla carnea		+	+	+	+

Légende : + = efficace ; – = peu ou pas efficace.

3.4. Les thrips

Jusque vers les années 88-90, *Thrips tabaci* a été le seul thrips présent en cultures sous serre. Puis est arrivé *Frankliniella occidentalis*, espèce très polyphage, dont la présence a compliqué la protection des cultures du fait de son aptitude à transmettre le virus TSWV. Les cultures les plus touchées sont le concombre, la tomate, le poivron, ainsi que la plupart des cultures ornementales. La mise au point de stratégies de lutte biologique efficaces fut difficile, en raison de la complexité du cycle biologique de ces ravageurs (œufs insérés dans les tissus végétaux, larves et adultes sur le feuillage et dans les fleurs, nymphose au sol), et de leur vitesse de développement. Néanmoins, plusieurs auxiliaires prédateurs font preuve d'une bonne efficacité seuls ou en association : les acariens *Amblyseius cucumeris* et *A. degenerans*, ainsi que les punaises *Orius laevigatus, O. insidiosus* et *O. majusculus*. L'utilisation d'*Orius spp.* sur poivron, et celle d'*A. degenerans* avec du ricin (*Ricinus sp.*) comme plante relais sur alstroemère (*Alstroemeria aurea*) est très efficace. Encore peu utilisé en France, *Steinernema feltiae*, nématode entomopathogène, présente une certaine efficacité contre ces thrips.

Un nouveau thrips, récemment apparu en serres ornementales et non commerciales, *Echinothrips americanus*, est difficilement contrôlable par les auxiliaires

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

habituels du fait de sa grande taille. Le thrips prédateur *Franklinothrips vespiformis*, nouvellement commercialisé, devrait apporter les réponses attendues. Les larves prédatrices du chrysope *Chrysoperla carnea* apportent un complément d'efficacité.

En exploitant le fait que la nymphose des larves de thrips s'effectue au sol, il est possible d'utiliser la polyphagie d'*Hypoaspis miles* et *H. aculeifer*, acariens prédateurs d'arthropodes détritiphages au niveau du sol, pour compléter le contrôle de ces ravageurs.

3.5. Les acariens

Deux acariens phytophages sont très largement répandus sur les cultures légumières et ornementales sous abri : *Tetranychus urticae* et *T. cinnabarinus*. À quelques exceptions près, c'est l'ensemble des cultures qui est touché. Le contrôle de ces deux ravageurs s'avère assez facile avec l'acarien prédateur *Phytoseiulus persimilis* à condition que l'humidité relative dans la serre soit supérieure à 70 %, sans préjudice pour la conduite culturale. En culture de tomate, du fait de la faible hygrométrie, ainsi que vraisemblablement de la pilosité de cette plante, *P. persimilis* s'avère peu efficace. La gamme des auxiliaires commercialisée s'est élargie avec l'acarien prédateur *Neoseiulus californicus* et la cécidomyie prédatrice *Feltiella acarisuga*, qui complètent fort efficacement l'action de *P. persimilis*. Ces auxiliaires peuvent être utilisés seuls ou en association. *Feltiella acarisuga* est sensible aux vapeurs de soufre, ce qui peut parfois créer des difficultés. Les tarsonèmes *Polyphagotarsonemus latus* et *Tarsonemus pallidus*, peuvent aussi provoquer des dégâts en cultures ornementales, et peuvent être contrôlés par *A. cucumeris*, voire partiellement par *N. californicus*.

Pour l'acariose bronzée, provoquée par *Aculops lycopersici*, on peut signaler l'intervention d'*A. cucumeris*, mais elle est insuffisante pour un contrôle total.

3.6. Les Lépidoptères : noctuelles et tordeuses

De nombreuses noctuelles rendent plus difficile l'application des stratégies de protection des cultures du fait de leur caractère migratoire ou de la soudaineté de leurs attaques, et peu de cultures échappent à ces ravageurs très divers. Parmi les plus fréquentes, il est possible de citer : *Autographa gamma*, *Chrysodeixis chalcites*, *Mamestra oleracea*, *Heliothis armigera*. La tordeuse *Cacoecimorpha pronubana* est également fréquente sur de nombreuses cultures. Ces chenilles peuvent être contrôlées par la bactérie entomopathogène *Bacillus thuringiensis*, premier micro-organisme homologué dans le monde comme biopesticide. Cette bactérie a la particularité de synthétiser un cristal protéique lors de la sporulation, appelé encore delta-endotoxine (Silvy et Riba, 1999 ; *cf.* chapitre 25). Son action s'exerce spécifiquement sur les chenilles aux deux premiers stades larvaires, et s'avère totalement inoffensive pour les auxiliaires utilisés.

Deux parasitoïdes d'œufs sont aussi utilisés : *Trichogramma brassicae*, efficace sur les œufs pondus en ooplaques, et *Trichogramma evanescens* sur les œufs isolés.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

La complémentarité de leur action permet de couvrir la gamme des Lépidoptères présents, sachant qu'il est fréquent d'en observer plusieurs espèces simultanément. Il faut noter que les trichogrammes sont particulièrement attirés par la couleur jaune, et qu'il est judicieux d'enlever les plaques jaunes engluées fréquemment utilisées sous serre, soit comme méthode de piégeage, soit en complément de la lutte contre les aleurodes.

3.7. Les cicadelles

Assez discrètes lorsque les cultures sous serre étaient protégées par la lutte chimique, la présence de cicadelles peut s'avérer gênante en PBI. *Hauptidia maroccana*, la cicadelle de la tomate en serre, est présente également sur concombre et primevère (*Primula sp.*). Le contrôle est possible avec le parasitoïde d'œufs *Anagrus atomus* (Maisonneuve *et al.*, 1995) mais à condition que la photopériode offre plus de 12 heures de jour.

3.8. Les cochenilles

Les cochenilles constituent un groupe de ravageurs très complexe en raison de leur diversité et parfois leur polyphagie. Elles sont un des principaux obstacles à la mise en place de la PBI dans certaines cultures ornementales (plantes vertes), mais surtout dans les serres visitables, en particulier les serres tropicales (Ciccolini, 2002).

Toutefois, depuis quelques années, *Pseudococcus viburni* a été observée en culture de tomate (Schoen et Martin, 1999), vraisemblablement en raison de la présence de plantes ornementales dans la serre avant le début de la culture.

Pratiquement, les cochenilles peuvent être regroupées en trois catégories :

– Les cochenilles farineuses pseudococcines, dont les spécimens rencontrés le plus fréquemment : *Planococcus citri*, *Pseudococcus longispinus* et *P. viburni*, peuvent être contrôlées par quelques auxiliaires. On peut mentionner des prédateurs comme la coccinelle *Cryptolaemus montrouzieri* et les chrysopes *Chrysoperla spp.*, ou les parasitoïdes *Leptomastix dactylopii*, *Anagyrus fusciventris* et *Anagyrus pseudococci* ;

– Les cochenilles diaspines *Diaspis boisduvalii* et *Chrysomphalus aonidium* peuvent être contrôlées par : les coccinelles prédatrices *Chilochorus nigritus* et *Rhyzobius lophanthae* ; les parasitoïdes *Aphytis holoxanthus* et *A. melinus* ;

– Les cochenilles coccides (ex lécanines) *Saissetia coffeae*, *S. oleae* et *Coccus hesperidum* peuvent être contrôlées par : le prédateur *Rhyzobius forestieri* ; les parasitoïdes *Metaphycus helvolus*, *M. barletti*, *Coccophagus scutellaris* et *C. lycimnia* ainsi que *Scutellista cyanea*.

Certains de ces auxiliaires sont commercialisés, mais ils peuvent également dans certaines régions méridionales exister dans l'environnement (Bertaux et Marro, 1997). Ils présentent donc un grand intérêt dans une stratégie de PBI.

3.9. Les autres bio-agresseurs

3.9.1. Otiorhynques (Coleoptera)

Plusieurs otiorhynques (*Otiorhynchus sulcatus*, *O. rugosostriatus* et *O. meridionalis*) s'attaquent aux racines et au collet de plusieurs cultures comme le fraisier et le rhododendron. La virulence de ces attaques est accentuée par le microclimat favorable propre aux cultures sous serre. Une protection des cultures peut être réalisée avec des nématodes entomopathogènes (*Heterorabditis megidis*, *H. bacteriophora*) qui vont se développer dans les larves des Coléoptères qui vivent dans le sol.

3.9.2. Mouches « des terreaux »

Plusieurs espèces de Diptères (*Sciaridae* et *Ephydridae*) peuvent occasionner des dégâts d'ordre esthétique par leurs déjections sur les plantes, ou provoquer des plaies ou blessures au niveau des racines et du collet. Ces blessures seront ensuite des points d'entrée pour un certain nombre de champignons phytopathogènes (*Pythium, Fusarium*, etc.). Ces mouches peuvent être contrôlées par l'utilisation d'un nématode entomopathogène, *Steinernema feltiae*, disséminé par arrosage au sol, ou par l'apport des acariens prédateurs *Hypoaspis miles* ou *H. aculeifer*. Ces auxiliaires se nourrissent de petites larves terricoles ou de tout autre petit insecte à corps mou, comme des nymphes de thrips. Le développement de ces mouches est fortement lié à un excès d'humidité et de matière organique dans les substrats de culture et à la présence de flaques d'eau où se décomposent des débris végétaux. L'association de la prophylaxie et de la lutte biologique prend ici tout son sens.

3.9.3. Limaces

Les ravages causés par les limaces s'avèrent assez importants sous serre. Encore très peu utilisé en France du fait de son prix élevé, *Phasmarhabditis hermaphrodita* est un nématode qui permet de réduire efficacement les populations de limaces.

3.9.4. Fusarium oxysporum *f. sp.* radicis-lycopersici

Depuis plusieurs années, *Fusarium sp.*, champignon antagoniste de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (FORL), est en autorisation d'expérimentation sous le nom de Fo47. Il est expérimenté essentiellement sur la tomate, sur quelques dizaines d'hectares, où il semble efficace.

4. Facteurs de développement

Le développement de la PBI en France n'est pas seulement dû à une démarche technique ou commerciale, promouvant les auxiliaires comme d'autres produits, mais aussi à un certain nombre de facteurs annexes (énumérés ci-après), qui ont conforté solidement l'implantation et la pérennisation de la technique.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

4.1. Les plantes relais

Une plante « relais », ou plante « banque », est une plante différente (dans la majorité des cas) de la culture à protéger, sur laquelle des insectes auxiliaires viendront, spontanément ou non, se nourrir ou se reproduire sur des ravageurs non nuisibles pour cette culture. Ces auxiliaires passeront ensuite sur la culture à protéger. Il s'agit donc de plantes qui, disposées en faible quantité sur la culture (un à cinq par 1 000 m^2), vont servir de « mini-élevages » pour des auxiliaires qui protègent la culture. Ce système est à mi-chemin entre les lâchers inondatifs et les apports innoculatifs.

Les avantages procurés par cette technique sont les suivants :

- permettre des apports anticipés d'auxiliaires et faciliter leur multiplication ;
- attirer la faune auxiliaire indigène de façon précoce ;
- valoriser au mieux le potentiel biotique des auxiliaires achetés ;
- maintenir une présence constante des auxiliaires sur la culture ;
- réduire le coût unitaire de la PBI et de la protection phytosanitaire ;
- améliorer l'efficacité de la PBI.

Pour les auxiliaires contrôlant les pucerons (80 ha en 2001), principalement sur tomate, concombre, melon (*Curcumis melo*), et sur quelques cultures ornementales, les plantes les plus fréquemment utilisées sont des céréales et d'autres graminées. Le ricin, sur lequel *A. degenerans* peut s'élever de façon très autonome (Ramakers et Voet, 1996) est utilisé pour contrôler les thrips. Le tabac, sur lequel *M. caliginosus* peut s'élever et se maintenir facilement, est utilisé comme plante relais pour contrôler les aleurodes.

4.2. Intégration de la lutte biologique avec les autres techniques

4.2.1. Compatibilité avec les autres produits phytosanitaires utilisés

Une difficulté majeure de la PBI est d'intégrer, avec le moins de dommages possibles pour les auxiliaires, les traitements fongicides, insecticides ou acaricides destinés à réguler les populations des ravageurs. Des structures concernées par la PBI (ACTA, ministère de l'Agriculture, UIPP, ou des firmes commerciales ; les acronymes de ce chapitre sont développés dans la « liste des sigles, abréviations et acronymes » en début d'ouvrage) ont publié des guides d'effets secondaires de ces produits sur les auxiliaires, qu'il est bon de consulter avant tout traitement. Les traitements peuvent avoir un effet toxique et/ou répulsif vis-à-vis des auxiliaires. Le positionnement des traitements dans le temps et leur mode d'application ont aussi leur importance. Un choix non adapté d'un produit phytosanitaire, y compris pour la désinfection des serres, peut avoir des conséquences très négatives sur l'implantation et le développement ultérieur des auxiliaires introduits. Plusieurs cas de dysfonctionnement de la PBI, dus à ce type d'erreur, sont ainsi signalés chaque année.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

4.2.2. La solarisation

Utilisée surtout dans le Roussillon, la solarisation permet de désinfecter les sols avec la seule chaleur du soleil. Elle assure le réchauffement du sol préalablement travaillé et recouvert d'une bâche plastique transparente. L'utilisation de ce procédé permet d'économiser une quantité importante de fumigants, et ne laisse sur la parcelle aucun résidu ou odeur répulsive pour les auxiliaires. Dans certains cas, elle permet simultanément de renoncer aux fumigants, et d'assurer une protection de la faune et de la flore spontanées. La solarisation s'intègre parfaitement dans une stratégie globale de PBI. En 2001, plus de 150 ha ont utilisé ce procédé dans les Pyrénées-Orientales. Dans deux autres départements (Lot-et-Garonne et Vendée), des expérimentations ont été mises en place (Maisonneuve, 2001).

4.3. Former et informer les acteurs

Depuis les années 80, de nombreux organismes (INRA, CTIFL, ASTREDHOR, SRPV, FAFEA, FAFSEA, INH, coopératives, chambres d'agriculture, firmes commerciales ou organisations professionnelles utilisatrices) ont régulièrement organisé des stages de formation et d'information sur cette technique. Sans cet apport, enrichi en permanence par les nouvelles avancées techniques et scientifiques, la PBI n'aurait pu atteindre son niveau actuel. En effet, cette méthode demande de la part de tous les acteurs de la filière une compétence technique plus importante que la lutte chimique classique. C'est à cette condition que la PBI pourra avoir un développement durable.

4.4. Les firmes et structures productrices et distributrices d'auxiliaires

Pour approvisionner les agriculteurs en auxiliaires, de nombreuses structures, firmes commerciales, villes ou associations, opèrent en France. C'est ainsi qu'en 2001, plus de 60 auxiliaires différents étaient commercialisés par plus de quinze firmes et organismes, permettant aux producteurs de mettre en place des stratégies fiables pour la protection de leurs cultures.

Un certain nombre de structures non commerciales possède également de petits élevages d'auxiliaires (conservatoires, villes, serres à écosystèmes, établissements d'enseignement), afin de pourvoir à leurs besoins spécifiques. Elles éprouvent de la difficulté à s'approvisionner, vu la rareté des organismes recherchés.

Ce travail en réseau permet de pallier les carences commerciales (manque de rentabilité de tels élevages), et aussi de maintenir correctement les équilibres biologiques dans ces structures ouvertes au public (*cf.* 2.3.), sans avoir recours systématiquement aux produits phytosanitaires. Il fait également progresser les connaissances scientifiques dans ce domaine.

Deux élevages français présentent une originalité par leur structure coopérative :

– GIE La Croix, appartenant au groupe coopératif SAVEOL, seul élevage français d'*E. formosa* ;

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

– Biotop, élevage de *Trichogramma sp.* de taille européenne, appartenant au groupe coopératif IN VIVO.

4.5. La coopération internationale

Le développement de la PBI n'aurait pu se faire sans une coopération internationale active, créant ainsi une synergie bénéfique. Les réunions du groupe de travail « Lutte intégrée en cultures sous serre » de l'Organisation internationale de lutte biologique (OILB) ont été l'un de ces catalyseurs. Ainsi, 134 participants provenant de 25 pays différents se sont rencontrés lors de la dernière conférence à Victoria au Canada en 2002, alors que la première, en 1970 à Naaldwijk aux Pays-Bas, ne réunissait que huit personnes. La France a accueilli deux fois ce groupe de travail, en 1976 à Antibes et en 1999 à Brest.

La croissance du nombre de participants à ces réunions et des publications dans ce domaine (11 en 1970, 74 en 2002) correspond bien au développement de la PBI, notamment en France. Un nouveau groupe de travail, sur les cultures sous abris plastiques, pour les régions de climat méditerranéen, s'est constitué au sein de l'OILB. Pour communiquer, cette organisation publie les actes de chaque congrès dans le bulletin de l'OILB, et édite une publication interne, STING, informant régulièrement les adhérents de l'actualité de la lutte biologique dans le monde. L'OILB a mis en place, sur le réseau internet, un groupe de discussion « *Goodbugs* », permettant aux abonnés d'obtenir des réponses rapides sur les auxiliaires et ravageurs. Ces actions concourent à développer une synergie entre les différents acteurs de cette filière, pour le plus grand profit des utilisateurs finaux.

Conclusion

Malgré un développement qui s'amplifie depuis plus de vingt ans, la PBI est encore loin d'être pratiquée dans la majeure partie des cultures sous serre en France. Ainsi, en culture de tomate, pourtant pionnière pour cette technique, la PBI couvre un peu plus de 55 % des superficies cultivées. Malgré tout, et grâce aux progrès de la connaissance enregistrés au cours de ces années, la PBI est reconnue comme une méthode de protection fiable et applicable sur une grande diversité de cultures. Un bon exemple peut être fourni par le cas de *E. formosa* qui est toujours commercialisé et procure les mêmes résultats, à qualité biotique constante. Dans le même temps, l'usage de nombreux produits phytosanitaires a dû être abandonné du fait de l'apparition de phénomènes de résistance chez les ravageurs. De même, au cours de cette période la gamme et les caractéristiques des produits phytosanitaires ont également évolué. L'étude des effets secondaires sur un certain nombre d'auxiliaires est maintenant exigée pour leur homologation et oblige les firmes à vérifier régulièrement la compatibilité de leurs produits avec ces exigences.

La PBI sous serre en France, s'affirme donc comme une méthode durable de protection des cultures, dont la fiabilité repose sur la mise en œuvre de toutes les

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

composantes de cette technique, ainsi que sur une parfaite connaissance de la biologie des agroécosystèmes.

Références bibliographiques

Bertaux F., Marro J.-P. (1997). Bilan des Introductions d'Auxiliaires dans les Serres Tropicales du Parc Phoenix à Nice. *Bulletin OILB/SROP*, **20** : 1-7.

Ciccolini G. (2002). *Mise au point de lutte biologique contre cochenilles sur végétaux d'ornement en serre de collection.* Mémoire d'ingénieur, INH, Angers.

Di Pietro J.-P. (1977). *Contribution à l'étude d'une méthodologie de lutte biologique contre l'aleurode des serres,* Trialeurodes vaporariorum *West.* (Homoptera : Aleurodidae). Thèse de doctorat ès sciences, Université Paul Sabatier, Toulouse, France.

Franco S., Galez B., Cottenceau M., Nardi L., Rat-Morris E. (1999). Protection intégrée des cultures de poireaux porte-graine. *Phytoma*, **516** : 41-44.

Hoelmer K.A., Osborne L.S., Yokomi R.K. (1993). Reproduction and Feeding Behavior of *Delphastus pusillus* (*Coleoptera : Coccinellidae*), a predator of *Bemisia tabaci* (*Homoptera : Aleyrodidae*). *J Econ Entomol*, **86** : 322-329.

Hussey N.W., Scopes N. (1985). *Biological pest control : the glasshouse experience.* Blandford Press, Poole (UK).

Maisonneuve J.-C., Blum J., Wardlow L.R. (1995). Contre la cicadelle de la Tomate en serre : un nouvel auxiliaire : *Anagrus atomus*. *Phytoma*, **471** : 24-27.

Maisonneuve J.-C., Tréguier A. (1996). Protection Biologique et Intégrée en horticulture ornementale. *PHM Revue horticole*, **368** : 47-50.

Maisonneuve J.-C. (1998). *Évolution de la Protection Biologique et Intégrée en France.* 1re Conférence Internationale sur les moyens alternatifs de lutte contre les organismes nuisibles aux végétaux, Lille, France.

Maisonneuve J.-C. (2000). *Plantes réservoirs : du concept à la pratique.* Annales du colloque sur la lutte intégrée en serre, CRAAQ, Château Vaudreuil, Canada, 93-96.

Maisonneuve J.-C. (2001). *La Protection Biologique et Intégrée (PBI) en France en 2001 en cultures légumières et ornementales sous serre.* Rapport d'enquête DRAF SRPV Bretagne.

Maisonneuve J.-C. (2003). Glasshouse area with biological control – a 2003 update. *STING – Newsletter on biological control in greenhouses*, **25** : 8. www.agrsci.dk/plb/iobc/sting

Mary L., Blum J., Quéraud T., Marrec C., Maisonneuve J.-C. (2000). La Protection Biologique et Intégrée (PBI) en cultures de fleurs coupées sous serres. *Phytoma*, **529** : 14-19.

Rabasse J.-M. (1981). Remarques sur les populations de pucerons en serre. *In Les Pucerons des Cultures. Journées d'études et d'information.* ACTA, Paris, 319-321.

Ramakers P.M.J. et Voet S.P.J. (1996). Introduction of *Amblyseius degenerans* for thrips control in sweet peppers with potted castor beans as banker plants. *IOBC/SROP Bulletin*, **19** : 127-130.

Rat-Morris E. (1999). Biological control of thrips tabci on protected leek sed crops. *IOBC/SROP Bulletin*, **22** : 201-204.

Redlich G.C., Dubois M. (1970). La lutte biologique. Une nouvelle méthode pour vaincre l'araignée rouge en serre *PHM Revue Horticole*, **110** : 6853-6854.

Schoen L., Martin C. (1999). Une « nouvelle » cochenille sur tomate. *Pseudococcus viburni* ravageur potentiel en serre. *Phytoma*, **514** : 39-40.

Silvy C, Riba G. (1999). Biopesticides contre maladies, insectes, mauvaises herbes. *Les dossiers de l'environnement de l'INRA*, **19** : 157-200.

Villevieille M. (1987). *Bilan annuel phytosanitaire : protection phytosanitaire des cultures légumières en serre en Provence-Alpes-Côte d'Azur.* Rapport DRAF SRPV PACA.

© Lavoisier – La photocopie non autorisee est un délit

Section 3

Stratégies sémiochimiques

29

Molécules allélochimiques et extraits végétaux dans la protection des plantes : nature, rôle et bilan de leur utilisation au XX^{e} siècle

Catherine Regnault-Roger

L'histoire de l'humanité est associée à l'utilisation des plantes ou d'extraits de plantes pour leurs effets bienfaisants ou nocifs. Fabre et Dilleman (1971) considèrent comme la plus vieille pharmacopée du monde une tablette sumérienne, gravée au cours du III^{e} millénaire avant J.-C. et sur laquelle figurent des indications sur l'usage thérapeutique d'extraits végétaux. Le rôle des plantes dans la protection phytosanitaire et la lutte contre les ravageurs est, de la même manière, mentionné dans des textes antiques chinois, romains, grecs et indiens. Plus tard, les propriétés insecticides ou rodenticides des plantes sont mises à profit, au XVIII^{e} siècle, par Parmentier pour lutter contre les calandres des greniers de l'hôtel des Invalides de Paris (Balachowsky, 1951). Mais il faut attendre la fin du XIX^{e} siècle pour que la conjugaison des pratiques empiriques et des observations scientifiques, ainsi que les progrès des techniques analytiques, conduisent au développement de la première génération des bio-insecticides d'origine végétale (Philogène *et al.*, 2002). Celle-ci connut son âge d'or jusqu'à la déclaration de la Seconde Guerre mondiale. À l'issue de ce conflit, les pesticides organiques de synthèse avaient supplanté l'emploi des extraits et molécules végétales dans la lutte phytosanitaire. Les conséquences toxicologiques et écologiques des effets non intentionnels provoqués par une utilisation mal maîtrisée de ces produits (*cf.* partie 1, section 2) ont suscité un regain d'intérêt pour des stratégies phytosanitaires alternatives.

Aussi, bien que marginaux par rapport aux efforts consacrés à la recherche et au développement de nouvelles molécules organiques de synthèse, les travaux sur les extraits et molécules végétales se sont poursuivis tout au long de la seconde moitié

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

du XX^e siècle pour en améliorer l'efficacité ou la stabilité, ainsi que pour découvrir de nouvelles molécules ou de nouvelles sources de molécules. Au cours du même laps de temps, les progrès accomplis dans l'analyse et la détection des molécules biologiques ont permis de mieux cerner le rôle des molécules végétales comme facteurs de protection des plantes. Ces nouvelles connaissances, en particulier dans le domaine des médiateurs chimiques impliqués dans les relations entre les espèces ainsi que celui des mécanismes biochimiques cellulaires de résistance des plantes à l'agression d'un organisme exogène parasitaire, ouvrent aujourd'hui plusieurs perspectives pour l'utilisation des molécules végétales dans le domaine phytosanitaire.

Nous nous proposons, dans le présent chapitre, de traiter de ces différents points en soulignant le rôle des molécules allélochimiques dans les relations de défense des plantes vis-à-vis de leurs ravageurs et parasites, et en faisant le bilan de l'emploi des insecticides d'origine végétale au cours du XX^e siècle.

1. *Les molécules allélochimiques végétales, facteurs de protection des plantes*

Comme tous les organismes vivants, les plantes sont l'objet d'attaques diverses de la part d'autres espèces. Elles n'ont pu survivre, au cours de l'évolution, qu'en acquérant des capacités qui leur permettent de se défendre et de se reproduire. Comme elles ne se déplacent pas, elles ont mis en œuvre, plus que les animaux, un grand nombre de composés de défense.

1.1. Activité sémiochimique

Depuis une quarantaine d'années, l'essor de l'écologie chimique a permis de mieux comprendre les relations qui contribuent à l'évolution des espèces et leur sélection naturelle. Les médiateurs chimiques, ou composés sémiochimiques, y jouent un rôle prépondérant : ils interviennent dans la communication entre les espèces (relations interspécifiques) ou entre les individus au sein d'une même espèce (relations intraspécifiques). Ils possèdent une large palette d'activités biologiques, et se définissent comme des facteurs chimiques, biosynthétisés par les organismes, qui agissent sur le comportement ou (et) la physiologie des autres organismes. Les composés sémiochimiques ont été classés en plusieurs catégories : les phéromones d'une part, qui sont des médiateurs chimiques entre individus d'une même espèce, et les molécules allélochimiques d'autre part, qui agissent entre individus d'espèces différentes et au sein desquelles on distingue, selon l'organisme auxquels elles profitent, les allomones, les kairomones et les synomones (Wyatt, 2003).

C'est très rapidement que le potentiel phytopharmaceutique des composés sémiochimiques fut exploré. En effet, à la découverte de nouvelles molécules pouvant être exploitées pour le contrôle des ravageurs et parasites, s'ajoute une approche phytosanitaire présentant moins de risques pour l'environnement, puisqu'elle met en jeu des molécules issues de la nature même, donc, plus facilement biodégradables.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

L'approche sémiochimique basée sur l'emploi des phéromones a fait l'objet de nombreux travaux repris par des ouvrages et revues (Jutsum et Gordon, 1989 ; Carde et Minks 1997 ; Howse *et al.*, 1998 ; Blum, 1999 ; Renou et Guerrero, 2000 ; ainsi que les chapitres 31, 32 et 33). Les phéromones sont classées par *l'Environmental Protection Agency* (EPA) des États-Unis dans la catégorie des pesticides biochimiques, dont la définition est la suivante : « *substances naturelles qui contrôlent les fléaux par des mécanismes non toxiques* » (EPA, 2004). Elles sont soumises, par voie de conséquence, à une réglementation moins contraignante (*cf.* chapitre 41). Cette mesure a contribué à populariser leur positionnement commercial comme « produits écologiques ». Ces raisons, ainsi que l'intérêt des recherches qu'elles suscitent, font que les phéromones sont souvent présentées comme les seuls composés impliqués dans la stratégie sémiochimique pour le contrôle des insectes ravageurs (*semiochemicals*).

Il n'en est toutefois rien si l'on se base sur la définition des composés sémiochimiques retenue par l'OCDE (Organisation de coopération et de développement économique) : « *composés chimiques émis par des plantes, des animaux et d'autres organismes, ou des analogues synthétiques de ces substances, qui provoquent une réponse physiologique ou comportemental d'individus d'une même ou d'autres espèces* ». Ainsi, la lutte sémiochimique recouvre également l'utilisation d'extraits végétaux et leurs molécules allélochimiques. C'est pourquoi, s'appuyant sur cette définition, le *Pesticide Safety Directorate*, un organe exécutif dépendant du ministère de l'Agriculture, des Pêches et de l'Alimentation du Royaume-Uni, y inclut également les kairomones, les allomones, les extraits de plantes ayant des effets anti-appétents ou antinutritionnels, des composés volatils de plantes aux effets répulsifs ou dissuasifs, ainsi que des huiles naturelles présentant ces mêmes effets (Jones, 2002). Ce sont ces substances que l'on appelle parfois les pesticides botaniques (*botanicals*). La définition de l'OCDE, au regard de la classification des composés sémiochimiques comme biopesticides, fait l'objet d'une discussion approfondie dans le chapitre 41. Nous examinerons ici le rôle des composés allélochimiques végétaux dans la défense des plantes.

Les plantes sont particulièrement riches en molécules allélochimiques qu'on appelait autrefois « composés secondaires des plantes » car on ne savait pas très bien à quoi ils correspondaient. Parmi les substances de défense, des molécules allélochimiques sont synthétisées par la plante pour :

– repousser les prédateurs ou les empêcher de prendre de la nourriture (substances répulsives, irritantes) ;

– donner un goût désagréable à la prise alimentaire (astringence par exemple) ;

– perturber leur système physiologique digestif (composés anti-appétents, phagorépresseurs, antinutritionnels), ou neurologique (toxiques) ;

– et, de manière plus générale, affecter le potentiel biotique des parasites et ravageurs (Strebler, 1989).

Ces molécules allélochimiques végétales de défense agissent sur une large diversité d'espèces : insectes, qui ont fait l'objet de très nombreuses recherches, mais

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

aussi nématodes, micro-organismes phytopathogènes (champignons et bactéries), ainsi que les plantes d'autres espèces (Regnault-Roger *et al.*, 2002).

L'idée d'utiliser les propriétés de ces molécules dans la protection des cultures, pour diminuer le niveau des attaques des divers ravageurs mais aussi dans la lutte contre les adventices, s'est imposée d'elle-même et constitue le fondement de la stratégie sémiochimique mettant en jeu les molécules allélochimiques.

1.2. Intervention dans la résistance antiparasitaire des plantes

Les molécules allélochimiques interviennent, de manière très active, dans la défense de la plante contre les invasions parasitaires. Lepoivre (2003) souligne l'importance de la synthèse de molécules allélochimiques parmi les nombreux mécanismes mis en jeu par les plantes pour lutter contre l'invasion et le développement des agents pathogènes.

Elles peuvent être classées en deux grandes catégories :

– les composés qui possèdent des caractéristiques structurales et qui permettent aux plantes d'opposer une barrière physicochimique freinant l'installation ou la progression du parasite. Ces molécules interviennent dans la modification des parois qui établissent, en premier lieu, une barrière mécanique : formation localisée de dépôts entre la paroi et la membrane de la cellule de l'hôte mise au contact du phytoparasite ; encapsulation complète des structures du parasite. Ces dépôts sont riches en diverses molécules, dont des composés allélochimiques polyphénoliques sous forme polymère (notamment la lignine) ;

– les composés produits par la plante et dont la synthèse est induite en réponse à un stress biotique (provoqué par un agent pathogène) ou abiotique (irradiation par exemple). Absents avant l'innoculation, ils s'accumulent au voisinage des sites d'infection et possèdent un pouvoir inhibiteur ou toxique vis-à-vis des micro-organismes ou des cellules végétales ou animales (Paxton, 1981). Ces molécules, produites extemporanément par la plante, sont appelées « phytoalexines », et leur caractère inductible les distingue des molécules toxiques constitutives qui sont quelquefois désignées comme « phytoanticipines ». La structure chimique des phytoalexines est très diversifiée et varie d'une famille végétale à l'autre, mais beaucoup de familles botaniques produisent des phytoalexines d'une même classe chimique (Kuc, 1995). Leurs familles chimiques sont celles des molécules allélochimiques : flavonoïdes et isoflavonoïdes, coumarines, sesquiterpénoïdes, diterpènes, ou polyacétylènes.

L'identification du rôle de ces molécules dans les mécanismes de résistance des végétaux, et notamment leur caractère inductible, suscitent actuellement des recherches pour une production maîtrisée des moyens de défense des plantes.

2. *Nature et diversité des molécules allélochimiques végétales impliquées dans la protection des plantes*

Les molécules allélochimiques végétales sont, dans leur grande majorité, synthétisées par le métabolisme secondaire des plantes, à travers les voies du shikimate,

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

du mévalonate, de l'acétate et des amino-acides. Si la complexité de ce métabolisme est à l'origine d'un grand nombre de molécules (ce qui a permis de leur attribuer souvent une valeur taxonomique et phylogénétique), elles appartiennent, de fait, à un nombre limité de familles chimiques. On estime qu'il existe plus de 500 000 composés secondaires dans les plantes (Mendelsohn et Balick, 1995), dont environ 18 000 auraient été caractérisées (Firn et Jones, 1996). Ils appartiennent très majoritairement à trois grandes familles chimiques :

- les phénylpropanoïdes et substances phénoliques ;
- les terpénoïdes et stéroïdes ;
- les alcaloïdes et composés azotés.

L'importance de chacun de ces groupes a été évaluée par Harborne (1988) (figure 1) et nous les examinerons successivement.

2.1. Phénylpropanoïdes et substances phénoliques

Les substances phénoliques ont en commun de posséder un groupement phénol mais elles comprennent en réalité plusieurs familles de molécules aux larges et divers spectres d'intervention, ce qui en fait une catégorie de composés particulièrement importante pour la protection végétale.

Les flavonoïdes, les plus nombreux, parmi lesquels les catéchines, flavones, isoflavonoïdes ou les tanins, sont des substances répulsives, anti-appétents, inhibitrices de la digestion ou de la reproduction. Ainsi, le puceron *Schizaphis graminum*, élevé en présence de flavonoïdes présente une fécondité limitée, et sa progéniture est moins viable (Strebler, 1989). La lutéoline 7-glucoside (flavone) et l'acide rosmarinique (acide cinnamique) provoquent une perturbation du comportement du Coléoptère, *Acanthoscelides obtectus* : ils inhibent sa motricité avant de provoquer sa mort (Regnault-Roger *et al.*, 2004). La roténone et les roténoïdes, largement employés pour leurs propriétés insecticides (*cf.* 3.3.), sont « *biogénétiquement rattachés aux isoflavonoïdes* » (Bruneton, 1999).

Les quinones, en particulier les benzoquinones, possèdent des propriétés répulsives ou urticantes qui éloignent les phytoravageurs ou empêchent la prise alimentaire. Mais cet effet peut être sélectif. Le cas d'école est la juglone, une naphtoquinone produite par le noyer *Carya ovata*, qui est un dissuadant pour le scolyte *Scolytus multistriatus* mais pas pour *Scolytus quadrispinosus*. Les exsudats phénoliques associés à des quinones et à des monoterpènes, comme le limonène, forment un réseau qui se transforme en un revêtement résineux toxique, dur ou gluant, et qui protège le peuplier, *Populus deltoïdes*, contre plusieurs espèces de pucerons, ou les pins (*Pinus spp.*) contre différents scolytes (Strebler, 1989).

D'autres polyphénols, comme l'acide férulique, participent à un réseau moléculaire sous forme de dimères présents dans la paroi des grains de maïs (*Zea mays*) (Bergvinson *et al.*, 1994) et constituent une barrière mécanique et chimique à l'invasion du champignon phytopathogène, *Fusarium graminearum* (Bily *et al.*, 2003). Ces substances phénoliques jouent un rôle très actif dans les mécanismes

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

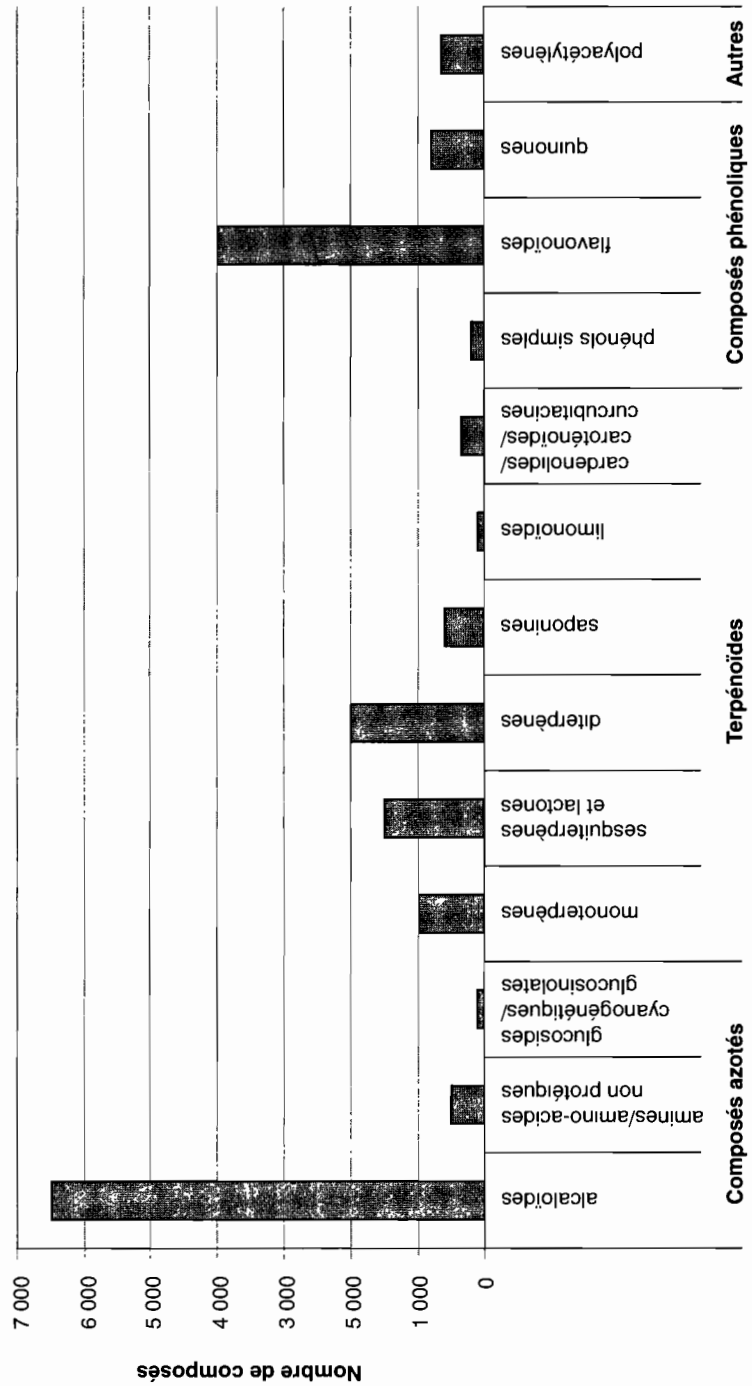


Figure 1 ■ Importance comparée des différentes familles chimiques des composés allélochimiques végétaux (selon Harborne, 1988).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

de résistance des plantes contre leurs ravageurs et parasites (El Modafar et El Boustani, 2002). Elles participent à la résistance constitutive en inhibant des enzymes hydrolytiques parasitaires ou en se polymérisant. Ces polymères phénoliques ne sont pas dégradés par la plupart des agents pathogènes (à l'exception des micro-organismes lignolytiques). Ils constituent une barrière à plusieurs niveaux en protégeant les autres constituants de la paroi (celluloses, pectines), en créant un obstacle à la diffusion des toxines parasitaires et à la dissémination des parasites vasculaires.

Les substances phénoliques sont aussi impliquées dans la résistance induite à travers la biosynthèse des phytoalexines. El Modafar *et al.* (1999) constatent que l'infection des racines du palmier dattier (*Phoenix dalyctifera*) par le champignon pathogène *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, responsable d'une fusariose du palmier dattier (le « *bayoud* »), engendre la production et l'accumulation de phytoalexines identifiées à des coumarines et à des dérivés de l'aesculétine.

Sur un plan plus général, on constate que des composés phénoliques, dérivés de l'acide benzoïque, participent à la résistance systémique de nombreuses plantes. L'acide salicylique (un orthohydroxybenzoïque), est considéré comme une phytohormone impliquée dans le confinement de l'agresseur sur le site primaire (résistance locale acquise ou *local acquired resistance*, LAR) et dans la mise en place de la résistance systémique acquise (*systemic acquired resistance*, SAR). La concentration de ce composé augmente après l'infection qui migre dans tous les tissus végétaux et déclenche la synthèse d'ARNm codant pour des protéines de résistance, les protéines PR (*pathogenesis related*) qui participent à la réaction d'hypersensibilité (Mauch-Mani et Métraux, 1998 ; Kauffmann *et al.*, 2000). Il s'agit donc d'un composé essentiel dans les mécanismes de défense des plantes contre les agents pathogènes.

2.2. Terpénoïdes et stéroïdes

Les terpénoïdes et stéroïdes se caractérisent par leur lipophilie. Ce ne sont pas les seuls composés lipophiles qui possèdent des propriétés susceptibles de contrôler les insectes phytophages ; certains acides gras manifestent également cette activité (*cf.* 3.7.).

Les terpénoïdes, aussi appelés isoprénoïdes, bien que tous ne dérivent pas de l'isoprène, sont synthétisés à partir d'un précurseur, l'isopenténylе pyrophosphate (IPP), qui se condense sur du diméthylallyle pyrophosphate (DMAPP) pour donner les monoterpènes (10 atomes de carbone), puis s'élongue avec du IPP pour former les sesquiterpènes (15 atomes de carbone), les diterpènes (20 atomes de carbones) et les triterpènes (30 atomes de carbone). Si la condensation s'effectue entre deux molécules DMAPP, on parlera de monoterpènes « irréguliers » par opposition à ceux (« réguliers ») obtenus par condensation entre l'IPP et le DMAPP (Bruneton, 1999).

Les terpénoïdes, quel que soit leur structure, sont très actifs dans les relations interspécifiques.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Les monoterpènes, acycliques ou monocycliques, sont des molécules légères et volatiles : ils sont de ce fait impliqués dans la transmission des signaux par voie aérienne. Il existe, dans les sensilles des insectes, des protéines spécialisées qui répondent aux monoterpènes volatils : ainsi les sensilles trichodéiques de la femelle du ver à soie du mûrier, *Bombyx mori*, répondent au linalool (Picimbon, 2002). Les monoterpènes ne contribuent pas seulement à donner leurs odeurs et leurs arômes aux plantes aromatiques, mais se révèlent également actifs dans le contrôle d'insectes phytophages. De nombreux travaux y ont été consacrés comme le montrent ces quelques exemples :

– les α-et β-pinènes sont abondants dans la résine de pin qui est considérée comme un moyen de défense de l'arbre (Harborne, 1988). Les plantes blessées mécaniquement et attaquées par la salive d'un phytophage, émettent *de novo* des terpénoïdes volatils sous l'influence d'éliciteurs contenus dans la salive de l'insecte (Turlings et Tumlinson, 1992 ; Paré et Tumlinson, 1997) ;

– l'eugénol, abondant dans le clou de girofle (*Eugenia caryophyllata*), ou le cinnamaldéhyde dans la canelle (*Cinnamomum verum*), présentent des propriétés inhibitrices de la reproduction et exercent une toxicité sur la bruche du haricot *Acanthoscelides obtectus* mais aussi sur la mouche méditerranéenne des fruits et légumes, *Ceratitis capitata*, ou sur les pucerons des céréales *Metopolophium dirrhodum* et *Rhopalosiphum padi* (Regnault-Roger et Hamraoui, 1995 ; Hamraoui et Regnault-Roger, 1997).

Les monoterpènes « réguliers » sont abondants dans la plupart des huiles essentielles, dont celles des *Lamiaceae*, bien connues pour leurs activités insecticides et inhibitrices de la reproduction des insectes (Regnault-Roger *et al.*, 1993 ; Regnault-Roger et Hamraoui, 1994a ; Regnault-Roger, 1997), mais aussi larvicides pour les nématodes (Djian-Caporalino *et al.*, 2002).

Les monoterpènes « irréguliers » sont présents surtout dans des huiles essentielles d'*Asteraceae*. Les plus connus d'entre eux sont les pyréthrines qui désignent un mélange insecticide de six esters monoterpéniques (Bruneton, 1999 ; *cf.* 3.4.).

Les sesquiterpènes et lactones sesquiterpéniques représentent un groupe numériquement important impliqué dans la défense des plantes. Ils jouent un rôle dans les relations interspécifiques comme anti-appétents, ou comme répulsifs ou toxiques pour les insectes. On peut citer, à titre d'exemples, la lactupicrine, extraite de la chicorée sauvage, *Cichorium intybus*, et le gossypol secrété par les glandes subépidermiques du cotonnier (*Gossypium spp.*) (Harborne, 1988 ; Strebler, 1989). Les agarofuranes, sesquiterpènes polyhydroxylés, abondants dans les *Celastraceae*, développent des propriétés anti-appétentes (Ducrot, 2002). L'hélénine, une lactone sesquiterpénique, identifiée dans l'huile essentielle d'*Inula helenium* (*Asteraceae*) est larvicide pour le nématode *Meloidogyne incognita* (Djian-Caporalino *et al.*, 2002). Les sesquiterpènes peuvent être synthétisés en réponse à un éliciteur fongique. Ils ont été identifiés comme phytoalexines caractéristiques des *Solanaceae* (Lepoivre, 2003). L'induction de plusieurs gènes a ainsi été identifiée : celui de la terpénoïde synthase, à l'origine d'une large variété de sesquiterpénoïdes (Funk *et al.*,

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1994), et celui codant pour la sesquiterpène cyclase du tabac (Facchini et Chappell, 1992) ou du maïs, en réponse à l'agression d'une larve phytophage et dans le cadre d'une relation tritrophique herbivore-parasite-plante (Shen *et al.*, 2000).

Plus de 1 200 produits diterpéniques, présentant une centaine de structures différentes, ont été identifiés chez les *Asteraceae* et de manière plus sporadique dans d'autres familles. Ils sont abondants dans les latex et les résines qui sont des revêtements protecteurs des plantes : en cas de blessure, la plante vulnérable empêche les insectes phytophages de se poser ou les éloigne. Certains diterpènes ont également été identifiés pour leurs propriétés larvicides contre les Lépidoptères dans les fleurs de tournesol (*Helianthus annuus*) (Harborne, 1988).

En raison de leur parenté structurale, les triterpènes sont souvent pris en considération avec les stéroïdes. Dans ce vaste groupe, on trouve donc des composés très divers comme les cucurbitacines, les limonoïdes, les quassinoïdes, les saponines et les ecdystéroïdes qui interviennent de plusieurs manières :

– les cucurbitacines sont amères, vomitives et purgatives. Elles découragent la prise alimentaire et repoussent la plupart des insectes phytophages, sauf les insectes spécialistes du concombre qui en préfèrent l'amertume (Harborne, 1988). Elles sont répulsives pour les nématodes (Djian-Caporalino *et al.*, 2002) ;

– les limonoïdes se sont révélés des insecticides puissants. Le composé le plus représentatif parmi eux est certainement l'azadirachtine, identifiée dans les extraits de neem (*Azadirachta indica*). L'azadirachtine est un inhibiteur de croissance pour les insectes (*cf.* 3.5) ;

– les quassinoïdes sont identifiés chez les *Quassia spp.* et possèdent des propriétés insecticides contre les pucerons et les poux (*cf.* 3.2.), et des propriétés nématostatiques contre le nématode *Meloidogyne javanica* (Djian-Caporalino *et al.*, 2002) ;

– les saponines sont des hétérosides à génine terpénique identifiées surtout chez les dicotylédones. Molécules aux propriétés tensio-actives, elles provoquent la lyse des cellules et inhibent l'assimilation des stérols. Par conséquent, elles perturbent le développement d'une large gamme de ravageurs. On a ainsi constaté que les saponines des graines de soja inhibent le développement de la bruche *Callosobruchus chinensis* tandis que celles des racines de la luzerne *Medicago sativa* inhibent la croissance du hanneton *Melolontha melolontha* (Strebler, 1989) ;

– les ecdystéroïdes dérivent du cholestérol. Il s'agit d'un très large groupe de composés qui comprend des hormones de plantes (brassinostéroïdes) ou des métabolites secondaires comme les withanolides et de nombreux autres polyhydroxystérols. Marion-Poll *et al.* (2002) estiment qu'il y aurait plusieurs milliers d'ecdystéroïdes dont seulement 200 auraient été identifiés. Ils ont été répertoriés, du point de vue évolutif, aussi bien dans des familles végétales anciennes que dans des familles récentes (Lafont et Horn, 1989). Les ecdystéroïdes inhibent le développement de plusieurs insectes. Ainsi, *Bombyx mori*, *Spodoptera frugiperda et Pieris brassicae* sont sensibles à la 20-hydroxyecdysone qui provoque des anomalies de développement au cours du cycle reproductif de l'insecte. Il est remarquable que ces

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

espèces monophages ou oligophages évitent les plantes contenant des ecdystéroïdes et s'alimentent sur d'autres espèces qui en sont dépourvues. Mais tous les insectes ne possèdent pas cette capacité de discrimination : *Spodoptera littoralis* s'alimente sur des plantes indifféremment de leur teneur en ecdystéroïdes (Marion-Poll *et al.*, 2002).

2.3. Alcaloïdes et composés azotés

Le groupe le plus important, par le nombre et les activités pharmacologiques, est sans conteste celui des alcaloïdes. Ce terme désigne des substances naturelles qui réagissent comme des bases (alcalis) mais comme l'indique Bruneton (1999) : « *il n'existe pas de définition simple et précise des alcaloïdes et il est parfois difficile de situer les frontières qui séparent les alcaloïdes des autres métabolites azotés naturels* ». Bien que structuralement hétérogènes, les alcaloïdes « vrais » sont biosynthétiquement formés à partir d'un amino-acide :

– les alcaloïdes tropaniques, pyrrolizidiniques, quinolizidiniques, indolizidiniques ou pipéridiniques, parmi lesquels on trouve l'atropine, la cocaïne ou la sénécionine, ont pour précurseurs l'ornithine ou la lysine ;

– les alcaloides phénéthylamines et isoquinoléiques simples ou dérivés, dans lesquels on identifie l'éphédrine, la morphine ou la curarine, proviennent de la phénylalanine et de la tyrosine ;

– les alcaloïdes issus du tryptophane contiennent des tryptamines, des β-carbolines (alcaloïdes indoliques hallucinogènes), des ergolines, ainsi que la phytostigmine, qui est à l'origine de la famille d'insecticides chimiques appelés carbamates ;

– l'acide nicotinique dérive de l'acide aspartique et il est précurseur de la nicotine (*cf.* 3.1.) et de l'anabasine.

À côté de ces alcaloïdes vrais, on distingue des « pseudo-alcaloïdes », qui possèdent toutes les propriétés des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas issus d'un amino-acide. Dans cette catégorie, on rencontre les alcaloïdes terpéniques (monoterpéniques, sesquiterpéniques, diterpéniques, stéroïdiques) parmi lesquels on identifie l'aconitine, la solanine, la tomatine, la vératramine. Les « proto-alcaloïdes » sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un hétérocycle (comme la mescaline).

Les alcaloïdes sont particulièrement abondants chez les *Solanaceae*, *Fabaceae* et *Papaveraceae*. Encore aujourd'hui, la fonction des alcaloïdes dans les végétaux est mal comprise (Bruneton, 1999). Mais on a découvert et utilisé très tôt leurs propriétés pharmacologiques. Les alcaloïdes figurent en bonne place dans toutes les pharmacopées du monde, et c'est aussi très vite que furent employés leurs propriétés toxiques ou paralysantes. La toxicité de la coniine, un des principaux alcaloïdes, *Conium ciguë*, a provoqué la mort de Socrate, comme l'atteste la description, rapportée par Platon, des symptômes que présenta le philosophe avant sa mort (cité par Bruneton, 1999).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Cette toxicité s'exerce aussi sur les insectes. La tomatine, alcaloïde majeur de la tomate, ou la démissine extraite de *Solanum demissum* sont des répulsifs puissants pour le doryphore, *Leptinotarsa decemlineata* (Harborne, 1988). La colchicine, l'aconitine ou la delphinine causent la mort rapide des insectes. Toute une gamme d'insecticides végétaux à base de dérivés de l'acide nicotinique (nicotine, nornicotine, anabasine), ou des mélanges d'alcaloïdes (ryanodine, vératrine, quassine), sous formes d'extraits végétaux, a été commercialisée au cours de la première partie du XX^{e} siècle (Philogène *et al.*, 2002 ; *cf.* 3.). La nicotine s'est également révélée larvicide pour le nématode *M. javanica*. D'autres alcaloïdes ont, par ailleurs, manifesté des propriétés nématicides. Les exsudats racinaires de la pervenche de Madagascar *Cantharanthus roseus* contiennent de la serpentine, et ceux *d'Eclipta alba* de l'écliptine, qui sont larvicides pour *Meloidogyne incognita* (Djian-Caporalino *et al.*, 2002).

Parmi les autres composés azotés de ce groupe de molécules allélochimiques, les composés soufrés, glucosinolates et amino-acides non protéiques, ont fait l'objet d'une revue (Auger et Thibout, 2002) :

– les amino-acides soufrés dérivent principalement de la cystéine et sont abondants dans les *Allium*. Quatre composés principaux sont dénombrés : la S-méthyl-L-cystéine sulfoxide (MCSO), le S-propyl-L-cystéine sulfoxide (PCSO), le S-1 propényl-cystéine sulfoxide (PeCSO), la S-allyl-L-cystéine sulfoxide (ACSO) ;

– environ 100 composés glucosinolates ont été identifiés. Ils possèdent tous le même squelette chimique mais divergent par la chaîne latérale. Aux trois familles initiales, les alkylglucosinolates, les glucosinolates aromatiques et les indoylglucosinolates, s'ajoute maintenant une quatrième, les cinnamoylglucosinolates. Les glucosinolates sont abondants chez les crucifères dans lesquelles on a également observé des phytoalexines soufrées qui en dériveraient.

Les composés soufrés possèdent un large spectre d'activités pesticides qui s'exercent sur un large éventail d'organismes vivants :

– des effets toxiques ont été observés chez le moustique *Culex pipiens* ou le Coléoptère *Callosobruchus maculatus*. Le glucosinolate sinigrine est un anti-appétant pour des pucerons comme *Aphis fabae*, mais un toxique pour les larves de *Papilio polyxenes*. Une activité acaricide est observée contre *Tetranychus urticae* ;

– chez les nématodes, la cible privilégiée paraît être *Meloidogyne incognita* mais une activité est également notée sur divers *Pratylenchus* ;

– bien que peu de travaux aient été consacrés aux bactéries phytopathogènes, des effets toxiques ont été notés sur *Pseudomonas solannacearum*, limitant la flétrissure de la tomate ;

– les isothiocyanates sont responsables d'une activité fongicide envers les champignons phytopathogènes *Fusarium oxysporum*, *Aphanomyces enteiches*, *Botrytis allii* ou *Verticillium dahliae*.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Ainsi, les molécules allélochimiques présentent de nombreuses activités dans la défense des plantes. À cette multiplicité s'ajoute une autre dimension : la complexité des relations dans lesquelles elles sont impliquées.

2.4. Complexité des relations interspécifiques

Les molécules allélochimiques végétales sont des médiateurs sémiochimiques intervenant dans des relations complexes. Elles sont parfois détournées par le phytophage à son avantage. Le Lépidoptère *Tyria jacobaea* possède la capacité de sélectionner les alcaloïdes de la plante dont il se nourrit. On a identifié qu'il consomme six alcaloïdes synthétisés par la Composée *Senecio jacobaea* mais qu'il retient préférentiellement la sénécionine, alors que la jacobine est l'alcaloïde majoritaire de cette plante. Plusieurs allomones végétales sont utilisées par les insectes pour leur défense : la larve de l'Hyménoptère *Neodiprion sertifer* émet, lorsqu'elle est attaquée, des gouttelettes répulsives dans lesquelles on a identifié des monoterpènes (l'α et le β-pinène) qu'elle a séquestrés à partir des allomones du pin. Les femelles de la famille des *Coccinellidae* (*Coleoptera*) utilisent un alcaloïde de type coccinelline, identifiée également chez les *Euphorbiaceae* pour repousser les fourmis et les cailles. La sinigrine est séquestrée à partir des crucifères par les Lépidoptères *Pieris brassicae* et *Pieris rapae* qui les utilisent pour leur défense. Un autre exemple démontre l'ambivalence des allomones et kairomones. L'hypericine (naphtoquinone) est un inhibiteur alimentaire pour la plupart des insectes phytophages à l'exception de quelques espèces de Coléoptères du genre *Chrysolina* qui ont développé un système de détoxication à son encontre ; on a aussi observé qu'« *un pas supplémentaire dans l'adaptation a été réalisé par l'espèce* Chrysolina brunsvicensis *qui utilise l'hypericine comme stimulant alimentaire* » (Strebler, 1989), et qui délaisse les plantes qui sont dépourvues de cette naphtoquinone.

Ainsi, on constate qu'il existe une forte variabilité dans la sensibilité des espèces pour un même composé allélochimique.

Ces exemples démontrent que, si un grand nombre de molécules allélochimiques de défense des végétaux sont des substances potentiellement utilisables dans la lutte phytosanitaire, il convient de confirmer leur efficacité sur les organismes ciblés. Cette observation, qui résulte des nombreux travaux réalisés au cours de la deuxième moitié du XX^{e} siècle, est un des points essentiels pour l'orientation et les perspectives de la stratégie sémiochimique basée sur l'emploi des molécules allélochimiques végétales. À la fin du XIX^{e} siècle, quand furent utilisés les premiers produits phytosanitaires à base de composés végétaux, elle n'avait pas été cernée de manière claire. Cette raison n'est cependant pas suffisante pour expliquer que seul un nombre limité de composés ou d'extraits botaniques, au regard du passé et du présent, ait été mis en œuvre.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

3. *Molécules et extraits végétaux utilisés dans la protection des cultures*

C'est surtout au niveau du contrôle des insectes phytoravageurs qu'ont été employés au cours du XX^{e} siècle les extraits et les molécules végétales. Deux approches ont présidé à la découverte et au développement de ces substances.

La première s'est fondée sur une observation des usages traditionnels des plantes et extraits végétaux dans la protection des cultures et des récoltes (ainsi que du bétail), suivie de la vérification de l'efficacité de ces pratiques et de l'identification des molécules actives. Ainsi, fut mis en évidence le rôle de la nicotine extraite du tabac (*Nicotiana tabacum*), et de la roténone isolée à partir des *Fabaceae Lonchocarpus nicou* et *Derris elliptica*.

La deuxième approche correspond à l'analyse systématique (*screening*) de familles de plantes récoltées au cours de campagnes de prospection méthodiques, suivie d'essais biologiques, pour en découvrir les principes actifs. La ryanodine, extraite de plantes du genre *Ryania*, et introduite sur le marché américain en 1945, est le résultat d'une telle démarche, menée conjointement par un industriel multinational et une équipe universitaire nord-américaine (Copping, 2001). Actuellement, de telles explorations sur le terrain et analyses de plantes en laboratoire sont en cours de réalisation sur de nombreuses plantes tropicales (*cf.* chapitre 30).

Les composés végétaux utilisés au XX^{e} siècle ont fait l'objet de publications et revues récentes (Weinzierl, 1998 ; Copping, 2001 ; Koul et Dhaliwal, 2001 ; Philogène *et al.*, 2002 ; Thacker, 2002). Elles nous serviront de base pour une brève présentation qui mettra l'accent sur l'utilisation actuelle de ces substances.

3.1. La nicotine et ses isomères

La nicotine (figure 2) fut sans doute l'une des premières molécules utilisées comme insecticide végétal. Dès 1690, des extraits aqueux de tabac étaient utilisés contre les insectes piqueurs-suceurs des plantes vivrières. Mais c'est en 1828 que le principe actif de cette plante (la nicotine) fut isolé, et en 1904 qu'il fut synthétisé. Cet alcaloïde très stable, sous sa forme lévogyre, présente une grande neurotoxicité pour les insectes. Mimétique de l'acétylcholine, il se lie aux récepteurs post-synapsiques (*cf.* chapitre 1). Volatil, c'est un excellent insecticide actif par inhalation et qui se dégrade au bout de 48h. Sa stabilisation sous forme de sels (sulfate, oléate ou stéarate) augmente son activité insecticide par ingestion. Toutefois, la nicotine se révèle également très toxique pour les mammifères (DL_{50} comprises entre 50 et 60 mg.kg^{-1}) et aussi pour les hommes (inhalation et contact), ce qui a limité son emploi comme produit phytosanitaire. Au niveau écotoxicologique, elle est toxique pour les oiseaux. Aujourd'hui, elle est encore utilisée, dans quelques pays comme la Chine ou la Bolivie, dans les cultures de riz (les tiges de tabac sont immergées dans les rizières) et de la pomme de terre (pulvérisation) (Thacker, 2002). Au Royaume-Uni, elle est encore utilisée en horticulture dans

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

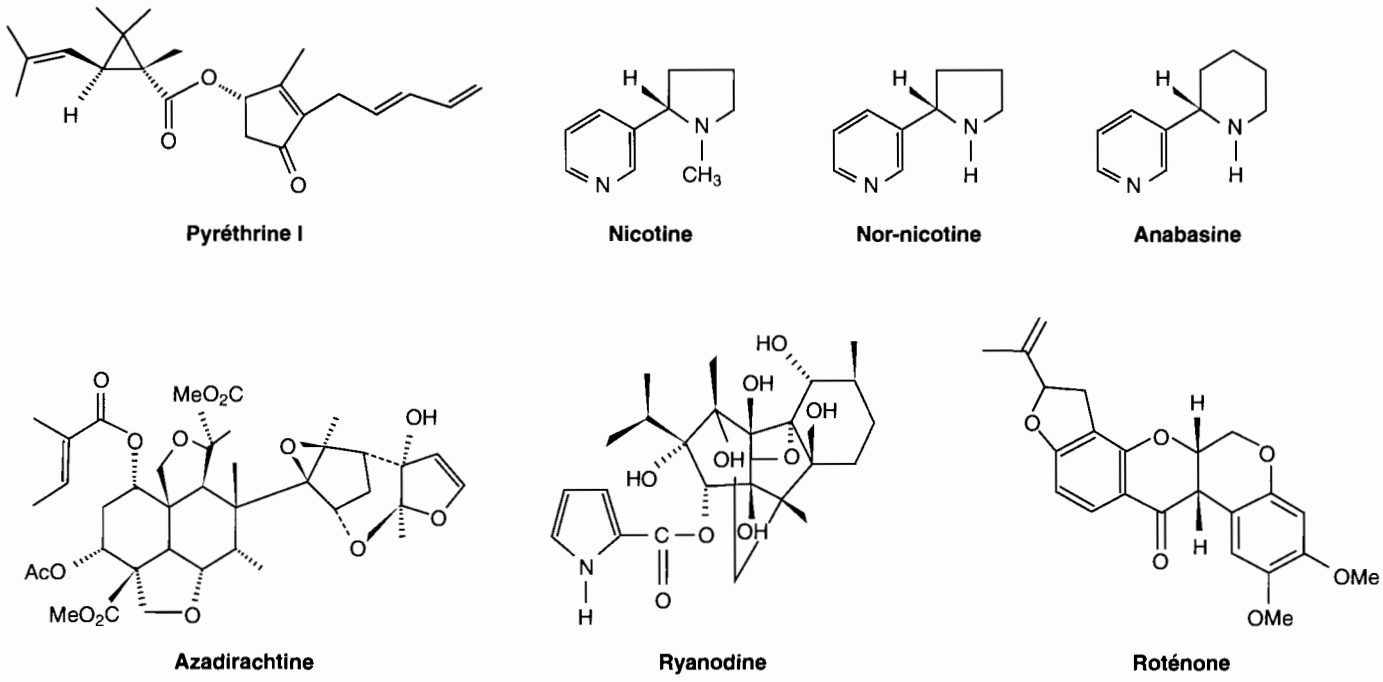


Figure 2 ■ Structures chimiques de quelques molécules insecticides végétales commercialisées au xx^{e} siècle.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

les serres et dans les vergers, cultures légumières et plantes ornementales, sous forme de préparations complexes à base de sulfates, comme poudre, solution ou fumigant (Copping, 2001 ; Tomlin 2003). Elle n'est plus commercialisée en France.

Deux isomères de la nicotine : l'anabasine, extraite pour la première fois d'une famille de *Chenopodiaceae* de la mer Caspienne, et la nornicotine, alcaloïde dextrogyre extrait de la *Solanaceae Duboisia hopwoodi,* ont été vendues en Europe et en Amérique sous le nom de « nicotine russe ». Ils présentent des modes d'action similaires à celui de la nicotine mais on constate une grande variabilité dans la sensibilité des espèces cibles. Ces isomères n'ont pas connu le même succès que la nicotine (Philogène *et al.*, 2002).

3.2. Autres extraits végétaux alcaloïdiques

Plusieurs extraits de plantes ont été utilisés au cours de la première moitié du xx^{e} siècle, mais sont tombés en désuétude face aux succès des pesticides organiques de synthèse. Ils sont encore parfois employés dans certains pays en développement par des agriculteurs qui les manient empiriquement de longue date, ou pour l'agriculture biologique, souvent de manière marginale. Certains sont associés à des insecticides de synthèse pour des usages spécifiques.

Les plus marquants ont été extraits des plantes suivantes.

3.2.1. Sabadilla et vératre

Ces deux Liliacées sont originaires pour la première du continent américain (*Schoenocualon officinale* que l'on trouve au Mexique et au Venezuela) et pour la deuxième de l'Europe des Balkans et d'Asie septentrionale (*Veratrum album*). Le principe actif de ces extraits est la vératrine, en fait un mélange d'alcaloïdes stéroïdiques de véracévine, cévadine, sabadine, 3-O-vanilloylvéracévine et vératidine (Copping, 2001). Ces alcaloïdes développent une activité neurotoxique en ralentissant la fermeture des canaux Na^{+} dépendants (comme le pyrèthre) et perturbent la dépolarisation membranaire. Ils provoquent une paralysie avant la mort. Ce sont des insecticides de contact et non systémiques. D'une dégradation rapide à l'air ou au soleil (inactifs en moins de 24 h), peu toxiques pour les mammifères (DL_{50} *per os* supérieure à 4 000 $mg.kg^{-1}$), ils sont considérés comme sans risque pour les organismes non-cibles. Ils ont été utilisés contre les sauterelles, les poux du bétail, les mouches domestiques. Actuellement, ils sont employés contre les thrips (*Frankliniella spp.* et *Thrips spp.*) dans les cultures de l'avocat et d'agrumes, mais ne sont pas commercialisés en France.

3.2.2. Ryania

La ryanodine (figure 2) et son dérivé, le 9,21-déhydroryanodine, sont des alcaloïdes extraits d'une autre *Liliaceae*, *Ryania speciosa,* originaire du bassin amazonien où la poudre végétale est utilisée comme rodenticide. Ses propriétés insecticides ont été mises en évidence à la suite de la campagne de prospection évoquée ci-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

dessus. Chez l'insecte, son mécanisme d'action affecte la conduction de l'influx nerveux dans le muscle au niveau des canaux Ca^{2+}, ce qui engendre une contraction soutenue du muscle pouvant provoquer la paralysie. La DL_{50} *per os* de l'extrait de *Ryania* chez le rat est de 1 200 $mg.kg^{-1}$ mais une exposition à ses composants alcaloïdes peut provoquer des signes cliniques identiques à ceux des organophosphorés (asthénie, ralentissement respiratoire, nausées, vomissements et diarrhées pouvant s'accompagner de trémor, convulsions) et conduire à la mort. L'extrait de *Ryania* a une persistance un peu plus longue que celle des autres insecticides d'origine végétale puisqu'on retrouve des résidus trois à cinq jours après son application sur les feuilles. On note une toxicité pour les poissons. Son emploi comme insecticide se limite à quelques espèces. On l'utilise en agriculture biologique contre les Lépidoptères *Cydia pomonella*, *Ostrinia nubilalis* et les thrips des agrumes, dans les vergers (protection des pommiers, poiriers et agrumes) ainsi que dans la culture du maïs, aux États-Unis et au Royaume-Uni. Elle n'est pas commercialisée en France.

3.2.3. Quassia

Originaire d'Amérique centrale, les *Quassia* (en réalité deux espèces : *Quassia amara*, originaire du Surinam, et *Picrasma exelca* de la Jamaïque) ont fait l'objet, dans les années 40, d'une culture intensive au Venezuela pour une exportation en Europe et en Amérique du Nord (jusqu'à 500 t). Le principe actif est un alcaloïde, la quassine, constituée de deux isomères (quassine et néoquassine). La quassine est toxique par ingestion ou contact. Son mode d'action n'est pas élucidé. Elle est efficace contre les pucerons, les poux et plusieurs Lépidoptères. Cependant, le caractère artisanal de la préparation des formulations insecticides, à partir des troncs et des branches (réalisée par macération puis concentration par ébullition des extraits aqueux pendant un temps plus ou moins long) a, dans le passé, entraîné des variations de l'efficacité des spécialités commercialisées. Supplantés par les insecticides organiques de synthèse, les extraits de *Quassia* ne sont plus guère utilisés. Mais ils ont fait l'objet récemment d'essais en Australie pour promouvoir une méthode de lutte alternative contre les ravageurs des *Brassicaceae* (Thacker, 2002).

3.3. La roténone et les roténoïdes

C'est, avec la nicotine, un des plus anciens insecticides utilisés de par le monde. Dès 1665, on observait que les populations autochtones de l'Amérique latine se servaient des racines pulvérisées de certaines légumineuses pour attraper les poissons d'eau douce, et en 1848, ces extraits venaient s'ajouter aux préparations insecticides en usage. Le principe actif, un dérivé flavonoïde, est isolé par Geoffroy en 1895 du *Lonchocarpus nicou*, une papilionacée d'Amérique, qu'il appelle nicouline. Mais le nom qui passe à la postérité est celui de roténone, donné par le japonais Nagai qui extrait, en 1902, la même substance des racines de *Derris elliptica* (roten en japonais) (Dajoz, 1969). La roténone et son isomère, la téphrosine (figure 2), sont identifiés dans des *Fabaceae* tropicales des genres *Derris* (originaire de Malaisie et

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

des Indes orientales), *Lonchocarpus* d'Amérique latine et *Tephrosia* en Amérique du Nord. La roténone est le plus actif d'une série de composés, les roténoïdes à action insecticide, parmi lesquels la dégueline (extraite de *Deguelia sp.* d'Afrique), le toxicarol (de *Tephrosia toxicaria* d'Amérique centrale), et la téphrosine (de *Tephrosia virginiana* d'Amérique du Nord).

Elle est inoffensive pour les animaux à sang chaud administrée *per os*, mais en revanche très active sur les animaux à sang froid : batraciens, poissons, reptiles. Elle inhibe les mécanismes de la respiration cellulaire en interrompant les transferts dans la chaîne respiratoire, portant ainsi atteinte au métabolisme énergétique mitochondrial. Les estimations de sa toxicité chez les mammifères sont très hétérogènes, allant de 60 à 1 500 $mg.kg^{-1}$ chez le rat blanc. Une valeur moyenne de DL_{50} de 300 à 500 $mg.kg^{-1}$ a été estimée pour l'homme. Ce sont surtout des différences d'absorption, de distribution et de biotransformation qui interviennent dans l'expression et l'intensité de la toxicité. Longtemps considérée comme peu toxique pour l'homme, elle provoque des inhibitions de la NADH oxydase engendrant des accidents. Des cas de toxicité chronique ont été rapportés, se manifestant par des atteintes hépatiques et rénales, ainsi que des cas de carcinogénicité chez les rongeurs. Plus récemment, on a constaté qu'il existait un lien entre la roténone et la maladie de Parkinson (Betarbet *et al.*, 2000). La roténone est facilement biodégradable : elle persiste trois à cinq jours sur le feuillage après son application, durée qui peut être réduite par son utilisation en solution alcaline. L'alcalinisation réduit d'ailleurs sa toxicité. La roténone seule n'est pas toxique pour les abeilles qui sont très sensibles à son association avec le pyrèthre.

Cette famille de composés a connu une utilisation commerciale importante jusqu'aux années 40 (Philogène *et al.*, 2002). Comme les autres insecticides végétaux, le déclin a commencé à la fin de la Seconde Guerre mondiale. Toutefois, la roténone est toujours utilisée. Elle est employée en particulier dans l'agriculture biologique où elle est souvent associée à des pyréthrinoïdes et au synergiste le butoxyde de pipéronyle. Elle est aussi associée avec des extraits de *Ryania,* ou du cuivre ou des sulfures. En France, il existe sept spécialités à base de roténone (Couteux et Lejeune, 2004), contre 14 au Royaume-Uni (Copping, 2001). Aux États-Unis, elle est incorporée en mélange avec des pyréthrinoïdes, du *Ryania*, du cuivre ou du soufre, pour une utilisation en jardinage domestique. La roténone est également employée dans l'agriculture biologique, contre les pucerons des cultures légumières et des plantes ornementales, ainsi que contre le doryphore de la pomme de terre qui développe de nombreuses résistances aux insecticides (Weinzierl, 1998).

3.4. Le pyrèthre

Le pyrèthre est une poudre produite à partir de plantes appartenant à la famille des *Asteraceae*, les chrysanthèmes (*Chrysanthemum spp. ou Pyrethrum spp.* ou *Tanacetum spp.*). Originaire de Dalmatie, *C. cinerariaefolium* fut utilisé en Europe dès les années 1800. En 1828, c'est le premier produit commercialisé contre les poux et les mouches. À partir de 1850, il était utilisé dans le monde entier. D'abord

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

cultivé commercialement en Dalmatie, puis au Japon, qui en a été le premier producteur jusqu'à la Seconde Guerre mondiale, il provient aujourd'hui principalement du Kenya, de la Tanzanie et de l'Équateur. D'autres espèces de chrysanthèmes, *C. roseum*, *C. tamrutense* et *C. carneum* se sont également révélées d'intéressantes sources de pyrèthre. Les chrysanthèmes se développent particulièrement bien entre 1 500 et 3 500 m. Leurs fleurs, qui contiennent les composés insecticides, sont récoltées et traitées sur place en vue de l'exportation (Casida et Quistad, 1998). La concentration en pyrèthre est généralement de l'ordre de 1 à 2 % dans ces fractions brutes. Le pyrèthre est utilisé en poudre, ou à partir d'extraits réalisés avec du méthanol ou du dioxide de carbone supercritique. Les extraits de pyrèthre vendus en Europe ont une concentration moyenne de l'ordre de 25 % en matière active contre 45-55 % pour ceux vendus aux États-Unis (Copping, 2001). Le pyrèthre est, en réalité, un mélange de six esters (pyréthrines I et II, cinérine I et II et jasmoline I et II). Les pyréthrines I et II sont les plus abondantes (71 %), suivies des cinérines (21 %) et des jasmolines (7 %). La pyréthrine I (figure 2) est l'ester le plus toxique.

Le pyrèthre agit en perturbant la conduction nerveuse. Il ralentit la fermeture des canaux Na^+ au cours de la phase de reconstitution du potentiel d'action des neurones, que ce soit chez les insectes ou les mammifères. En conséquence, l'insecte présente une hyperactivité suivie de convulsions. Il s'agit d'un insecticide de contact, non systémique. Les pyréthrines sont très toxiques et agissent très rapidement sur les insectes. En revanche, elles développent une toxicité peu élevée envers les mammifères (la DL_{50} *per os* est respectivement de 1 280 et 3 920 $mg.kg^{-1}$ chez les rats femelles et mâles, et entre 273 et 796 $mg.kg^{-1}$ chez la souris). Le pyrèthre peut cependant provoquer un trémor suivi de convulsions en cas d'intoxication massive mais la dose mortelle chez l'homme est estimée entre 50 et 100 g (Lauwerys, 1990). Plus fréquentes sont les dermites de contact et les irritations de la peau (sensation de brûlures) qui peuvent se manifester plusieurs heures après le contact ainsi que des allergies respiratoires (asthme, catarrhe nasal). En cas d'ingestion, le pyrèthre est rapidement hydrolysé dans le tractus digestif : aussi est-il plus toxique par inhalation ou administration intraveineuse que *per os*. Au niveau écotoxicologique, des espèces non-cibles peuvent être atteintes :

- les poissons : CL_{50} (96 h) de 5,2 $\mu g.L^{-1}$ chez la truite arc-en-ciel ;
- l'abeille : DL_{50} (*per os*) de 22 $ng.L^{-1}$.

Toutefois, sa grande instabilité à la lumière, à l'air et à l'humidité, réduit considérablement les risques liés à son utilisation. *A contrario*, sa photolabilité, a conduit, très tôt, à rechercher des dérivés plus stables : les pyréthrinoïdes de synthèse qui constituent aujourd'hui un pilier de la lutte phytosanitaire tant agricole que domestique (*cf.* chapitre 1).

Le pyrèthre reste toutefois un produit sanitaire phytochimique toujours très utilisé, en particulier pour les usages domestiques, sous forme d'aérosols en particulier dans les pays occidentaux. C'est l'insecticide naturel actuellement le plus vendu au monde. On l'utilise aussi dans les lieux de stockage, dans les vergers (pommiers, poiriers) et les cultures légumières (choux), ainsi que pour des cultures ornemen-

tales. En France, il est souvent formulé avec le synergiste butoxyde de pipéronyle, et dans deux spécialités : avec un pyréthrinoïde de synthèse, la perméthrine, ou avec un micro-organisme, *Bacillus thuringiensis* (Couteux et Lejeune, 2004).

3.5. *Neem* et azadirachtine

L'utilisation d'extraits de neem comme insecticide dans l'Inde fait partie des pratiques traditionnelles depuis des temps anciens. Redécouvert à partir de 1959 avec les travaux de Schmutterer, le neem ou margousier (*Azadirachta indica*, *Meliaceae*), est déjà mentionné par le Veda, un ensemble de manuscrits sanscrits du IIIe millénaire avant J.-C., pour des usages insecticides (Philogène *et al.*, 2002). Les extraits de neem sont en fait un mélange de plus d'une centaine de composés limonoïdes parmi lesquels les azadirachtine, salanine et nimbine et leurs analogues (Isman, 1997). Tous ces composés ne présentent d'ailleurs pas le même type d'activités : tandis que les salanines et nimbines sont des anti-appétents, les azadirachtines (l'azadirachtine, et le 3-tigloyazadirachtol) sont les seuls composés à développer une activité significative comme inhibiteurs de croissance. Celle-ci résulte d'une inhibition de la synthèse des ecdystéroïdes par action sur la libération de l'hormone prothoracicotrope (PTTH) produite par les cellules neurosécrétrices. Les mues ne peuvent plus se produire normalement et le cycle reproductif de l'insecte est interrompu. L'azadirachtine agit sur un grand nombre d'insectes. Sa toxicité sur les mammifères la classe dans les composés atoxiques (la DL_{50} *per os* sur le rat est supérieure à 5 000 $mg.kg^{-1}$ et la DL_{50} cutanée sur le lapin supérieure à 2 000 $mg.kg^{-1}$). On ne lui connaît pas d'effet irritant, ni dermatologique et elle n'a montré aucune toxicité inhalatoire. Au niveau des tests écotoxicologiques, l'extrait de neem ne présente pas d'effets négatifs et, sur la truite arc-en-ciel, la LC_{50} (96 h) est de 8,8 $mL.L^{-1}$ (Copping, 2001). Par ailleurs, le neem présente peu de persistance dans l'environnement en raison d'une dégradation à la lumière et dans l'eau qui engendre une demi-vie de 20 h après un épandage à la surface d'un feuillage, et de 105 h à pH 7 dans l'eau (Isman, 1997).

Malgré toutes ces qualités, le développement de cet insecticide doit faire face à plusieurs problèmes liés à :

– la réalisation d'une culture sur une large échelle (bien que le margousier soit largement cultivé maintenant dans des pays subtropicaux ou tropicaux des quatre continents) ;

– l'extraction des principes actifs ;

– la mise au point de formulations qui allongerait son efficacité, autant en entreposage que sur le terrain (Philogène *et al.*, 2002).

Les extraits de neem sont actuellement homologués dans plusieurs pays (en particulier en Amérique du Nord). Deux composés sont commercialisés au Royaume-Uni : l'azadirachtine (AZA) (figure 2) et son dérivé hydrogéné, la dihydroazadirachtine (DAZA). On relève environ trente spécialités phytopharmaceutiques sur le marché (Copping, 2001) mais, à ce jour, le neem n'est pas commercialisé en

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

France. Il peut aussi être associé à un pyréthrinoïde pour augmenter son spectre d'activité. C'est probablement l'un des insecticides d'origine végétale qui sera amené à se développer au cours des prochaines années.

3.6. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont, selon la Pharmacopée française (1965), des « *produits complexes renfermant des principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation* ». La norme AFNOR T-75-006 précise son mode d'obtention : entraînement à la vapeur d'eau, distillation sèche ou procédés mécaniques. Les huiles essentielles sont produites chez les végétaux supérieurs : 17 500 espèces aromatiques appartenant à un nombre limité de familles, dont notamment les *Myrtaceae*, les *Lauraceae*, les *Lamiaceae*, les *Asteraceae*. Les huiles essentielles se distinguent des autres huiles végétales par leur volatilité. Leurs constituants appartiennent, de façon quasi-exclusive, à deux familles chimiques : les terpénoïdes (mono et sesquiterpènes de faible poids moléculaire) et, dans une moindre proportion, des composés aromatiques dérivés du phénylpropane. Quelquefois, des produits de dégradation de composés non volatils y sont également identifiés (Bruneton, 1999).

La composition chimique des huiles essentielles est éminemment variable. Plusieurs facteurs influencent leurs profils phytochimiques :

– génétiques : la composition en molécules allélochimiques varie d'une espèce à l'autre (le 1,8-cinéole est le constituant majoritaire de l'huile essentielle de l'eucalyptus, *Eucalyptus globulus*, tandis que linalol est très abondant dans celle du coriandre *Coriandrum sativum*), mais aussi, au sein d'une même espèce, en raison de l'existence de chimiotypes très fréquents chez les plantes à huiles essentielles. L'exemple le plus démonstratif est le thym (*Thymus vulgaris*) qui en présente de très nombreux (en fonction du composé majoritaire : thym à thymol, à carvacrol, à terpinéol, à linalol, etc.) ;

– physiologiques : le métabolisme secondaire de la plante n'est pas identique à tous les stades de son développement. On a pu constater que les proportions de (-) menthone et de (-) menthol varient dans la plante au niveau du cycle végétatif, et aussi en fonction du rythme nycthéméral ;

– pédologiques et climatiques : ces paramètres influencent aussi directement le métabolisme secondaire de la plante (acidité du sol, chaleur, photopériode, hygrométrie, etc.). Ainsi, la teneur en huiles essentielles de certains *Citrus* est plus importante quand la température est élevée ;

– analytiques : les différents procédés d'obtention des huiles essentielles interfèrent sur les constituants extraits.

Malgré cette hétérogénéité dans leur composition chimique, les huiles essentielles ont des propriétés marquées qui les ont fait utiliser de longue date en pharmacie (aromathérapie), en parfumerie (cosmétique), dans l'industrie agroalimentaire (aromatisant) et dans l'industrie chimique (produits d'hémisynthèse). Plus récemment,

leur utilisation dans le secteur phytosanitaire s'est développée, notamment au niveau nord-américain.

L'activité biologique des huiles essentielles sur les insectes phytophages s'exerce à plusieurs niveaux et limite le renouvellement des générations. Ainsi, il a été constaté que des huiles essentielles se révèlent insecticides ou/et inhibent le cycle de reproduction (Weaver *et al.*, 1991 ; Konstantopoulou *et al.*, 1992 ; Regnault-Roger *et al.*, 1993 ; Regnault-Roger et Hamraoui, 1994a). Les profils phytochimiques de ces huiles essentielles ont été établis et la bioactivité de chacun des constituants majoritaires étudiée sur différents insectes. On note une variabilité dans l'efficacité de l'huile essentielle et de ses constituants allélochimiques en fonction, non seulement du profil phytochimique de l'extrait végétal mais aussi de l'espèce entomologique considérée. Ainsi, la bruche *Acanthoscelides obtectus* est plus sensible aux monoterpènes phénoliques, le puceron *Rhopalosiphum padi* aux monoterpènes méthoxylées tandis que la mouche *Ceratitis capitata* réagit aux deux types de groupements fonctionnels (Regnault-Roger, 2002). Des huiles essentielles se sont également montrées antiappétentes (Regnault-Roger et Hamraoui, 1994b), ou répulsives (Tapondjou *et al.*, 2003), comme l'huile de thym (*Thymus vulgaris*), de romarin *(Rosmarinus officinalis)* ou d'eucalyptus (*Eucalyptus saligna*). L'huile de citronnelle (*Cymbopogon nardus*), qui éloigne les moustiques et les mouches, ou l'huile extraite de l'ail (*Allium sativum*), dissuasive pour de nombreux insectes phytophages, sont actuellement commercialisées en horticulture, dans les serres et en protection domestique aux États-Unis et au Royaume-Uni (Copping, 2001). Elles connaissent d'ailleurs un certain succès commercial aux États-Unis en raison d'un assouplissement dans la réglementation présidant leur mise sur le marché (*cf.* chapitre 41). En France, on relève que l'huile de pin (*Pinus spp.*) est utilisée, dans la majorité des spécialités, pour traiter des bâtiments agricoles ainsi que les plaies de taille (Couteux et Lejeune, 2004).

3.7. Autres huiles végétales

Les huiles végétales non volatiles ont été utilisées très tôt dans la lutte contre les insectes sous forme d'émulsions. Ce sont à la fois des insecticides de contact qui agissent par leurs propriétés physiques et chimiques, des adjuvants pour des molécules liposolubles, et dans certains cas, des synergistes (Gauvrit et Cabanne, 2002). Les huiles végétales sont des esters d'acides gras à poids moléculaire élevé. Elles recèlent, en leur sein, une grande hétérogénéité d'acides gras (saturés, insaturés ou estérifiés), à moyennes ou longues chaînes de carbone.

Les propriétés insecticides des huiles végétales dépendent de la composition phytochimique de l'huile considérée. Elles développent surtout une toxicité de contact : au niveau superficiel, l'huile forme un film imperméable sur la cuticule et prive l'insecte d'air, provoquant son asphyxie. Une pénétration en profondeur des acides gras, du fait de leur caractère amphibolique, peut se produire. Certains de ces acides gras possèdent une activité insecticide propre : par exemple l'acide oléique en C_{18} ou l'acide undécylénique en C_{11}. Même si cette activité n'est pas très marquée,

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

elle peut concourir, par synergie, à augmenter la toxicité d'autres composés (Regnault-Roger et Caupin, 1994). La toxicité des acides gras s'exerce au niveau des membranes cellulaires, de la phosphorylation oxydative et de la cuticule des insectes (revue par Weinzierl, 1998). À côté d'une activité toxique, des effets répulsifs de certaines huiles végétales sont aussi observés. Ainsi, une extraction d'huile de *Melinis minutiflora* par divers solvants organiques (méthanol, chloroforme, hexane ou acétone), riche en eïcosane, en acide linolénique sous forme méthyle ester et en acide hexadécanoïque, se révèle très efficace sur la tique du bétail *Boophilus microplus* (Castrejón *et al.*, 2004)

L'utilisation des huiles végétales au cours des années 20 n'avait pas rencontré de succès notamment en raison de leurs effets secondaires sur certains arbres (citronniers), du ralentissement de la pousse végétale des cultures sur lesquelles elles étaient appliquées et de leurs prix de revient élevés (Balachowsky, 1951). Aujourd'hui, ces huiles connaissent un regain d'intérêt car on considère qu'elles sont sans effets non intentionnels sur l'environnement, en raison de leur faible toxicité et de leur rapide décomposition, et sans effets toxiques sur les mammifères. De ce fait, elles bénéficient de la règle d'exemption pour l'homologation aux États-Unis. C'est dans ce contexte que l'huile de colza est commercialisée comme insecticide pour le contrôle de phytoravageurs du maïs, des vergers, des cultures légumières, des plantes d'ornement et d'intérieur, et l'huile de jojoba comme insecticide contre *Bemisia spp.* et *Trialeurodes vaporariorum* et comme fongicide contre le mildiou (Copping, 2001). En France, les huiles végétales (celle de colza principalement) sont utilisées en adjuvants pour bouillies herbicides ou insecticides ou pour le traitement d'hiver des cultures fruitières, de la vigne et des plantes d'ornement, ou des plaies de taille (Couteux et Lejeune, 2004).

Conclusion

Bien qu'une avancée significative dans la compréhension des relations interspécifiques ait démontré les rôles et toute l'importance des molécules allélochimiques comme facteurs d'équilibre des écosystèmes, force est de constater que ces molécules ont été utilisées dans la phytoprotection de manière inégale au cours du siècle dernier. Après un emploi remarqué au début du XX^{e} siècle, mais suscitant de nombreux problèmes (toxicité sur les espèces non-cibles, instabilité des molécules), leur utilisation a largement été occultée jusqu'au dernier quart de ce siècle par l'avènement des insecticides organiques de synthèse, plus faciles d'emploi et moins chers. Les progrès accomplis dans la stabilisation des molécules de pyrèthre, qui ont permis l'arrivée sur le marché des pyréthrinoïdes de synthèse, ont, sans aucun doute, contribué à modifier la perception que l'on avait des bio-insecticides d'origine végétale puisque ces pyréthrinoïdes, dérivés de composés naturels, efficaces et moins polluants, sont auréolés d'un label de produits « verts » (au moins au niveau marketing) même si ce sont des composés de synthèse chimique.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

D'autres substances actives d'origine sémiochimique se sont également développées dans ce dernier quart du XX^e siècle : les phéromones. Molécules de synthèse dans le cadre de leur exploitation commerciale (*cf.* chapitre 41), mais produites à l'identique de la molécule naturelle, elles ont permis le développement de stratégies novatrices de contrôle des populations de ravageurs puisqu'elles agissent sur le comportement de l'insecte et n'impliquent pas forcément une toxicité sur l'individu ciblé.

Si on se réfère au recensement des substances actives sémiochimiques commercialisées comme biopesticides en ce début du XXI^e siècle, il existe 52 molécules phéromonales sur le marché, et seulement 23 substances d'origine végétale et assimilées sur un total de 50 produits naturels (Copping, 2001). Ces chiffres doivent être comparés aux 858 composés pesticides chimiques actuellement commercialisés (et 1469 en comptant les composés qui ne le sont plus) inventoriés par Tomlin (2003). En France, la proportion des biopesticides d'origine végétale commercialisés est encore plus faible (*cf.* tableau 4, chapitre 41), et on constate qu'environ la moitié des usages de ces extraits naturels ne concerne pas la protection des cultures, mais l'assainissement (locaux, matériels agricoles, ou plaies de taille des végétaux).

Ce rapide tour d'horizon démontre le caractère marginal qu'ont occupé les substances actives d'origine végétale dans les stratégies phytosanitaires du XX^e siècle. On remarquera que leurs plus grands succès ont été enregistrés *in fine* par des composés de synthèse dérivés des molécules naturelles (pyréthrinoïdes). Cette constatation pose la question de l'intérêt et de l'utilisation des molécules allélochimiques végétales dans les stratégies de protection des plantes des prochaines années : quels rôles peuvent leur être dévolus ? Le chapitre suivant s'efforcera de répondre à cette interrogation (*cf.* chapitre 30).

Références bibliographiques

Auger J., Thibout E. (2002). Substances soufrées des *Allium* et des crucifères et leurs potentialités phytosanitaires *In* Regnault-Roger C., Philogène B. J.R., Vincent C., *Biopesticides d'origine végétale*. Lavoisier Tec & Doc, Paris, 77-96.

Balachowsky A.S. (1951). *La lutte contre les insectes*. Payot, Paris.

Bergvinson D.J., Arnason J.T., Hamilton R.I., Tachibana S., Towers G.H.N. (1994) Putative role of photodimerized phenolic acids in maize resistance to *Ostrinia nubilalis* (*Lepidoptera: Pyralidae*). *Physiol Chem Ecology*, **23** : 1516-1523

Betarbet R., Sherer Tb., MacKenzie G., Garcia-Osuna M., Panov A.V., Greenamyre J.T. (2000). Chronic systematic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease. *Nat Neurosci*, **3** : 1301-1306.

Bily A., Reid L.M., Taylor J.H., Johnston D., Malouin C., Burt A.J., Bakan B., Regnault-Roger C., Pauls K.P., Arnason J.T., Philogène B. J.R. (2003a) Dehydrodimers of Ferulic Acid in Maize Grain Pericarp: Resistance Factors to *Fusarium graminearum*. *Phytopathology*, **93** : 712-719.

Blum M.S. (1999). Arthropod semiochemicals as multifunctional natural products. *In* Cutler H.C., Cutler S.J., *Biologically active natural products agrochemicals*. CRC Press LLC, Boca Raton.

Bruneton J. (1999). *Pharmacognosie*. Lavoisier Tec & Doc, Paris.

Carde R.T., Minks A.K. (1997). *Insect Pheromone Research: New Directions*. Chapman et Hall, New-York.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Casida, J.E., Quistad G.B. (1998). Golden age of insecticide research: past, present, or future? *Annu Rev Entomol*, **43** : 1-16.

Castejón F.J.M., Cruz-Vásquez C., Fernández-Ruvalcaba M., Torres J.M. (2004). Repellent effect of *Melinis minutiflora* extract on *Boophilus microplus* tick larvae. *Vet Méx* **35** : 153-159.

Copping L.G. (2001). *The Biopesticide Manual 2nd edition.* British Crop Protection Council, Farnham.

Couteux A., Lejeune V. (2004) *Index phytosanitaire Acta.* Association de coordination technique agricole, Paris.

Dajoz R. (1969). *Les insecticides*, Presses universitaires de France, Paris.

Djian-Caporalino C., Bougy G., Cayrol J.-C. (2002). Plantes nématicides et plantes résistantes aux nématodes *In* Regnault-Roger C., Philogène B. J.R., Vincent C., *Biopesticides d'origine végétale.* Lavoisier Tec & Doc, Paris, 187-242.

Ducrot P.-H. (2002). Contribution de la chimie à la compréhension de l'activité biopesticide de produits naturels d'origine végétale *In* Regnault-Roger C., Philogène B. J.R., Vincent C., *Biopesticides d'origine végétale.* Lavoisier Tec & Doc, Paris, 53-66.

El Modafar C., El Boustani E. (2002). Contribution des polyphénols aux mécanismes de défense des plantes. *In* Regnault-Roger C., Philogène B. J.R., Vincent C., *Biopesticides d'origine végétale.* Lavoisier Tec & Doc, Paris, 169-185.

El Modafar C., Tantaoui A., El Boustani E. (1999). Time course accumulation and fungitoxicity of date palm phytoalexins towards *Fusarium oxysp.orum* f.sp. *albedinis*. *J Phytopathol*, **147** : 477-484.

EPA – U.S. (2004). U.S. Environmental Protection Agency. National Agriculture Compliance Assistance Center. http://www.epa.gov/agriculture/tbio.html

Fabre R., Dillemann G. (1971). *Histoire de la Pharmacie.* Presses Universitaires de France, Paris.

Facchini P.J., Chappell J. (1992). Gene family for an elicitor induced sesquiterpene cyclase in tobacco. *Proc Natl Acad Sci* USA, **89** : 11088-11092

Firn R.D., Jones C.G. (1996). An explanation of the secondary products redundancy. http://www.users.york.ac.uk/~drfl/f&j96.htm

Funk C., Lewinsohn E., Vogel B.S., Steele C.L., Croteau R. (1994). Regulation of oleoresinosis in Grand Fir (*Abies grandis*). *Plant Physiol*, **106** : 999-1005

Gauvrit C., Cabanne F. (2002). Huiles végétales et monoterpènes en formulation phytosanitaire *In* Regnault-Roger C., Philogène B. J.R., Vincent C., *Biopesticides d'origine végétale.* Lavoisier Tec & Doc, Paris, 285-300.

Hamraoui A., Regnault Roger C. (1997). Comparaison des activités insecticides des monoterpènes sur deux espèces d'insectes ravageurs des cultures *Ceratitis Capitata* et *Rhopalosiphum padi*. *Acta Bot Gallica*, **144** : 413-417.

Harborne J.B. (1988). *Introduction to Ecological Biochemistry.* Academic Press, London.

Howse P., Stevens I., Jones O. (1998). *Insect Pheromones and their use in Pest Management.* Chapman et Hall, New-York.

Isman M.B. (1997). Neem insecticides. *Pesticide Outlook*, **8** : 32-38.

Jones O.T. (2002). Commercialization of semiochemicals (an analysis of potential barriers to the commercial development of semiochemicals for crop protection). *Crop Protection monthly*, **148** : 1-14. http://www.crop.protection-monthly.co.uk

Jutsum A.R., Gordon R.F.S. (1989). *Insect Pheromones in Plant Protection.* John Wiley, New-York.

Kauffmann S.,Dorey S., Fritig B. (2000). Les stratégies de défense. *Pour la Science* Hors série Janvier, 116-121.

Konstantopoulou I., Vassipoulou L., Mauragani-Tsipidov P., Scouras Z.G. (1992). Insecticidal effects of essential oils. A study of the effects of essentiel oils extracted from eleven Greek aromatic plants on *Drosophila auraria*. *Experientia*, **48** : 616-619

Koul O., Dhaliwal G.S. (2001). *Phytochemical biopesticides.* Harwood Academic Publishers, Amsterdam.

Kuc J. (1995). Phytoalexins, stress metabolism and disease resistance in plants. *Annu Rev Phytopathol*, **33** : 275-297

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Lafont, R. et Horn, D.H.S. (1989). Phytoecdysteroids: Structures and occurrence. *In* Koolman J., *Ecdysone. From Chemistry to Mode of Action*, Thieme Medical Publishers, New York, 39-64.

Lauwerys R. (1990). *Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles*, Masson, Paris.

Lepoivre P. (2003). *Phytopathologie*. Éditions De Boeck Université, Bruxelles.

Marion-Poll F., Dinan L., Lafont R. (2002). Place des phytoecdystéroïdes dans la lutte contre les insectes phytophages *In* Regnault-Roger C., Philogène B. J.R., Vincent C., *Biopesticides d'origine végétale*. Lavoisier Tec & Doc, Paris, 97-114.

Mauch-Mani B., Métraux J.-P. (1998). Salicylic acid and systemic acquired resistance to pathogen attack. *Ann Bot*, **82** : 535-540.

Mendelsohn R., Balick M. (1995). The value of undiscovered pharmaceuticals in tropical forest. *Economic Botany*, **49** : 223-228.

Paré P.W., Tumlinson J.H. (1997). De novo biosynthesis of volatiles induced by insect herbivory in cotton plant *Plant Physiol* **114** : 1161-1167

Paxton J. (1981). Phytoalexins. A working redefinition. *Phytopathol* Z, **101** : 106-109

Pharmacopée française (1965). 8e édition, Ministère de la Santé publique et de la Population, Paris.

Philogène B. J.R., Regnault-Roger C., Vincent C. (2002). Produits phytosanitaires insecticides d'origine végétale : promesses d'hier et d'aujourd'hui. *In* Regnault-Roger C., Philogène B. J.R., Vincent C., *Biopesticides d'origine végétale*. Lavoisier Tec & Doc, Paris, 1-17.

Picimbon J.-F. (2002). Protéines liant les odeurs 5OBP) et protéines chimiosensorielles (CSP.) : cibles moléculaires de la lutte intégrée. *In* Regnault-Roger C., Philogène B. J.R., Vincent C., *Biopesticides d'origine végétale*. Lavoisier Tec & Doc, Paris, 265-283.

Regnault-Roger C. (1997). The potential of botanical essentials oils for insect pest control. *Integr Pest Manag Rev*, **2** :1-10.

Regnault-Roger C. (2002). De nouveaux phyto-insecticides pour le troisième millénaire ? *In* Regnault-Roger C., Philogène B. J.R., Vincent C., *Biopesticides d'origine végétale*. Lavoisier Tec & Doc, Paris, 19-40.

Regnault-Roger C., Caupin H.-J. (1994). Compositions insecticides à base d'undécylénate de méthyle, Brevet FR 94.07237 du 14.06.94.

Regnault-Roger C., Hamraoui A. (1994a). Reproductive inhibition of *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera), bruchid of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by some aromatic essential oils. *Crop Prot*, **13** : 624-628.

Regnault-Roger C., Hamraoui A. (1994b). Antifeedant effect of Mediterranean plant essential oils upon *Acanthoscelides obtectus* Say (*Coleoptera*),bruchid of kidney beans, *Phaseolus vulgaris* L. *In* Highley E., Wright E.J., Banks H.J., Champ B.R., *Stored Product Protection* (volume 2), CAB International, Wallingford (U.K.), 837.

Regnault-Roger C., Hamraoui A. (1995). Fumigant toxic activity and reproductive inhibition induced by monoterpenes upon *Acanthoscelides obtectus* Say (*Coleoptera*), bruchid of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *J Stored Prod Res*, **31** : 291-299.

Regnault-Roger C., Hamraoui A., Holeman M., Théron E., Pinel R. (1993). Insecticidal effect of essential oils from mediterranean plants upon *A. obtectus* Say (*Coleoptera, Bruchidae*), a pest of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *J Chem Ecol*, **19** : 1231-1242.

Regnault-Roger C., Philogène B. J.R., Vincent C. (2002). *Biopesticides d'origine végétale*. Lavoisier Tec & Doc, Paris.

Regnault-Roger C., Ribodeau M., Hamraoui A., Bareau I., Blanchard P., Gil M.I., Tomas Barberan F. (2004). Disturbance of *Acanthoscelides obtectus*' (*Bruchidae*, *Coleoptera*) behaviour by polyphenolic compounds identified in insecticidal Labiatae botanicals.*J Stored Prod Res*, **40** : 395-408.

Renou M., Guerrero A. (2000). Insect parapheromones in olfaction research and semiochemical-based pest control strategies. *Annu Rev Entomol*, **45** : 605-630.

Shen B., Zhen Z., Dooner H.K. (2000). A maize sesquiterpene cyclase gene induced by insect herbivory and volicitin: Characterization of wild-type and mutant alleles. *Proc Natl Acad Sci.* USA, **97** : 14807-14812.

Strebler G. (1989). *Les médiateurs chimiques*. Lavoisier Tec & Doc, Paris.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tapondjou L.A., Adler C., Hamilton B., Fontem D.A. (2003). Bioefficacité des poudres et des huiles essentielles de feuilles de *Chenopodium ambrosioides* et *Eucalyptus saligna* à l'égard de la bruche du niébé, *Callosobruchus maculates* Fab (*Coleoptera, Bruchidae*). *Cahiers d'études et de recherche francophones/Agricultures*, **12** : 401-407.

Thacker J.M.R. (2002). *An introduction to Arthropod Pest Control.* Cambridge University Press, Cambridge.

Tomlin C.D.S. (2003). *The Pesticide manual 13th edition.* British Crop Protection Council, Farnham

Turlings T.C., Tumlinson J.H. (1992). Systemic release of chemical signals by herbivore-injured corn. *Proc Natl Acad Sci USA*, **89** : 8399-8402

Weaver D.K., Dubkel F.V., Netzububanza L., Jackson L.L., Stock D.T. (1991). The efficacy of linalool, a majour component of fresly milled *Ocimum canum Sim* (*Lamiaceae*) for protection against post-harvest damage by certain stored Coleoptera, *J. Stored Prod Res*, **27** : 213-270

Weinzierl R. (1998). Botanicals insecticides, soaps and oils. *In* Rechcigl J.E., Rechcigl N.A., *Biological, biotechnological control of insect pest.* Lewis Publ., Boca Raton, Florida, 101-121.

Wyatt T.D. (2003). *Pheromones and animal behaviour.* Cambridge University Press, Cambridge.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

30

Molécules allélochimiques et extraits végétaux : quelles perspectives en phytoprotection ?

Catherine Regnault-Roger

Les récents développements scientifiques mettant en évidence que les molécules allélochimiques et les extraits végétaux présentent plusieurs propriétés intrinsèques qui devraient leur permettre de s'inscrire dans des stratégies alternatives à l'emploi des pesticides organiques de synthèse, et dans tout programme de lutte intégrée (*cf.* chapitre 29). Leur utilisation dans la protection des cultures s'envisage actuellement de deux manières :

– la première est une stratégie « externe ». Elle a pour objectif de renforcer la protection du végétal par l'application classique de formulations comprenant des substances actives allélochimiques d'origine végétale ;

– la seconde est centrée sur les mécanismes de défense interne du végétal qu'elle vise à accroître en augmentant la biosynthèse des facteurs allélochimiques d'intérêt.

Ces démarches sont actuellement en plein développement. La première est centrée sur l'essor de nouvelles spécialités à base de molécules allélochimiques et d'extraits végétaux, tandis que la deuxième, déjà envisagée par Painter (1951) a été plus systématiquement développée au cours de la dernière décennie. Elle s'appuie sur une stratégie innovante qui vise à permettre à la plante de réagir elle-même contre les bio-agresseurs. Les substances utilisées sont appelées stimulateurs de défense naturelle (SDN) ou éliciteurs. Elles sont considérées en France, aujourd'hui, comme des phytostimulants (*cf.* chapitre 41).

Dans ce chapitre, nous examinerons les perspectives de ces deux stratégies dans la protection de cultures de ce début de XXI^{e} siècle.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1. *Le développement de spécialités biopesticides d'origine végétale*

L'intérêt du développement de nouvelles spécialités à base d'extraits végétaux ou leurs molécules allélochimiques est souligné quand on considère leurs avantages écologiques et environnementaux. Les effets non intentionnels des pesticides organiques de synthèse, dus à leur utilisation sans discernement (exposés dans la première partie de cet ouvrage), ont été qualifiés d'« effets 4 R » (4 R pour : Résistance, Rémanence, Résurgence et Rupture des chaînes trophiques) (Regnault-Roger, 2002). *A contrario*, les molécules allélochimiques végétales, issues de la co-évolution des espèces, présentent plusieurs avantages écologiques qui s'inscrivent en opposition à ces effets 4 R :

– elles développent une sélectivité et une spécificité dans leurs impacts sur les espèces cibles, ce qui diminue les effets non intentionnels sur les organismes non cibles ;

– biosynthétisées, elles sont biodégradables par voie enzymatique avec en général des demi-vies courtes. Leur non-persistance dans l'environnement limite les risques de bio-accumulation et de bio-amplification au niveau des chaînes trophiques ;

– les molécules allélochimiques appartiennent à plusieurs familles chimiques différentes et leurs cibles biochimiques et moléculaires chez les organismes visés sont variées. De ce fait, leur utilisation raisonnée diminue les risques de phénomènes de résistance chez les organismes-cibles, et par conséquent, s'inscrit dans un meilleur respect des écosystèmes.

Toutefois, l'incorporation de ces molécules naturelles dans des formulations phytosanitaires, si elle présente beaucoup d'avantages, notamment pour un usage en milieu domestique (lutte contre les insectes dans les maisons, entretien des jardins), révèle cependant dans le domaine agricole quelques inconvénients. En effet, il faut prendre en considération les défauts des qualités énumérées précédemment. La spécificité et la sélectivité de l'activité des molécules allélochimiques ainsi que leur biodégradabilité qui ont un intérêt écologique et environnemental indéniable, limitent leur attractivité et leur utilisation pour l'agriculteur en raison de l'étroitesse du spectre d'activité et du renouvellement fréquent des traitements. Il faut donc rechercher activement des solutions pour améliorer ces formulations phytosanitaires.

1.1. Utiliser ou créer des synergies moléculaires

Il a été constaté que les extraits végétaux révèlent souvent une activité supérieure à la molécule majoritaire utilisée seule. De nombreuses synergies entre molécules existent en effet. L'action synergique des composés d'origine végétale a récemment fait l'objet d'une revue qui en souligne la complexité (Philogène, 2002). Les molécules synergistes augmentent l'activité d'autres molécules auxquelles elles sont

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

associées, en intervenant sur le transport, l'activation, la détoxication ou le site d'action de cette autre molécule. Ces activités sont le résultat d'actions au niveau enzymatique. Il a été montré que les synergistes inhibent deux systèmes : le système PSMO (polysubstrats mono-oxygénases à P-450) qui détoxifie les molécules actives, et le système des pompes cellulaires MSRS (*multidrug resistance pumps*) qui empêche l'accumulation de la molécule insecticide dans la cellule cible. L'existence de synergies entre composés biosynthétisés s'inscrirait dans le schéma de l'évolution, ainsi que l'indique Philogène (2002) : « *les plantes ont, au cours de leur évolution, privilégié le développement de molécules toxiques. Ceci représente un investissement énergétique considérable. Il semblerait que la co-évolution plantes-insectes phytophages ait par ailleurs favorisé la production d'autres molécules susceptibles d'accentuer les effets toxiques des molécules déjà en place, sans augmenter sensiblement l'investissement requis pour la synthèse des molécules toxiques* ».

L'utilisation de synergistes d'origine végétale, comme le dillapiol (*cf.* 1.2.1.) est une des solutions à examiner pour améliorer l'efficacité et la stabilité des formulations phytosanitaires à base de molécules allélochimiques végétales afin de réduire les doses utilisées, et le nombre des traitements sur les cultures, c'est-à-dire d'inscrire *in fine* leur action dans la durée. Pour notre part, nous avons observé que des associations entre terpènes et polyphénols, ou entre polyphénols, terpènes et acides gras à moyenne chaîne de carbone, présentent la première de ces qualités (Regnault-Roger et Menassa, 1992 ; Regnault-Roger et Caupin, 1994).

1.2. Une nécessaire diversification des molécules allélochimiques végétales

Une autre démarche, indispensable pour accroître l'utilisation des molécules allélochimiques végétales dans le cadre du renouvellement des stratégies phytosanitaires, est certainement d'amplifier le nombre des molécules allélochimiques disponibles afin d'augmenter le nombre des organismes pouvant être ciblés par ces molécules, et élargir ainsi le champ des activités synergiques mentionnées précédemment.

Cette démarche intervient à plusieurs niveaux : rechercher de nouveaux composés allélochimiques et les identifier ; définir leurs propriétés et spectre d'action afin de diversifier leur emploi. Pour répondre à ces préoccupations, de nombreux travaux de recherche sont actuellement consacrés à la découverte de nouvelles ressources en molécules allélochimiques végétales.

1.2.1. Rechercher de nouvelles sources de composés actifs sur les insectes

Les familles de plantes développant des molécules allélochimiques de défense sont ubiquistes, mais un grand nombre de ces familles sont tropicales. En effet, la flore tropicale se développe dans des conditions environnementales également très favorables aux bio-agresseurs, et elle a, en conséquence, particulièrement développé la biosynthèse de molécules de défense.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Les insectes représentant 80 % des espèces animales de la planète, dont environ 10 000 seraient nuisibles pour les activités anthropiques, les plantes susceptibles de contrôler les insectes ont été historiquement les plus étudiées. Déjà en 1950, plus de 2 500 espèces de plantes à propriétés insecticides appartenant à 247 familles avaient été dénombrées (Silva-Aguayo, 2002). Actuellement, il existe une prospection scientifique très active au niveau des familles de plantes insecticides.

Une des plus importantes est consacrée à un examen systématique des familles tropicales, non seulement celles qui sont traditionnellement connues pour recéler des molécules à activités phytopharmaceutiques insecticides, mais aussi celles qui sont plus « rares », car moins nombreuses et d'un accès plus difficile (Arnason *et al.*, 2002). Ainsi, des extraits d'écorce des plantes appartenant aux genres *Swietenia* ou *Cedrela* contiennent des limonoïdes, les humilidolines, isolées de l'acajou, *Swietenia humulis*. Ces substances sont des régulateurs de croissance pour *Ostrinia nubilalis*, la pyrale du maïs. Le potentiel phytosanitaire de plusieurs limonoïdes, identifiés dans d'autres bois exotiques comme les cèdres tropicaux (*Cedrela odorata*, *C. salvadorensis*), est également en cours d'étude. Les *Piperaceae*, famille pantropicale, produisent non seulement des composés insecticides comme les pipéramides (Parmar et Boll, 1997 ; Scott *et al.*, 2003) mais aussi des synergistes naturels comme le dillapiol précédemment mentionné (Philogène, 2002). Des familles de la flore tropicale, comme les *Ancistrocladaceae* d'Afrique de l'Ouest (*Ancistrocladus sp.*) ou les *Canellaceae* (*Pleodendron sp.*, *Warburgia sp.*) en Amérique centrale, sont étudiées pour de nouveaux réducteurs de croissance des insectes ou des anti-appétents (Arnason *et al.*, 2002). Parmi les nouvelles sources de composés insecticides végétaux, les cellules oléagineuses idioblastiques de l'avocatier (*Persea americana*, *Lauraceae*) synthétisent de la persine, un analogue structural de la monolinoléine, qui inhibe la croissance des larves d'insectes généralistes (*Spodoptera exigua*) ou spécialistes (*Bombyx mori*) (Rodriguez-Saona *et al.*, 2002). Des naphtoquinones, extraites d'une *Scrophulariaceae* originaire des Andes chiliennes, *Calceolaria andina* font actuellement l'objet d'études car elles présentent une spécificité dans l'activité toxique qui épargnerait les insectes auxiliaires (Silva-Aguayo, 2002 ; Thacker, 2002).

La flore des climats tempérés recèle également de nombreuses molécules allélochimiques de défense. Les plantes aromatiques méditerranéennes, parmi lesquelles des *Lamiaceae* comme le thym (*Thymus vulgaris)* ou le romarin (*Rosmarinus officinalis)*, synthétisent des terpènes et des polyphénols toxiques pour un large éventail d'insectes, et leur potentiel phytosanitaire a été souligné (Regnault-Roger, 1995 et 2002). Certaines familles de plantes sont riches en phytoecdystéroïdes, analogues structuraux des hormones de mue des insectes et perturbateurs de leur croissance (Marion-Poll *et al.*, 2002). Dinan (1998) a recensé environ 180 plantes, sur 3000 espèces étudiées, contenant une quantité significative d'ecdystéroïdes, parmi lesquelles les *Chenopodiaceae* (dont l'épinard, *Spinacia oleracea*) ou les *Taxaceae* (*Taxus cuspidata*).

La recherche de molécules synergistes est également très active. Plusieurs familles végétales produisent des lignanes aux propriétés synergistes, en particulier

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

des *Asteraceae* (*Artemisia absynthium*, *Erigeron sp.*) et des *Umbelliferae* (*Anthriscus sp.*, *Pasticana sativa*). Le lignane dillapiol, dont le développement est certainement un des plus prometteurs, a été identifié chez des *Piperaceae* (*Piper novae-hollandiae* et *P. adunctum*), *Asteraceae* (*Artemisia scoparia*) et chez des *Umbelliferae* (*Anethum sowa*) (Philogène, 2002).

1.2.2. Diversifier l'emploi des molécules allélochimiques végétales

Les plantes ne recèlent pas uniquement des composés à caractère insecticide. On identifie également des propriétés nématicides, fongicides, bactéricides, acaricides et allélopathiques.

Une revue récente identifie 200 espèces de plantes, appartenant à 80 familles, productrices de composés nématicides ou nématifuges pouvant être introduites dans les rotations des cultures (Djian-Caporalino *et al.*, 2002), parmi lesquelles :

– des légumineuses (*Fabaceae*) tel le genre *Crotalaria* ;

– des crucifères (*Brassicaceae*) dont certaines espèces, *Sinapsis alba* ou *Rhapanus sativus*, sont utilisées comme engrais nématides « verts » ;

– des graminées (*Poaceae*), notamment l'avoine (*Avena sativa*), utilisées seules ou en assolements avec des légumineuses ou des crucifères ;

– des *Asteraceae* parmi lesquelles les tagètes (l'œillet d'Inde, *Tagetes patula* ou la rose d'Inde, *Tagetes erecta*, ainsi que le tagète des parfumeurs, *Tagetes minuta*), réputées pour leur efficacité ;

– des *Liliaceae* comme l'asperge (*Asparagus officinalis*), ou des *Hydrophyllaceae* avec les phalécies (*Phacelia spp.*).

D'autres plantes contenant des composés nématicides peuvent être employées en amendements organiques. On utilise les plants, tiges, feuilles, ou les graines sous forme de tourteau. Djian-Caporalino *et al.* (2002) en identifient 39 espèces appartenant à 22 familles, et citent pour les plus utilisées : le ricin (*Ricinus communis*, *Euphorbiaceae*), l'arachide (*Arachis hypogeae*, *Fabaceae*), le basilic (*Ocimum basilicum*, *Lamiaceae*), le coton (*Gossypium hirsutum*, *Malvaceae*), le sésame (*Sesamum orientale*, *Pedaliaceae*), et parmi les *Meliaceae* le margousier (*Azadirachta indica*) ou le lilas de Chine (*Melia azadirach*), ou encore des graminées, l'avoine (*Avena sativa*) ou le seigle (*Secale cereale*).

Si l'éventail des molécules allélochimiques nématicides synthétisées par ces familles de plantes est très large (*cf.* 2.), Copping (2001) ne recense que deux produits naturels extraits de végétaux nématicides commercialisés et un seul composé en cours de développement.

À côté de ces plantes nématicides, des familles végétales se sont révélées riches en composés fongicides, bactéricides ou acaricides. L'activité des composés azotés soufrés (amino-acides non protéiques ou glucosinolates) a été évoquée précédemment (*cf.* chapitre 29). Parmi les plantes riches en amino-acides soufrés et dérivés, ont été identifiées les *Liliaceae* avec les *Allium* (*Allium porrum*, le poireau ; *Allium cepa*, l'oignon ; *Allium sativum*, l'ail), les *Mimosaceae* (*Albizia lophantha*), mais

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

aussi les *Umbelliferae*, les *Meliaceae* ou les *Asteraceae*. Parmi les plantes qui contiennent des glucosinolates, on trouve, à côté des crucifères (*Brassicaceae*) qui en sont la source la plus connue, des familles proches telles les *Capparidaceae*, les *Resedaceae* et les *Moringaceae*, mais aussi des familles très répandues comme les *Euphorbiaceae* ainsi que des plantes tropicales et exotiques appartenant aux *Caricaceae*, *Salvadoraceae* ou *Phytolaccaceae* (Auger et Thibout, 2002).

Comme pour les plantes nématicides, le potentiel des plantes à caractère fongicide est très mal valorisé. Copping (2001) n'a identifié qu'un produit naturel d'origine végétale exploité pour ses propriétés fongicides : l'huile de jojoba (extrait de *Simmondsia californica*), d'abord homologuée aux États-Unis comme insecticide (ECO E-Rase®), maintenant recommandée contre des mildious depuis que ses propriétés fongicides ont été mises en évidence en 1998.

On observe également des plantes qui libèrent des composés chimiques de défense contre les autres plantes : ce sont les molécules allélopathiques. Plusieurs familles développent une activité allélopathique : *Lamiaceae* (*Salvia sp.*), conifères (*Picea mariana*, *Pinus resinosa*, *Thuya occidentalis*), *Poaceae* comme le blé (*Triticum aestivum*), le sorgho (*Sorghum sp.*) ou le seigle (*Secale cereale*), ou légumineuses (*Fabaceae*) comme la luzerne (*Medicago sativa*) dont les résidus de culture inhibent la germination et la croissance de ses propres semis. Là encore, l'exploitation commerciale des molécules allélopathiques est quasi-inexistante : on note une spécialité la Cinméthyline® à base de 1,8-cinéole, et certains acides hydroxamiques sont en cours de développement (Chiapussio *et al.*, 2002).

Il existe donc une large variété de plantes et de molécules allélochimiques qui pourraient être incorporées dans les formulations phytosanitaires et dont le développement industriel se fait attendre. Il faut donc se demander quels peuvent être les obstacles rencontrés.

1.3. Freins au développement des formulations à base de molécules allélochimiques

Selon Isman (2002), plusieurs facteurs doivent être pris considération dans le processus de développement industriel des composés végétaux, parmi lesquels :

– la disponibilité de la matière première et son accessibilité. L'approvisionnement en biomasse végétale doit être constant, abondant et facilement renouvelable, ce qui exclut les espèces à développement lent, comme les espèces ligneuses, si elles ne sont pas cultivées à d'autres fins ;

– le prix de la matière première. Elle doit être bon marché pour pouvoir rentrer en compétition avec les coûts de fabrication des pesticides organiques de synthèse. C'est pourquoi des sous-produits d'autres industries (parfumerie et cosmétique, agroalimentaire) peuvent se révéler d'intérêt ;

– la qualité des extraits végétaux dont la composition phytochimique est variable (*cf.* chapitre 29). Or, les produits mis sur le marché doivent être de qualité uniforme et constante. Des contrôles réguliers et un réajustement éventuel par l'adjonction de matière active ou une purification peuvent être nécessaires. Ces dispositifs aug-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

mentent les coûts de fabrication de ces formulations. Isman (1995) indique que c'est pour cette raison qu'en Amérique du Nord, beaucoup d'insecticides commerciaux d'origine végétale sont composés uniquement d'extraits simples ou de poudres ;

– les procédures d'homologation, qui sont obligatoires dans les pays qui représentent les marchés les plus économiquement intéressants, c'est-à-dire les pays développés. La différence des procédures entre l'Amérique du Nord et l'Europe (*cf.* chapitres 41 et 46), a des conséquences importantes au niveau commercial ;

– la protection des technologies et formulations qui assurera à l'industriel une exclusivité temporaire nécessaire pour le retour sur investissement et la rentabilité de sa démarche.

Ces différents points sont particulièrement importants pour le développement futur de nouvelles formulations phytosanitaires à base de produits végétaux. On remarque, cependant, qu'une molécule terpénique, le p-menthane-3,8 diol, répulsif pour de nombreux insectes, originellement identifiée chez *Eucalyptus citriodora*, est *in fine* commercialisée (Mosiguard natural®, Quwenling®) à partir de la synthèse de molécules à l'identique de la molécule naturelle (Copping, 2001).

Cette démarche peut constituer une réponse aux problèmes que rencontrent les biopesticides d'origine végétale dans leur développement commercial (*cf.* chapitre 41).

2. *La stimulation des défenses internes des végétaux*

Les progrès accomplis ces dernières années dans la maîtrise de l'outil moléculaire ainsi que dans la connaissance des mécanismes de résistance des plantes aux attaques des parasites, ont permis de préciser le rôle de certaines molécules allélochimiques dans les phénomènes de résistance des plantes aux bio-agresseurs. De nouvelles perspectives pour la protection des plantes se sont ouvertes en matière de sélection variétale de plantes résistantes et de création de défense induite chez la plante. Ces deux démarches, qui visent à réduire la quantité d'intrants pesticides dans l'agriculture, s'inscrivent dans un cadre général mettant en jeu non seulement des molécules allélochimiques mais aussi d'autres molécules. Nous illustrerons ces démarches à l'aide d'exemples de travaux relatifs aux composés allélochimiques et extraits végétaux.

2.1. Améliorer la sélection de variétés résistantes

Une des bases de l'agronomie moderne est la sélection des caractères d'intérêt pour améliorer la qualité des plantes cultivées. La sélection variétale peut maintenant s'effectuer par des méthodes classiques ou utiliser les techniques biotechnologiques. Le rôle des molécules allélochimiques dans les mécanismes de résistance naturelle des plantes aux agressions des ravageurs et des parasites est important (*cf.* chapitre 29). Il a été observé qu'il existe, dans certains cas, une relation directe

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

entre le degré de tolérance d'une plante à une maladie et la présence des molécules allélochimiques. Des corrélations positives entre la teneur en molécules allélochimiques et la résistance à un pathogène ont été mises en évidence. Ainsi, Bily *et al.* (2003a) constatent qu'il existe une différence significative de concentrations en diférulates entre les variétés résistantes et les variétés sensibles de maïs à la fusariose des épis provoquée par *Fusarium graminearum*, à l'avantage des premières. L'étape qui suit cette observation est d'établir la possibilité de construire, comme outil d'aide à la décision, une hiérarchie dans les différentes variétés de maïs pour la résistance à la fusariose des épis à partir de la concentration en diférulates. De cette façon la commercialisation de variétés de maïs sélectionnées pour leur résistance à cette maladie pourrait être favorisée.

Ce travail nécessite la réalisation d'une sélection variétale pour déterminer si l'implication des diférulates dans la résistance des variétés de maïs a une base génétique. Celle-ci peut se faire par des techniques classiques (croisements utilisant les lois de Mendel) ou par marquage en utilisant l'outil moléculaire (sélection assistée par marquage : SAM). L'apport de la génomique dans les processus de sélection variétale (*cf.* chapitre 35) constitue une avancée décisive qui a été récemment soulignée par les acteurs de la profession (Ronsin et Ruaud, 2003). Ces auteurs remarquent que la SAM se révèle un outil puissant pour aider le sélectionneur à identifier les gènes de résistance aux maladies. L'utilisation de la SAM permet d'identifier les régions génomiques impliquées dans la résistance aux pathogènes à l'aide des QTL (*quantitative trait loci*). L'étude cartographique des chevauchements des QTL associés aux phénomènes de résistance avec ceux associés à la variance phénotypique de molécules allélochimiques d'intérêt constitue une étape essentielle de la démarche pour cerner les gènes d'intérêt. Dans les travaux cités précédemment, des chevauchements entre les QTL associés aux diférulates et ceux associés à la résistance des soies et des grains de maïs ont ainsi été observés (Bily *et al.*, 2003b) et ces premiers résultats sont en cours de confirmation.

2.2. Renforcer le métabolisme des molécules allélochimiques végétales avec des éliciteurs

Une autre approche visant à renforcer les défenses du végétal s'appuie sur une meilleure connaissance du métabolisme secondaire des plantes et de sa régulation pour pouvoir les modifier à l'avantage du végétal. Une production accrue de composés allélochimiques impliqués dans la résistance naturelle, ou induite, aux bioagresseurs, ne peut qu'améliorer sa capacité défensive.

Celle-ci peut être réalisée de plusieurs façons : activer le système défensif des plantes aux moyens des SDN (stimulateurs de défense naturelle), ou bien procéder par génie génétique en faisant surexprimer les gênes d'intérêt dans la plante. La première démarche, centrée sur les éliciteurs, est actuellement en plein développement. Les éliciteurs sont des substances qui induisent une réponse de défense active de la plante. Ils peuvent être spécifiques ou généraux (*cf.* encadré « Résistance

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un delit

induite et stimulateurs de défense des plantes (éliciteurs) ») et certains provoquent la synthèse des phytoalexines.

Résistance induite et stimulateurs de défense des plantes (éliciteurs)

On peut définir et résumer ainsi les principes généraux de la résistance induite : « *l'induction de la résistance d'une plante consiste à augmenter les mécanismes de défense naturelle présents dans une plante mais qui sont à l'état latent* » (Lateur, 2002). Ces mécanismes sont de deux ordres :

– spécifiques dans le cadre d'une relation hôte-parasite. La résistance dépend d'une reconnaissance spécifique entre un gène majeur de résistance chez la plante et un gène d'avirulence correspondant chez l'agent pathogène. Ce gène d'avirulence produit des éliciteurs spécifiques ;

– non spécifiques. Les réactions de stimulation de défense des mécanismes de la plante sont induites par une grande diversité d'agents (micro-organismes infectieux ou non, extraits microbiens, composés organiques ou minéraux, agents physiques). Ce sont des éliciteurs généraux.

Les éliciteurs sont donc des signaux d'alerte perçus par la plante qui provoquent la réaction de défense de la plante. Ils peuvent être les « *armes-mêmes des agresseurs ou le produit de leur action* » (Pautot *et al.*, 1999).

L'activation des mécanismes de résistance entraîne une cascade d'événements métaboliques :

– renforcement de barrières mécaniques : incorporation de polysaccharides (callose), de polymères phénoliques comme la lignine, de glycoprotéines riches en hydroxyproline, ou de protéines riches en glycine ou en proline dans la paroi pecto-cellulosique ;

– stimulation d'enzymes de défense : enzymes de biosynthèse de phytoalexines ou de l'éthylène, peroxydases.

– production de protéines de défense et protéines PR (*pathogenesis related*), comme les chitinases, glucanases, inhibiteurs de protéases.

La nature des éliciteurs est diverse. Les éliciteurs peuvent être abiotiques (métaux lourds, UV) ou biotiques (extraits de micro-organismes, par exemple des parois bactériennes de *Pseudomonas glycinea* et du mycelium du champignon *Phytophthora infestans*). À côté de composés minéraux (oxyde nitrique) ou organiques (acide gallique), on y trouve des protéines (élicitines), des lipides (acides gras insaturés), des oligosaccharides ou polysaccharides (glucanes, chitosanes), etc. Certains éliciteurs sont endogènes, c'est-à-dire qu'ils proviennent du végétal lui-même ; des oligosaccharines végétales inductrices sont libérées par l'activité enzymatique de l'agresseur fongique ou bactérien de la paroi végétale (Lepoivre, 2003). La diversité des molécules qui peuvent se révéler élicitrices est, par conséquent, considérable et constitue un vaste champ d'investigation pour les chercheurs.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Le *Scottish Crop Research Institute* (Lyon et Newton, 2003) a établi une liste d'éliciteurs impliqués dans la résistance induite des plantes ; systémique ou locale (*systemic acquired resistance*, SAR, et *local acquired resistance*, LAR). Des composés et extraits de plantes jouent le rôle d'éliciteurs. À côté de composés du métabolisme primaire (acides galacturonique, glycuronique, oxalique, oléique et linolénique, ou la glycine par exemple), des composés allélochimiques (polyphénols comme les acides gallique, m-hydroxybenzoique et p-hydroxybenzoique, le phloroglucinol, etc.), se sont révélés actifs contre les pathogènes des plusieurs fruits et légumes (concombre, pomme de terre, tomate, kiwi) et céréales (riz, orge) : *Collelotrichum lagenarium*, *Phytophthora infestans*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Pyricularia oryzae* ou *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*.

Parmi les extraits de plantes, des extraits de lierre (*Hedera helix*) sont actifs contre *Erwinia amylovora* agent du feu bactérien de la pomme ou du *Cotoneaster salicifolius* (Baysal *et al.*, 2002). Les extraits de *Reynoutria sacchalinensis*, provoque l'induction de phytoalexines phénoliques chez les plantes traitées. Commercialisé sous le nom de Milsana® (KHH Bioscience), il est particulièrement utilisé en Amérique du nord et son emploi est recommandé pour la protection des plantes ornementales comme les roses et les bégonias, et de divers légumes et fruits (Copping, 2001).

Ainsi, le métabolisme secondaire producteur de molécules allélochimiques, est une cible de choix pour les éliciteurs. La stimulation des molécules synthétisées par les plantes pour leur protection, c'est-à-dire des molécules naturelles et non toxiques pour l'environnement, semble constituer une stratégie phytosanitaire alternative prometteuse (*cf.* chapitre 41).

Conclusion

Les propriétés intrinsèques des molécules allélochimiques végétales en font des composés d'intérêt pour la protection des cultures dans le cadre d'une agriculture durable et la diversification des approches phytosanitaires.

Le développement de formulations phytosanitaires à base de molécules allélochimiques présente plusieurs atouts. Ces spécialités sont en effet utilisables aussi bien dans le cadre de l'agriculture biologique que de l'agriculture conventionnelle :

– dans l'agriculture biologique, si l'ensemble des principes actifs et des adjuvants est autorisé dans les cahiers des charges de cette démarche agricole ;

– dans l'agriculture conventionnelle en association avec des pesticides organiques de synthèse. Certaines spécialités les associent d'ailleurs comme la Fumitrine P® qui comprend un pyréthrinoïde de synthèse et du pyrèthre (Couteux et Lejeune, 2004).

Malgré des difficultés temporaires constatées actuellement au niveau commercial, plusieurs indices (Jones, 2002 ; *cf.* chapitre 41) laissent cependant présager un développement des composés chimiques dérivés des plantes.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

L'autre stratégie d'emploi des molécules allélochimiques végétales est centrée sur le développement de stimulateurs de défense des plantes, qui est en pleine expansion, tandis que la sélection de variétés résistantes assistée par marqueurs moléculaires est déjà d'application immédiate.

Ces récents développements démontrent avec éclat tout l'intérêt des recherches consacrées à la connaissance des plantes dans leurs relations interspécifiques, recherches qui sont plus que jamais d'actualité.

Références bibliographiques

Arnason J.T., Durst T., Philogène B. J.R. (2002). Prospection d'insecticides phytochimiques de plantes tempérées et tropicales communes ou rares *In* Regnault-Roger C., Philogène B. J.R., Vincent C., *Biopesticides d'origine végétale*. Lavoisier Tec & Doc, Paris, 41-52.

Auger J., Thibout E. (2002). Substances soufrées des *Allium* et des crucifères et leurs potentialités phytosanitaires *In* Regnault-Roger C., Philogène B. J.R., Vincent C., *Biopesticides d'origine végétale*. Lavoisier Tec & Doc, Paris, 77-96.

Baysal O., Laux P., Zeller W. (2002). Further studies on the induced resistance (IR) effect of plant extract from *Hedera helix* against fire blight (*Erwinia amylovora*). *Actae Horticulturae*, **590** : 273-277.

Bily A., Reid L.M., Taylor J.H., Johnston D., Malouin C., Burt A.J., Bakan B., Regnault-Roger C., Pauls K.P., Arnason J.T., Philogène B. J.R. (2003a). Dehydrodimers of Ferulic Acid in Maize Grain Pericarp: Resistance Factors to *Fusarium graminearum*. *Phytopathology*, **93** : 712-719.

Bily A., Taylor J.H., Reid L.M., Pauls K.P., Philogène B. J.R., Regnault Roger C., Arnason J.T. (2003b). Bases génétiques de l'implication des phénylpropanoïdes du maïs dans la résistance envers *Fusarium graminearum*. *In* AFPP – *7e conférence internationale sur les maladies de plantes (CD Rom)*, Tours, France.

Chiapussio G., Gallet C., Dobremez J.-F., Pellisier F. (2002). Composés allélopathiques : herbicides de demain ? *In* Regnault-Roger C., Philogène B. J.R., Vincent C., *Biopesticides d'origine végétale*. Lavoisier Tec & Doc, Paris, 151-168.

Copping L.G. (2001). *The Biopesticide Manual 2nd edition* British Crop Protection Council, Farnham.

Couteux A., Lejeune V. (2004) *Index phytosanitaire Acta*. Association de coordination technique agricole, Paris.

Dinan, L. (1998). A strategy towards the elucidation of the contribution made by phytoecdysteroids to the deterrence of invertebrate predators on plants. *Russian J Plant Physiol*, **45** : 296-305.

Djian-Caporalino C., Bourdy G., Cayrol J.-C. (2002). Plantes nématicides et plantes résistantes aux nématodes *In* Regnault-Roger C., Philogène B. J.R., Vincent C., *Biopesticides d'origine végétale*. Lavoisier Tec & Doc, Paris, 187-242.

Isman M.B. (1995) Leads and prospects for the development of new botanical insecticides. *Rev Pestic Toxicol*, **3** : 1-20.

Isman M.B. (2002). Problèmes et perspectives de commercialisation des insecticides d'origine botanique. *In* Regnault-Roger C., Philogène B. J.R., Vincent C., *Biopesticides d'origine végétale*. Lavoisier Tec & Doc, Paris, 301-312.

Jones O.T. (2002). Commercialization of semiochemicals (an analysis of potential barriers to the commercial development of semiochemicals for crop protection). *Crop Protection monthly*, **148** : 1-14. http://www.crop.protection-monthly.co.uk

Lateur M. (2002). Perspectives de lutte contre les maladies des arbres fruitiers à pépins au moyen de substances naturelles inductrices d'une résistance systémique. *Biotechnol Agron Soc Environ*, **6** : 67-77.

Lepoivre P. (2003). *Phytopathologie*. Éditions De Boeck Université, Bruxelles.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Lyon G., Newton A. (2003). Compounds that stimulate plant resistance to infection when applied exogenously. http://www.scri.sari.ac.uk/TIPP/sar

Marion-Poll F., Dinan L., Lafont R. (2002). Place des phytoecdystéroïdes dans la lutte contre les insectes phytophages *In* Regnault-Roger C., Philogène B. J.R., Vincent C., *Biopesticides d'origine végétale*. Lavoisier Tec & Doc, Paris, 97-114.

Painter R.H. (1951). Insect resistance in crop plants. Mac Millan, New-York.

Parmar V.S., Boll P.M. (1997). Phytochemistry of the genus Piper. *Phytochemistry*, **46** : 597-673.

Pautot V., Robaglia C., Pernollet J.-C. (1999). La résistance des plantes aux agents pathogènes, *Phytoma*, **521** : 10-15.

Philogène B. J.R. (2002). Action synergique des composés d'origine végétale *In* Regnault-Roger C., Philogène B. J.R., Vincent C., *Biopesticides d'origine végétale*. Lavoisier Tec & Doc, Paris, 67-76.

Regnault-Roger C. (1995). Potentialités phytosanitaires des plantes aromatiques : contrôle du flux des insectes phytoravageurs. *In* Guegen J., *Valorisations non alimentaires des productions agricoles, Les Colloques INRA*, **71** : 285-291.

Regnault-Roger C. (2002). De nouveaux phyto-insecticides pour le troisième millénaire ? *In* Regnault-Roger C., Philogène B.J.R., Vincent C., *Biopesticides d'origine végétale*. Lavoisier Tec & Doc, Paris, 19-40.

Regnault-Roger C., Caupin H.J. (1994). Compositions insecticides à base d'undécylénate de méthyle, Brevet FR 94.07237 du 14.06.94.

Regnault-Roger C., Menassa A.(1992). Compositions insecticides à base de polyphénols, Brevet FR 92/15161 du 16.12.92, PCT/FR 9310126/WO 941 13141.

Rodriguez-Saona C.R., Millar J.C., Trumble J.T. (2002). Cellules oléagineuses idioblastiques : une nouvelle source de produits botaniques actifs dans le contrôle des insectes *In* Regnault-Roger C., Philogène B. J.R., Vincent C., *Biopesticides d'origine végétale*. Lavoisier Tec & Doc, Paris, 115-132.

Ronsin T., Ruaud P. (2003). Intégration des données de la génomique dans un programme de création variétale : sélection de céréales résistantes aux maladies. *In* AFPP – *7e conférence internationale sur les maladies de plantes (CD Rom)*, Tours, France.

Scott I.M., Jensen H., Scott J.G., Isman M.B., Arnason J.T., Philogène B. J.R. (2003). Botanical insecticides for controlling agricultural pest: piperamides and the Colorado potato beetle *Leptinotara decemlineata* (*Coleoptera: Chrysomelidae*). *Arch Insect Biochem*, **54** : 212-225.

Silva-Aguayo G. (2002). *Botanical insecticides*, Radcliffe National IPM textbook. http://ipmworl.umn.edu/chapters/silvaAguayo.html

Thacker J.M.R. (2002). *An introduction to Arthropod Pest Control*. Cambridge University Press, Cambridge.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

31

Utilisation des pièges à phéromone sexuelle dans la gestion des ravageurs

Lucie Royer, Johanne Delisle

Les phéromones sont des composés chimiques volatils responsables de la communication entre les membres d'une même espèce. Il en existe plusieurs sortes qui ont pour nom la fonction qu'elles induisent : phéromones d'alarme, d'agrégation, de marquage (ou épidéictique), de piste, de reconnaissance et les phéromones sexuelles. Ces dernières sont impliquées dans la reproduction et permettent à l'un des sexes d'attirer, souvent à grande distance, l'autre sexe en vue de s'accoupler. Elles ont beaucoup été étudiées chez les Lépidoptères, en raison du grand nombre de ravageurs rencontrés dans cet ordre d'insectes. Ce sont généralement les femelles qui produisent les phéromones sexuelles à partir d'une glande, sorte de repli intersegmentaire, située près de l'extrémité de l'abdomen (Weatherson et Percy, 1970). L'évagination de cette glande, typique du comportement d'appel, permet la libération passive de la phéromone dans l'air par simple phénomène d'évaporation.

La première identification d'une phéromone sexuelle remonte à 1959, lorsque Butenandt et ses collaborateurs produisirent des extraits de glande de la femelle de *Bombyx mori* (Butenandt *et al.*, 1959). Peu après, Butenandt et Hecker (1961) la synthétisèrent. Depuis lors, des centaines de phéromones sexuelles ont été isolées et identifiées (Arn *et al.*, 1992). La majorité d'entre elles sont des mélanges complexes formés de deux à trois composés ou plus, dont un seul est dominant en quantité (composé majeur). Ces composés sont généralement des chaînes linéaires d'hydrocarbure relativement courtes (10 à 18 atomes de carbone), qui confèrent à la phéromone son caractère volatil. Ces chaînes peuvent porter une ou plusieurs fonctions (alcool, acétate ou aldéhyde), ainsi qu'une ou deux liaisons doubles dont la position et la géométrie assurent la spécificité du mélange chimique (Tamaki, 1985). Plusieurs des phéromones sexuelles des Lépidoptères sont synthétisées à partir d'acides gras (Jurenka et Roelofs, 1993). Les dernières étapes de la biosyn-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

thèse sont les plus importantes pour la régulation des proportions propres à chacun des composés formant la phéromone sexuelle. Leur proportion exacte s'avère essentielle pour obtenir une attraction maximale ainsi que pour assurer l'isolement reproducteur chez les espèces qui utilisent la même phéromone sexuelle (Klun *et al.*, 1973).

La capacité de recréer la composition de la phéromone émise par la femelle au moyen de produits de synthèse a permis d'utiliser ces substances à des fins de recherche plus appliquées, telles que le dépistage (présence ou absence) et la surveillance des populations d'insectes nuisibles par piégeage, ainsi que leur suppression éventuelle par la capture de masse ou la confusion sexuelle. L'absence de capture dans les pièges à phéromone, ou un nombre de captures inférieur au seuil économique préalablement établi, permet d'éviter des traitements phytosanitaires inutiles. D'un autre côté, les deux méthodes de lutte à base de phéromone sexuelle visent essentiellement à empêcher la reproduction de l'insecte. On a eu tôt fait de réaliser que l'interprétation adéquate des résultats de capture dans les pièges à phéromone, ou celle des résultats découlant des essais de lutte chimique, reposait avant tout sur la connaissance approfondie de la biologie reproductive des espèces concernées. Cela nécessite aussi une bonne compréhension des mécanismes physiologiques et comportementaux sous-jacents à la communication chimique intraspécifique, voire interspécifique. En effet, une plus grande connaissance du système biologique des ravageurs étudiés est essentielle pour réduire les impacts d'une intervention sur les insectes bénéfiques, puisque certains parasitoïdes ou prédateurs peuvent utiliser les phéromones sexuelles de leur hôte ou de leur proie (kairomones) afin de mieux les repérer dans l'habitat.

Ce chapitre traite des principes de base liés à l'utilisation des phéromones sexuelles dans le dépistage et la surveillance des ravageurs, et examine en détail les principaux facteurs physiques et biologiques responsables des succès et des insuccès de la technique de la capture de masse. Nous avons choisi des exemples parmi les ravageurs forestiers, puisqu'aucune revue proprement dite n'a été faite à ce sujet jusqu'à présent. Cependant, les notions discutées ici s'appliquent également à la lutte contre les ravageurs des milieux agricoles. Enfin, les différents principes énoncés dans ce chapitre seront aussi importants pour la mise en œuvre de la stratégie de lutte par confusion sexuelle qui sera traitée au chapitre suivant (*cf.* chapitre 32).

1. Notions d'écologie chimique et d'écophysiologie

La phéromone sexuelle est le plus souvent émise par les femelles en appel et elle est perçue à distance par les mâles qui l'utilisent comme stimulus olfactif pour s'orienter et les localiser. La production tout comme l'émission de la phéromone sexuelle surviennent à des heures particulières du jour ou de la nuit, selon que l'espèce est diurne, crépusculaire ou nocturne. Une fois ces deux rythmes initiés, ils se reproduisent à des intervalles constants d'environ 24 heures (rythmes circadiens),

et ce, pendant plusieurs jours, utilisant le lever ou le coucher du soleil comme signaux photopériodiques d'entraînement (Delisle et McNeil, 1987). L'âge des individus ainsi que les variations journalières ou saisonnières de la photopériode et de la température peuvent cependant entraîner soit des avances soit des retards dans l'heure d'initiation de ces rythmes, ce qui peut en modifier la durée totale (Delisle et Royer, 1994). Ces changements de périodicité sont généralement interprétés comme des adaptations permettant aux femelles d'augmenter leurs chances d'attirer un partenaire sexuel. Les mêmes facteurs abiotiques et biotiques peuvent aussi modifier le moment où les mâles deviennent réceptifs à la phéromone sexuelle (Dumont et McNeil, 1992). Toutefois, la période de réceptivité sexuelle des mâles est généralement plus étendue que celle des femelles (Cardé, 1974), ce qui leur permet de répondre promptement à l'appel des femelles.

La détection des molécules de phéromone par les mâles se fait grâce à des milliers de sensilles, de type trichoïde, qui tapissent la surface de leurs antennes. Chaque sensille renferme les terminaisons dendritiques d'un à trois neurones de réception, chargés de traduire le message chimique en un message nerveux. Les dendrites de ces neurones sensoriels baignent dans un milieu aqueux, la lymphe sensillaire, qui empêche le déplacement des molécules de phéromone, hydrophobes par nature. Pour traverser la lymphe et atteindre les neurones sensoriels, les molécules de phéromone se lient à de petites protéines, les PBP ou *pheromone binding proteins*, qui les fixent alors à des récepteurs spécifiques situés sur les dendrites des neurones sensoriels. Les PBP seraient beaucoup plus que de simples transporteurs, car elles participeraient aussi au filtrage et à la première reconnaissance des composés olfactifs spécifiques (Prestwich *et al.*, 1995). Les corps cellulaires des neurones impliqués dans l'olfaction se concentrent dans le lobe antennaire, situé dans le deutocérébron. Ce lobe se compose de plusieurs glomérules et de quelques macroglomérules ; ces derniers se regroupant, chez les mâles seulement, pour former le complexe macroglomérulaire. En principe, le nombre de macroglomérules refléterait le nombre de composés de la phéromone sexuelle identifiables par l'insecte (Hansson et Anton, 2000). Les axones des neurones de projection quittent le lobe antennaire vers différentes zones du protocérébron, principalement les lobes supérieurs des corps pédonculés et le protocérébron latéral (Hansson et Anton, 2000). L'intégration de l'ensemble de ces stimuli olfactifs, qui se ferait selon toute vraisemblance au niveau des corps pédonculés (Hansson et Anton, 2000), déclenche chez le mâle une série de comportements spécifiques, tels le battement des antennes, l'envol, le vol orienté, caractérisé par un mouvement en zigzag, l'atterrissage et, finalement, l'atteinte de la source de phéromone (Murlis *et al.*, 1992). Pour induire la gamme complète des comportements spécifiques à la réponse des mâles, le mélange intégral de la phéromone est généralement plus efficace que les mélanges partiels (Linn *et al.*, 1986). Toutefois, certains composés de la phéromone, pris individuellement, peuvent avoir un effet inhibiteur (antagoniste) ou être totalement inopérants, n'engendrant, dans ce cas, aucune réponse de la part des mâles (Linn *et al.*, 1984).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Pour localiser la source de phéromone, les mâles ont besoin d'un signal intermittent (Baker *et al.*, 1989), tel qu'il se présente lorsque le panache de phéromone constitué de volutes de phéromone de concentrations variables et de zones d'air pur, se déplace librement dans le milieu ambiant (Murlis *et al.*, 1992). En l'absence de vent, cette structure particulière du panache phéromonal est perdue et les mâles ne sont plus capables de progresser vers la source d'émission. De fortes concentrations de phéromone, ainsi qu'un mélange incorrect des différents composés de la phéromone, peuvent aussi limiter le déplacement du mâle vers la source de phéromone, en provoquant une saturation complète de ses récepteurs antennaires ou une diminution de leur activité (Baker *et al.*, 1989).

Au moment de l'accouplement, les mâles peuvent à leur tour émettre des phéromones sexuelles qui ont pour fonctions de réduire les rivalités entre eux ou de faciliter leur acceptation par la femelle, jouant dans ce cas-ci le rôle de phéromone aphrodisiaque (Royer et McNeil, 1992). Après l'accouplement, les femelles cessent de produire la phéromone et deviennent généralement réfractaires aux avances des mâles. Elles recherchent alors des endroits favorables à la ponte. Cette inhibition postcopulatoire de la production de phéromone, un phénomène appelé phéromonostasie, peut être transitoire ou permanente selon que l'espèce est polyandre ou monandre. Cependant, certaines femelles peuvent redevenir réceptives après l'accouplement, en particulier lorsque la qualité ou la quantité de la semence reçue du mâle s'avèrent insuffisantes. La production de la phéromone sexuelle est contrôlée par une neurohormone, le PBAN ou *pheromone biosynthesis activating neuropeptide*, produite par le ganglion sous-œsophagien et stocké dans les corps cardiaques (CC) (Raina *et al.*, 1991). La stimulation de la glande à phéromone peut se faire, soit directement par le transfert du PBAN dans l'hémolymphe (Raina *et al.*, 1991), soit indirectement par l'action d'un neurotransmetteur, tel l'octopamine (Christensen *et al.*, 1991). Chez les espèces migratrices, l'hormone juvénile des corps allates est requise pour libérer le PBAN des CC et stimuler la production de phéromone (Cusson et McNeil, 1989). Quant à la phéromonostasie, sa régulation peut se faire par voie hormonale (Webster et Cardé, 1984) ou nerveuse (Giebultowicz *et al.*, 1991), l'une n'excluant pas l'autre (Delisle *et al.*, 2000).

2. *Leurres et pièges sexuels*

L'avènement de la chromatographie en phase gazeuse et de la spectrométrie de masse a rendu plus facile l'identification des phéromones sexuelles, et par contrecoup, favorisé leur synthèse, contribuant ainsi à leur essor en tant que moyens de dépistage et de surveillance des populations d'insectes nuisibles (Grant, 1991). Évidemment, la mise en place d'un réseau de dépistage exige au préalable une certaine uniformisation quant à la nature du support qui servira à la diffusion de la phéromone de synthèse, et au type de piège qui sera utilisé pour capturer les insectes ; l'objectif de cette opération étant de piéger seulement les mâles de l'espèce ciblée.

En conditions naturelles, le pouvoir attractif d'une phéromone sexuelle se mesure en comparant le nombre d'insectes capturés avec différents mélanges à une concen-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

tration fixe ou avec différentes concentrations d'un même mélange. Les premiers tests d'efficacité de piégeage visent généralement à comparer des mélanges binaires dans des proportions différentes, afin de déterminer celui qui permettra de maximiser les captures de mâles de l'espèce recherchée et ce, même si celle-ci cohabite avec d'autres espèces qui utilisent les mêmes composés mais dans des proportions totalement différentes (Klun *et al.*, 1973). Cependant, l'addition d'un troisième composé peut parfois s'avérer nécessaire pour augmenter la spécificité du mélange.

De façon générale, il est préférable d'utiliser le mélange le plus simple possible, non seulement en raison de son moindre coût de production, mais aussi parce que l'addition de composés mineurs n'engendre pas nécessairement un accroissement du pouvoir attractif du mélange envers l'espèce ciblée, ni de son pouvoir discriminant envers les espèces sympatriques.

Parmi les espèces sympatriques, certaines sont attirées non seulement par les mêmes composés phéromonaux, mais aussi par les mêmes proportions de ces composés, si bien que seule la concentration ou le taux de phéromone émis par la femelle en appel permettra d'assurer leur isolement reproducteur (Kaae *et al.*, 1973). Il est donc important de tester différentes concentrations du mélange phéromonal afin de déterminer celle qui permettra d'en augmenter la spécificité.

Dans la plupart des cas, les captures dans les pièges augmentent proportionnellement à la dose de phéromone utilisée. Cependant, au-delà d'une certaine dose, le nombre de captures cesse d'augmenter et peut même décroître. Cette diminution progressive de l'efficacité des pièges à la suite de l'augmentation des concentrations de phéromone est généralement attribuable à la saturation des récepteurs antennaires chez le mâle, ce qui les empêche d'atteindre la source de phéromone (Baker *et al.*, 1989). La zone d'efficacité d'un leurre ou d'un piège sexuel est aussi appelée à varier en forme et en étendue, en fonction de la concentration de phéromone ou encore en fonction de la direction ou de la vitesse à laquelle le vent entraînera dans son sillage le panache de phéromone.

La concentration de phéromone requise pour provoquer une réponse maximale des mâles dans les pièges varie suivant le type de mélange utilisé. Par exemple, lorsque la composition de la phéromone de synthèse n'est pas identique à celle de la phéromone naturelle, il est parfois nécessaire d'en augmenter la dose pour optimiser les captures (« *threshold hypothesis* » ; Roelofs, 1978).

Des capsules de caoutchouc ou des plaquettes de polyvinyle ou de polyéthylène sont normalement utilisées pour assurer la diffusion des phéromones de synthèse dans le milieu ambiant. Ces diffuseurs sont conçus de manière à protéger la phéromone contre la dégradation causée par la lumière, l'oxygène ou par l'eau. De plus, ils visent à assurer une émission constante et contrôlée de la phéromone et ce, tout au long de la période d'activité de l'insecte qui peut parfois s'étendre sur plusieurs mois. Idéalement, la vitesse à laquelle les diffuseurs relâchent la phéromone de synthèse ne devrait pas être affectée outre mesure par la température, l'humidité, la lumière ou la végétation. Bien que les diffuseurs utilisés de nos jours soient de meilleure qualité, d'autres ajustements devront éventuellement y être apportés pour

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

que le taux d'émission de la phéromone de synthèse soit totalement indépendant des conditions ambiantes.

Les pièges à phéromone sont de conception simple et ils sont aussi relativement peu coûteux. Il en existe plusieurs modèles de formes différentes et faits à base de différents matériaux (Cardé et Elkinton, 1984). Il est reconnu que l'architecture du piège influence sa capacité à retenir les mâles attirés et c'est pourquoi une bonne connaissance de leurs comportements d'approche et d'atterrissage permet généralement de choisir le type de piège qui conviendra le mieux, et que l'on pourra modifier au besoin pour le rendre plus efficace (Knight *et al.*, 2002). Le piège a aussi pour fonction de protéger les diffuseurs contre les rayons directs du soleil ou de la pluie, permettant ainsi de conserver l'intégrité de la phéromone de synthèse, normalement suspendue au centre du piège. Chez certaines espèces, la couleur du piège constitue un autre élément pouvant influencer son efficacité (Lopez, 1998).

Les pièges les plus couramment utilisés sont le piège collant (englué), dont la capacité de capture se limite à la surface engluée, et le piège à grand volume. Les pièges collants sont peu coûteux et faciles à déployer. Cependant, la surface engluée se sature rapidement d'insectes lorsque les populations sont denses. Une fois la saturation atteinte, le nombre de captures n'est plus représentatif de la variation réelle de la densité de population. Des visites plus fréquentes et le remplacement des surfaces engluées permettent de résoudre ces problèmes. Les pièges à grand volume sont munis d'un récipient contenant un insecticide et dans lequel se concentrent les vapeurs toxiques, provoquant ainsi la mort des insectes qui s'accumulent au fond du piège. Contrairement aux pièges collants, les pièges à grand volume ou pièges-récipients ne se saturent pas, mais ils sont plus onéreux bien qu'ils soient réutilisables. Toutefois, les émanations qui se dégagent des insectes morts, en se concentrant dans le récipient, peuvent exercer un effet répulsif sur l'attraction des mâles et ainsi diminuer l'efficacité du piège. Dans l'ensemble, le calibrage de ces pièges, utilisés comme indicateurs des densités de populations de ravageurs, s'est avéré plus complexe que prévu.

L'emplacement des pièges dans la zone d'étude peut également influencer leur efficacité. Par exemple, les pièges installés en bordure du site, pour le dépistage ou la surveillance, ont plutôt tendance à surestimer les effectifs (plus de captures) comparativement à ceux situés à l'intérieur même du site. Par contre, des pièges placés à l'intérieur d'une culture ou d'un site arboré seront d'une pertinence relative pour estimer les risques d'une invasion ou pour en évaluer le niveau. Les adultes de l'espèce recherchée peuvent en effet s'accoupler à l'extérieur de l'habitat constitué par leurs plantes-hôtes, et il est important de bien connaître l'écologie du comportement des ravageurs (Wickman et Rutowski, 1999). Mentionnons aussi qu'avant de mettre en place un réseau de dépistage ou de surveillance, il serait important de déterminer la hauteur optimale des pièges, bien que celle-ci soit le plus souvent fonction de la position de l'insecte sur sa plante-hôte (De Groot et DeBarr, 1998). Enfin, le déploiement des pièges à phéromone devrait se faire bien avant le début de la période d'activité des adultes, de façon à mieux suivre l'évolution saisonnière des différentes étapes de la reproduction chez l'espèce étudiée.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

3. *Dépistage et surveillance*

Deux contraintes limitent le dépistage et la surveillance des ravageurs sur de vastes territoires : le coût et le temps. Traditionnellement, ces deux opérations se font au moyen d'un échantillonnage systématique des plantes, suivi du décompte des insectes à un stade de développement préalablement déterminé. En foresterie, la possibilité de remplacer l'échantillonnage systématique et fastidieux des arbres par l'installation de quelques pièges à phéromone peut représenter une économie substantielle au niveau du temps normalement consacré au dépistage et à la surveillance. Cette technique permet aussi d'augmenter la superficie des territoires couverts dans la même période de temps et ce, à un moindre coût ou à un coût équivalent à celui de la méthode traditionnelle d'échantillonnage.

Le dépistage des insectes au moyen de pièges à phéromone est relativement simple, une fois résolues les considérations techniques liées à la composition et à la concentration du mélange phéromonal, au type de diffuseur, ainsi qu'au type de piège et à son emplacement dans la zone d'étude. Le but du dépistage est avant tout de déterminer si l'insecte est présent dans le milieu. Grâce à la puissance et à la longue portée des attractifs sexuels, il est aussi possible de détecter la présence des ravageurs à très faible densité, plus tôt en saison et plus efficacement qu'avec les méthodes traditionnelles d'échantillonnage. De plus, les pièges à phéromone sont des outils relativement fiables pour étudier la répartition géographique des populations d'insectes indigènes ou introduits. Enfin, grâce à des modèles mathématiques basés sur les temps de développement en fonction de la température, les pièges à phéromone permettent de prévoir l'apparition des premières pontes et des premières éclosions et, par conséquent, de mieux déterminer, le cas échéant, les dates d'interventions phytosanitaires.

Pour remplir leur rôle de surveillance des populations d'insectes, les pièges à phéromone doivent permettre de déterminer si les densités d'insectes dépassent le seuil économiquement acceptable et si tel est le cas, de prévoir quand une intervention phytosanitaire est nécessaire. Contrairement au dépistage, la surveillance demande une plus grande connaissance de la dynamique des populations des ravageurs. En effet, la surveillance vise d'une part, à établir une relation entre le nombre de mâles capturés et le nombre d'individus qui seront présents à la génération suivante et, d'autre part, à déterminer l'ampleur des dommages que la prochaine génération de larves serait susceptible de causer aux plantes-hôtes. Ces relations se sont avérées plus difficiles à établir que prévu, car elles ne sont pas toujours constantes d'un endroit à l'autre ou d'une saison à l'autre pour une espèce donnée. De plus, ces relations présupposent que le nombre de mâles capturés représente une estimation fiable du nombre de femelles qui contribuera à la production de la génération ultérieure. En conséquence, les populations de femelles ne doivent pas être exposées à une forte mortalité avant d'avoir pu se reproduire et le ratio entre les mâles et les femelles dans les populations du ravageur doit demeurer stable d'une génération à l'autre.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Les mâles représentent la moitié de la population dans la plupart des populations d'insectes échantillonnées au moyen de pièges à phéromone. Cette observation est conforme aux prévisions du modèle évolutif proposé par Fisher (1930). Parmi les ravageurs forestiers, on trouve des Hyménoptères, appartenant au sous-ordre des symphytes qui regroupe, entre autres, les tenthrèdes et les diprions. Ces insectes se caractérisent par un mode de reproduction de type arrhénotoque (haplo-diploïde), c'est-à-dire que les femelles sont issues d'œufs fertilisés alors que les mâles se développent à partir d'œufs non fertilisés. Les femelles arrhénotoques ont donc la capacité de déterminer le sexe de leur progéniture au moment de la ponte, en inséminant ou non leurs œufs, et d'exercer par le fait même un certain contrôle sur la composition en mâles et en femelles de la génération suivante. On constate que ces espèces présentent souvent un déséquilibre en faveur des femelles (Hamilton, 1967), ainsi que des ratios mâles/femelles qui varient d'une population à l'autre ou d'une année à l'autre (Godfray, 1993).

Les facteurs pouvant influencer le ratio entre les mâles et les femelles chez les espèces arrhénotoques se divisent principalement en quatre catégories : les attributs des parents, l'environnement, les plantes-hôtes et tous les facteurs liés à la compétition entre les sexes (Godfray, 1993). De façon générale, les femelles de ces espèces produisent proportionnellement plus de femelles que de mâles lorsque les conditions de l'environnement sont favorables, et inversement lorsque les conditions de l'environnement se dégradent (Godfray, 1993). Les diprions et les tenthrèdes ne font pas exceptions à la règle (Craig et Mopper, 1993). Il convient toutefois de préciser que les variations du ratio mâles/femelles ont rarement été étudiées. On a toutefois observé une augmentation de la proportion des mâles dans les populations d'*Euura lasiolepis*, une espèce de tenthrède, quand la qualité de sa plante-hôte diminue (Craig *et al.*, 1992). Un changement similaire s'est aussi produit chez le diprion du sapin (*Neodiprion abietis*), avec l'augmentation de la densité de l'insecte. Avec ce diprion, le ratio mâles/femelles a atteint une proportion fishérienne (50:50) quand les populations atteignirent leur apogée (L. Royer, données non-publiées). Cette dernière observation pourrait donc expliquer les faibles corrélations obtenues entre les captures de mâles dans les pièges à phéromone et la densité subséquente des larves ; cette corrélation n'était significative qu'à haute densité seulement (Lyytikäinen-Saarenmaa *et al.*, 1999).

Tout indique que, chez les espèces arrhénotoques, les pièges à phéromone seront de mauvais outils de surveillance, puisque le nombre de mâles capturés fournira une bonne estimation du nombre de femelles seulement lorsque le ratio mâles/femelles se rapprochera de l'unité. Ceci se produit lorsque les densités de populations approchent des valeurs maximales mais il est alors trop tard pour empêcher d'importantes défoliations. En revanche, les pièges à phéromone ont toujours leur utilité pour le dépistage et le suivi des changements de répartition géographique de ces espèces.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

4. *Capture de masse*

La capture de masse consiste à déployer plusieurs pièges à phéromone dans le but de capturer le plus grand nombre possible de mâles avant que les femelles n'apparaissent sur le terrain, afin d'empêcher la reproduction et, par conséquent, réduire la densité de la population de la génération suivante.

La capture de masse a été la première méthode à promouvoir l'utilisation des phéromones sexuelles comme moyen de lutte, mais très peu d'exemples ont été rapportés dans la littérature chez les espèces des milieux forestiers (tableau 1). Il se pourrait que plusieurs des essais réalisés n'aient pas réussi à contrer la reproduction de ces espèces et que, par conséquent, ces résultats négatifs n'aient pas fait l'objet de publications. Si c'est effectivement le cas, il serait intéressant de connaître les facteurs responsables des insuccès rencontrés avec cette méthode de lutte. C'est ce que nous nous proposons d'examiner dans cette section du chapitre.

4.1. Polygynie, polyandrie, qualité des mâles

Un élément susceptible de compromettre l'efficacité de la capture de masse comme moyen de lutte est la capacité d'accouplement des mâles. Considérons le cas d'une espèce dont les mâles ne peuvent s'accoupler qu'une seule fois dans leur vie (monogynie) et les femelles vierges ne produisent pas d'œufs viables (ce qui est généralement le cas chez la majorité des insectes, à l'exception des espèces arrhénotoques). Dans ce cas, chaque capture d'un mâle dans les pièges à phéromone aura pour conséquence une diminution équivalente du nombre de femelles qui contribuera à la génération suivante, et une réduction proportionnelle de la densité de population du ravageur. *A contrario*, les mâles de plusieurs espèces peuvent s'accoupler plus d'une fois au cours de leur vie (polygynie) (Drummond, 1984). Dans le cas où les mâles seraient capables de s'accoupler avec quatre femelles, en moyenne, au cours de leur vie, une diminution de 75 % des mâles de la population ne suffirait pas à réduire le succès d'accouplement des femelles. En effet, toutes les femelles de cette population trouveraient un mâle pour l'accouplement parmi les 25 % restants. En conséquence, chez les espèces polygynes, le nombre de mâles échappant aux pièges à phéromone est en général suffisamment élevé pour fertiliser toutes les femelles de la population. Bien que les mâles soient capables de s'accoupler plusieurs fois, leur quantité de semence n'est pas pour autant inépuisable mais décroît plutôt à chacun des accouplements successifs. Cette baisse du pouvoir fécondant du mâle peut se traduire chez la femelle par une diminution de sa fécondité ou de sa fertilité (Wedell *et al.*, 2002). À la suite de l'élimination d'un nombre important de mâles par la capture de masse, cet effet indirect de la polygynie pourrait contribuer à abaisser les niveaux de populations, mais probablement pas assez pour les amener sous le seuil économique.

La protandrie (les mâles apparaissant avant les femelles) a souvent été considérée comme une condition favorable à la capture de masse, car plus les mâles devancent

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau 1 ■ Espèces forestières chez lesquelles la capture de masse a été testée (*toutes ces espèces sont des Lépidoptères défoliateurs*).

Espèces	Familles	Arbres-hôtes	Lieu de l'étude	Références
Lymantria dispar Spongieuse	*Lymantriidae*	*Quercus spp.*	États-Unis	Webb, 1982
Lymantria obfuscata Spongieuse indienne	*Lymantriidae*	*Populus, Salix, Malus spp.*	Inde	Masoodi *et al.*, 1990
Paranthrene tabaniformis Petite sésie du peuplier	*Sesiidae*	*Populus euramericana*	Pays-Bas	Moraal *et al.*, 1993
Cydia trasias Tordeuse de Chine	*Tortricidae*	*Sophora japonica*	Chine	Zhang *et al.*, 2002
Thaumetopoea pityocampa Processionnaire du pin	*Thaumetopoeidae*	*Pinus sylvestris, Pinus nigra*	Italie	Nicolini, 1987

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

les femelles dans le temps d'émergence, plus la probabilité de capturer ces mâles vierges augmente. Par exemple, chez la spongieuse (*Lymantria dispar*), le pic d'apparition des mâles précède celui des femelles d'environ un à deux jours (Webb, 1982), comme c'est aussi le cas chez de nombreuses espèces de Lépidoptères. Cependant, est-ce pour autant une différence suffisamment importante pour garantir le succès de la lutte par la capture de masse? Selon un modèle de simulation visant à expliquer le maintien de la protandrie au sein des populations de l'arpenteuse du pin (*Bupalus piniarus*), Botterweg (1982) conclut que la capture d'un très grand nombre de mâles précoces ne devrait pas empêcher la reproduction de l'espèce et encore moins réduire les effectifs.

Par ailleurs, les mâles protandres ont besoin, au stade adulte, d'une période de temps pour atteindre leur pleine maturité et réceptivité sexuelles (Dumont et McNeil, 1992) et pouvoir féconder les femelles dès qu'elles font leur apparition. Celles-ci sont généralement réceptives dans les heures qui suivent leur émergence (Delisle et Royer, 1994). Donc, ce n'est pas parce que les mâles sont protandres qu'ils seront pour autant capables de répondre en très grand nombre, dès leur émergence, aux phéromones de synthèse émanant des pièges.

La difficulté de réduire la densité des populations par la méthode de capture de masse pourrait être en partie attribuable à la faible « qualité » des mâles qui sont piégés : individus rejetés par les femelles en raison de leur faible compétitivité sexuelle, ou individus moins habiles pour repérer les femelles réceptives dans l'habitat, faute de capacités olfactive ou locomotrice bien développées.

4.2. Densité de population, isolement des sites et leur grande étendue

Le succès de la capture de masse dépend autant des contraintes biologiques et comportementales que des contraintes écologiques, tels la densité de la population et le degré de protection que confèrent l'isolement des sites et leur grande étendue contre d'éventuelles invasions de femelles gravides. Quelle que soit la méthode de lutte utilisée, il est toujours plus facile de contrôler les insectes lorsque les populations sont à basse densité. La capture de masse n'échappe pas à cette règle, comme semblent le suggérer les essais réalisés chez *L. dispar* (Webb *et al.*, 1990) et *L. obfuscata* (Masoodi *et al.*, 1990) (tableau 1). Cependant, la prudence s'impose dans ce constat, puisqu'aucune de ces études n'a vraiment testé de façon systématique l'effet de la capture de masse en comparant simultanément des populations de densités différentes.

L'isolement des territoires, ou leur vaste étendue, semblent être deux conditions favorables au succès de la capture de masse : ces facteurs (isolement, immensité) réduisent la probabilité que ces sites soient envahis par des femelles immigrantes déjà fécondées ou qui le seront éventuellement. Cette constatation repose le plus souvent sur des preuves indirectes. Par exemple, en Chine, sur des territoires supérieurs à 200 000 ha, il a été possible de réduire les populations de la tenthrède *Paranthrene tabaniformis* par la capture de masse, alors que ce ne fut pas le cas aux Pays-Bas, où Moraal *et al.* (1993) ont mis en avant la petitesse des plantations

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

(inférieures à 5 ha) comme cause principale. Le fait de piéger sur de grandes superficies serait une façon d'augmenter le succès de la capture de masse. Mais cette approche peut être aussi la source de contraintes d'ordres physique et monétaire.

Comme les territoires forestiers, sujets aux épidémies d'insectes, sont généralement très vastes, le piégeage de masse peut exiger un nombre exorbitant de pièges à phéromone. De plus, l'installation de ces pièges dans la partie haute des arbres pour maximiser les captures et leur nettoyage régulier au cours de la saison contribuent à rendre ces opérations non seulement fastidieuses, mais aussi onéreuses en matériel et en main-d'œuvre.

4.3. Densité des pièges, interférence et compétition inter-piège

La détermination de la zone d'efficacité des pièges est considérée comme un élément critique dans la stratégie de la capture de masse, car elle permet de déterminer la distance maximale à laquelle les pièges doivent être placés les uns par rapport aux autres, de façon à éviter tout espace exempt de phéromone dans le site de piégeage.

La distance séparant les pièges se révèle aussi être une importante source d'interférence ou de compétition. L'interférence entre les pièges survient principalement lorsque la zone d'efficacité d'un piège A chevauche presque entièrement celle d'un piège B, de telle sorte que le piège A voit son efficacité d'attraction augmenter considérablement. Cette situation s'observe lorsque les pièges sont alignés dans le sens du vent, ce qui fait que ceux placés en aval captureront plus de mâles que ceux en amont. À l'inverse, la compétition entre les pièges survient lorsque les zones d'efficacité sont toutes de mêmes tailles et que la probabilité de capturer est similaire d'un piège à l'autre ; cette situation résulte des pièges disposés perpendiculairement à la direction du vent.

Chez la spongieuse, des tests visant à comparer différentes densités de pièges par unité de surface, suivant une disposition en grille, montrent que le nombre de mâles capturés à l'hectare augmente à mesure que la distance entre les pièges diminue. Cette observation confirme la nécessité de recourir à un très grand nombre de pièges pour que la capture de masse soit un franc succès. Cette situation est cependant totalement irréaliste et impraticable en raison de ses coûts prohibitifs (Spaic, 1978, cité par Webb, 1982).

Enfin, une multiplication du nombre de pièges à phéromone par unité de surface pourrait résulter en un chevauchement de leurs zones d'efficacité et ainsi engendrer une concentration suffisante pour provoquer la désorientation olfactive des mâles. Cette approche est à la base de la stratégie de lutte par confusion sexuelle (*cf.* chapitre 32). Cependant, cette dernière stratégie ne requiert pas l'installation de pièges à phéromone, ce qui rend sa pratique plus abordable sur le plan pécuniaire.

4.4. Un exemple de réussite : le cas de la tordeuse de Chine

Les récents travaux réalisés chez la tordeuse de Chine (*Cydia trasias*) reste le cas le plus spectaculaire de réussite dans le domaine de la capture de masse (Zhang

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

et al., 2002). La capacité de *C. trasias* à produire deux à trois générations par année en fait un ravageur redoutable pour une espèce d'arbre ornemental des zones urbaines de Pékin, le *Sophora japonica*, et potentiellement pour une autre, le *Maackia amurensi*, rencontrée exclusivement au Japon. Non seulement ces auteurs ont démontré que les captures importantes de mâles pouvaient réduire l'incidence des accouplements de plus de 65 % au cours des deux premières générations, mais ils ont constaté que les dommages causés par les trois générations de larves étaient aussi réduits d'environ 70 %. Le succès de la lutte au moyen de la capture de masse chez *C. trasias* est fondamentalement lié à trois aspects : le caractère monogame de l'espèce, la faible densité des populations testées et la protection que confère le milieu urbain contre d'éventuelles invasions de femelles accouplées.

4.5. Impact des pièges à phéromone sur la dynamique de la faune auxiliaire

L'utilisation d'un très grand nombre de pièges à phéromone peut avoir un impact sur la faune auxiliaire inféodée aux ravageurs ciblés, en particulier lorsque certains de ces ennemis naturels recourent à la phéromone de leur hôte ou de leur proie pour mieux les repérer dans l'habitat (Arakaki *et al.*, 1997). En voulant diminuer les populations de ravageurs par la capture de masse, on risque d'éliminer un grand nombre d'ennemis naturels attirés par les phéromones sexuelles. Cependant, une bonne connaissance du cycle saisonnier d'émergence du ravageur et de ses ennemis naturels aide à minimiser l'impact négatif de cette méthode de lutte sur la faune auxiliaire. En effet, lorsque l'émergence n'est pas parfaitement synchronisée entre ces divers organismes, il devient alors possible de maximiser la capture du ravageur et de minimiser celle des ennemis naturels en retardant la mise en place des pièges ou en les retirant plus tôt au cours de la saison (Aukema *et al.*, 2000).

Conclusion

Les pièges à phéromone, en raison de la très grande sensibilité de leur attractif sexuel, constituent l'un des outils les plus fiables pour échantillonner les populations d'insectes à faible densité, et ce plus efficacement que les méthodes plus conventionnelles d'échantillonnage. Grâce à la spécificité des phéromones sexuelles, le dénombrement des captures dans les pièges n'exige pas une connaissance exhaustive de la taxinomie des insectes, faisant de ces pièges des outils à la portée de tous. Par ailleurs, la longue portée d'attraction de la phéromone sexuelle permet de réduire, comparativement aux méthodes conventionnelles, le nombre de points d'échantillonnage, ce qui représente une économie substantielle de temps et d'argent, surtout lorsque les territoires à couvrir sont vastes, comme c'est souvent le cas en milieux forestiers. L'interprétation des résultats de captures obtenues dans les pièges à phéromone peut aussi aider à suivre de plus près les changements dans la distribution spatiale et temporelle des insectes introduits ou indigènes. Par exemple, les pièges à phéromone peuvent jouer un rôle capital dans l'évaluation

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

de l'impact des changements climatiques ou encore aider au développement de nouvelles stratégies visant à stopper les invasions de papillons (Sharov *et al.*, 2002).

La possibilité d'utiliser les phéromones sexuelles dans la lutte contre les ravageurs a certainement contribué à l'avancement des connaissances en écologie chimique. Une meilleure compréhension des facteurs écologiques impliqués dans ce mode de communication chimique a permis, à son tour, d'établir des réseaux fiables de surveillance à base de pièges à phéromone. Ces pièges sont aussi d'excellents outils pour suivre l'évolution saisonnière des différentes étapes de la reproduction chez les ravageurs ciblés, permettant non seulement de mieux synchroniser les interventions phytosanitaires, mais aussi de déterminer si elles sont vraiment nécessaires. En effet, chez plusieurs ravageurs, les pièges à phéromone ont contribué à réduire substantiellement le nombre de pulvérisations pratiquées au cours de la saison.

L'efficacité des pièges à phéromone a aussi été à l'origine de la technique de capture de masse, visant à diminuer l'incidence des accouplements en capturant le plus grand nombre possible de mâles, dans l'espoir de réduire de manière conséquente la densité du ravageur. Bien que la capture de masse soit relativement sans incidence pour l'environnement en raison de la spécificité des phéromones sexuelles, notre chapitre montre qu'elle est une approche laborieuse, onéreuse et dont l'efficacité à contrôler les populations d'insectes est très limitée. Ce n'est pas très surprenant si l'on considère que l'élimination d'un très grand nombre de mâles ne signifie pas que les femelles sauvages ne seront pas fécondées. Surtout, si les mâles qui échappent à la capture sont ceux que les femelles préfèrent comme géniteurs et s'ils sont capables de s'accoupler plus d'une fois dans leur vie. Cependant, cette méthode de lutte est efficace dans certaines conditions, en particulier, lorsque l'espèce visée est monogame, en faible densité et exploite un habitat relativement isolé, tels les plantations, les vergers à graines ou les espaces urbains. Cependant, étant donné qu'en milieu urbain la protection des arbres est prioritairement liée à leur valeur esthétique, la présence de pièges suspendus aux branches de plusieurs arbres ne semble pas être la méthode la plus souhaitable pour la suppression des ravageurs, ce qui peut expliquer, dans pareils cas, le passage à une méthode de lutte plus discrète comme la confusion sexuelle.

Références bibliographiques

Arakaki N., Wakamura S., Yasuda T., Yamagishi K. (1997). Two regional strains of a phoretic egg parasitoid, *Telenomus euproctidis* (*Hymenoptera: Scelionidae*), that use different sex pheromones of two allopatric tussock moth species as kairomones. *J Chem Ecol*, **23** : 153-161.

Arn H., Tòth M., Priesner E. (1992). *List of sex pheromones of Lepidoptera and related attractants.* 2e édition. Organisation Internationale de lutte biologique, Monfavet, France.

Aukema B.H., Dahlsten D.L., Raffa K.F. (2000). Exploiting behavioral disparities among predators and prey to selectively remove pests: Maximizing the ratio of bark beetles to predators removed during semiochemically based trap-out. *Environ Entomol*, **29** : 651-660.

Baker T.C., Hansson B.S., Löfstedt C., Löfqvist J. (1989). Adaptation of antennal neurons in moths is associated with cessation of pheromone-mediated upwind flight. *Proc Natl Acad Sci USA*, **85** : 9826-9830.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Botterweg P.F. (1982). Protandry in the pine looper, *Bupalus piniarius* (*Lep , Geometridae*): An explanatory model. *Neth J Zool*, **32** : 169-193.

Butenandt A., Beckmann R., Stamm D., Hecker E. (1959). Über den Sexuallockstoff des Seidenspinners *Bombyx mori*. Reindarstellung und Konstitutionsermittlung. *Z Naturforsch B*, **14** : 283-284.

Butenandt A., Hecker E. (1961). Synthèse des Bombykols, des Sexual-Lockstoffes, des Seidenspinners, und seiner geometrischen Isomeren. *Angew Chem*, **73** : 349-353.

Cardé R.T. (1974). Diel periodicities of female calling and male pheromone attraction in *Holomelina aurantiaca* (*Lepidoptera: Arctiidae*). *Can Entomol*, **106** : 933-934.

Cardé R.T., Elkinton J.S. (1984). Field trapping with attractants: Methods and interpretation. *In* Hummel H.E., Miller T.A., *Techniques in pheromone research*. Springer, New York, 111-129.

Christensen T.A., Itagaki H., Teal P.E.A., Jasensky R.D., Tumlinson J.H., Hildebrand J.G. (1991). Innervation and neural regulation of the sex pheromone gland in female heliothis moths. *Proc Natl Acad Sci* USA, **88** : 4971-4975.

Craig T.P., Price P.W., Itami J.K. (1992). Facultative sex ratio shifts by an herbivorous insect in response to variation in host plant quality. *Oecologia*, **92** : 153-161.

Craig T.P., Mopper S. (1993). Sex ratio variation in sawflies. *In* Wagner M.R., Raffa K.F., *Sawfly Life History Adaptations to Woody Plants*. Academic Press Inc., New York, 61-92.

Cusson M., McNeil J.N. (1989). Involvement of juvenile hormone in the regulation of pheromone release activities in a moth. *Science*, **243** : 210-212.

De Groot P., DeBarr G.L. (1998). Factors affecting capture of the white pine cone beetle, *Conophthorus coniperda* (Schwarz) (*Col., Scolytidae*) in pheromone traps. *J Appl Entomol*, **122** : 281-286.

Delisle J., McNeil J.N. (1987). Calling behaviour and pheromone titer of the true armyworm, *Pseudaletia unipuncta* (Haw.) (*Lepidoptera: Noctuidae*) under different temperature and photoperiodic conditions. *J Insect Physiol*, **33** : 315-324.

Delisle J., Royer L. (1994). Changes in pheromone titre of obliquebanded leafroller, *Choristoneura rosaceana*, virgin females as a function of time of day, age, and temperature. *J Chem Ecol*, **20** : 45-69.

Delisle J., Picimbon J.F., Simard J. (2000). Regulation of pheromone inhibition in mated females of *Choristoneura fumiferana* and *C. rosaceana*. *J Insect Physiol*, **46** : 913-921.

Drummond B.A. III (1984). Multiple mating and sperm competition in the Lepidoptera. *In* Smith R.L., *Sperm Competition and the Evolution of Animal Mating Systems*. Academic Press, London, 291-370.

Dumont S., McNeil J.N. (1992). Responsiveness of *Pseudaletia unipuncta* (*Lepidoptera: Noctuidae*) males, maintained as adults under different temperature and photoperiodic conditions, to female sex pheromone. *J Chem Ecol*, **18** : 1797-1807.

Fisher R.A. (1930). *The Genetic Theory of Natural Selection*. Clarendon Press, Oxford.

Giebultowicz J.M., Raina A.K., Uebel E.C., Ridgway R.L. (1991). Two-step regulation of sex-pheromone decline in mated gypsy moth females. *Arch Insect Biochem Physiol*, **16** : 95-105.

Grant G.G. (1991). Development and use of pheromones for monitoring lepidopteran forest defoliators in North America. *Forest Ecol Manag*, **39** : 153-162.

Godfray H.C.J. (1993). *Parasitoids: Behavioral and evolutionary ecology*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, 151-212.

Hamilton W.D. (1967). Extraordinary sex ratios. *Science*, **156** : 477-488.

Hansson B.S., Anton S. (2000). Function and morphology of the antennal lobe: New developments. *Annu Rev Entomol*, **45** : 203-231.

Jurenka R.A., Roelofs W.L. (1993). Biosynthesis and endocrine regulation of fatty acid derived sex pheromones in moths. *In* Stanley-Samuelson D.W., Nelson D.R. *Insect Lipids: Chemistry, Biochemistry and Biology*. University of Nebraska Press, Lincoln, 353-388.

Kaae R.S., Shorey H.H., Gaston L.K. (1973). Pheromone concentrations as a mechanism for reproductive isolation between two lepidopterous species. *Science*, **179** : 487-488.

Klun J.A., Chapman O.L., Mattes K.C., Wojtkowski P.W., Beroza M., Sonnet P.E. (1973). Insect sex pheromones: Minor amount of opposite geometrical isomer critical to attraction. *Science*, **181** : 661-663.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Knight A.L., Larson D., Christianson B. (2002). Flight tunnel and field evaluations of sticky traps for monitoring codling moth (*Lepidoptera. Tortricidae*) in sex pheromone-treated orchards. *J Entomol Soc British Columbia*, **99** : 107-116.

Linn C.E., Bjostad L.B., Du J.W., Roelofs W.L. (1984). Redundancy in a chemical signal: Behavioral responses of male *Trichoplusia ni* to a 6-component sex pheromone blend. *J Chem Ecol*, **10** : 1635-1658.

Linn C.E., Campbell M.G., Roelofs W.L. (1986). Male moth sensitivity to multicomponent pheromones: critical role of female-released blend in determining the functional role of components and active space of the pheromone. *J Chem Ecol*, **12** : 659-668.

Lopez J.D. (1998). Evaluation of some commercially available trap designs and sex pheromone lures for *Spodoptera exigua* (*Lepidoptera: Noctuidae*). *J Econ Entomol*, **91** : 517-521.

Lyytikäinen-Saarenmaa P., Anderbrant O., Lofqvist J., Hedenstrom E., Hogberg H.E. (1999). Monitoring European pine sawfly population densities with pheromone traps in young pine plantations. *Forest Ecol Manag*, **124** : 113-121.

Masoodi M.A., Trali A.R., Bhat A.M. (1990). Suppression *of Lymantria obfuscata* Walker by sex pheromone trapping of males. *Indian J Entomol*, **52** : 414-417.

Moraal L.G., van der Kraan C., van der Voet H. (1993). Studies on the efficacy of the sex attractant of *Paranthrene tabaniformis* Rott. (*Lep., Sesiidae*). *J Appl Entomol*, **116** : 364-370.

Murlis J., Elkinton J.S., Cardé R.T. (1992). Odor plumes and how insects use them. *Annu Rev Entomol*, **37** : 505-532.

Nicolini G. (1987). Biology of the pine processionary caterpillar in Trentino, Italy. Control with traditional methods and with synthetic sexual attractants. *Dendronatura*, **8** : 8-49.

Prestwich G.D., Du G., LaForest S. (1995). How is pheromone specificity encoded in proteins? *Chem Senses*, **20** : 461-469.

Raina A.K., Kempe T.G., Jaffe H. (1991). Pheromone biosynthesis-activating neuropeptide, regulation of pheromone production in moths. *In* Menn J.J., Kelly T.J., Masler E.P., *Insect Neuropeptides: Chemistry, Biology and Action*. American Chemical Society, Washington, D.C., 100-109.

Roelofs W.L. (1978). Threshold hypothesis for pheromone perception. *J Chem Ecol*, **4** : 685-699.

Royer L., McNeil J.N. (1992). Evidence of a male sex pheromone in the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Hubner) (*Lepidoptera· Pyralidae*). *Can Entomol*, **124** : 113-116.

Sharov A.A., Leonard D., Liebhold A.M., Roberts E.A., Dickerson W. (2002). A national program to slow the spread of the gypsy moth. *J Forest*, **100** : 30-35.

Tamaki Y. (1985). Sex pheromones. *In* Kerkut G.A., Gilbert L.I., *Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology*. Pergamon Press, Oxford, 145-191.

Weatherston J., Percy J.E. (1970). Studies on physiologically active arthropod secretions. IV. Topography of the sex pheromone producing gland of the eastern spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (*Lepidoptera: Tortricidae*). *Can J Zool*, **48** : 569-571.

Webb R.E. (1982). Mass trapping of the gypsy moth. *In* Kydonieus A.F., Beroza M., Zweig G., *Insect Suppression with Controlled Release Pheromone Systems*, Vol. I. CRC Press, Boca Raton, Florida, 27-56.

Webb R.E., Leonhardt B.A., Plimmer J.R., Tatman K.M., Boyd V.K., Cohen D.L., Schwalbe C.P., Douglass L.W. (1990). Effect of racemic disparlure released from grids of plastic ropes on mating success of gypsy moth (*Lepidoptera: Lymantriidae*) as influenced by dose and by population density. *J Econ Entomol*, **83** : 910-916.

Webster R.P., Cardé R.T. (1984). The effects of mating, exogenous juvenile hormone and a juvenile hormone analogue on pheromone titre, calling and oviposition in the omnivorous leafroller moth, *Platynota stultana*. *J Insect Physiol*, **30** : 113-118.

Wedell N., Gage M.J.G., Parker G.A. (2002). Sperm competition, male prudence and sperm-limited females. *Trends Ecol Evol*, **17** : 313-320.

Wickman P.O., Rutowski R.L. (1999). The evolution of mating dispersion in insects. *Oikos*, **84** : 463-472.

Zhang G-F., Meng X.-Z., Han Y., Sheng C.-F. (2002). Chinese tortrix *Cydia trasias* (*Lepidoptera: Olethreutidae*): Suppression on street-planting trees by mass trapping with sex pheromone traps. *Environ Entomol*, **31** : 602-607.

32

Y a-t-il un avenir pour la lutte par confusion sexuelle contre les ravageurs forestiers ?

Johanne Delisle, Lucie Royer

La forêt occupe de multiples fonctions qui sont toutes essentielles à la survie de la planète et au bien-être de l'homme. Elle régularise le climat et les cours d'eaux, prévient l'érosion des sols et réduit la pollution atmosphérique. Elle est aussi un milieu de vie pour de multiples espèces animales et végétales et un lieu d'activités récréatives pour les citoyens et les visiteurs. Sa matière première, le bois, est une importante ressource économique qui contribue à la création de plusieurs emplois directs et indirects. Mais la forêt est aussi sujette à toutes sortes de perturbations naturelles, parmi lesquelles la défoliation par les insectes demeure une menace constante. La stabilité et la pérennité de la forêt permettent à l'insecte d'y compléter plusieurs cycles de vie, limitant ainsi la croissance des arbres et pouvant même, suivant la gravité de l'infestation, causer leur mort.

Des mesures doivent donc être prises pour protéger la forêt contre les pullulations d'insectes afin de conserver tous les bienfaits qu'elle procure. Il ne suffit pas seulement de dépister à temps les ravageurs ; encore faut-il que les dommages qu'ils causent à leurs plantes-hôtes soient minimisés par une intervention suffisamment précoce dans leur cycle de vie. Différentes méthodes d'intervention ont été envisagées dont l'utilisation des pesticides chimiques qui a longtemps été favorisée. Heureusement, une prise de conscience plus éclairée de la valeur écologique de la forêt et de la nécessité de la protéger a amené plusieurs pays à adopter des lois visant à réduire l'usage de ces produits chimiques en forêt. Au Québec, depuis 2001, la stratégie gouvernementale de protection des forêts, qui a pour origine la politique d'utilisation des pesticides en milieu forestier, en a même formellement interdit l'usage. En l'absence de solutions de rechange à la lutte chimique, la lutte contre les insectes dans les forêts du Québec se limite à l'application d'un insecticide biologique à base de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*). Au Canada, le *Bt* est aussi l'outil de

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

lutte couramment utilisé contre les plus importants Lépidoptères ravageurs de la forêt, le meilleur exemple étant la tordeuse du bourgeon de l'épinette (*Choristoneura fumiferana*). Cependant, l'approche adoptée avec cet insecticide biologique est la même que pour les insecticides chimiques : la destruction d'un insecte avec un produit plus ou moins spécifique. Même si l'immensité de nos forêts, dont une infime partie est sujette aux interventions phytosanitaires, concourt à réduire les risques de résistance au *Bt*, notre dépendance à ce seul moyen de lutte, lorsqu'il s'agit de lutte biologique, est inquiétante. Par ailleurs, le contrôle biologique à l'aide de parasitoïdes ou de prédateurs s'est avéré une approche plutôt décevante chez les ravageurs forestiers, en raison de la complexité de ces organismes biologiques et de leurs coûts de production. Quant à la stratégie de la capture de masse au moyen de pièges à phéromone, celle-ci n'est applicable que pour un nombre restreint de ravageurs forestiers, puisque son efficacité dépend de certaines caractéristiques biologiques particulières (*cf.* chapitre 31). Par chance, une autre alternative s'offre à nous : la lutte par confusion sexuelle. Cette stratégie de lutte vise essentiellement à contrôler les ravageurs par la manipulation de leur comportement reproducteur.

Dans ce chapitre, nous traiterons de la confusion sexuelle en utilisant comme modèles, les insectes de la forêt ou d'autres milieux forestiers, tels les plantations, les vergers à graines, les parcs récréatifs ou les forêts urbaines. Deux raisons principales ont motivé ce choix. D'une part, la dernière revue de synthèse traitant de la confusion sexuelle chez les insectes forestiers remonte à 20 ans (Campion, 1984), alors que celle traitant du même sujet chez les insectes des agroécosystèmes est beaucoup plus récente (Cardé et Minks, 1995). D'autre part, les essais de lutte en forêt, réalisés à l'aide de cette méthode, ont fait ressortir une gamme de difficultés et de défis inattendus, sans doute parce que ce milieu n'est pas aussi homogène et éphémère que celui des cultures agricoles, ce qui justifie que l'on s'y attarde plus longuement. Comme pour la capture de masse (*cf.* chapitre 31), nous examinerons aussi les facteurs physiques et biologiques qui influencent le résultat de la confusion sexuelle. Une meilleure connaissance de ces facteurs nous aidera à mieux orienter nos décisions futures vers les espèces les plus susceptibles d'être affectées par cette méthode de lutte.

1. *Principe de la confusion sexuelle*

La technique de la confusion sexuelle consiste à saturer l'air avec la phéromone sexuelle de l'espèce visée en utilisant une concentration suffisamment élevée pour que les mâles soient incapables de repérer les femelles réceptives dans l'habitat, et de ce fait, de s'accoupler. Il devrait en résulter une diminution de la densité de la population larvaire suivante, et par conséquent des dommages causés à leurs plantes-hôtes. Deux processus de fatigue sensorielle, l'adaptation des récepteurs olfactifs et l'habituation au niveau du système nerveux central, seraient responsables de l'incapacité des mâles à percevoir la phéromone émise par une femelle individuelle lorsque le milieu ambiant est saturé par son homologue synthétique. Ainsi, la diminution

des captures de mâles dans les pièges à phéromone, qu'ils soient appâtés avec des phéromones de synthèse ou des femelles vierges, reste la façon la plus courante de mesurer l'efficacité du traitement à base de phéromone sexuelle. Cependant, le succès de la confusion sexuelle en tant que méthode de lutte doit incontestablement se traduire par une diminution des dommages ou de la densité de la population résultant de l'inhibition de l'accouplement. Cette dernière peut être mesurée à l'aide de femelles sentinelles (femelles ajoutées dans le milieu puis récupérées pour vérifier leur état d'insémination), de couples en cages ou d'un échantillonnage régulier des femelles sauvages présentes dans la zone de traitement.

Bien que le principe de base de la confusion sexuelle soit simple, sa mise en œuvre reste complexe, car elle exige non seulement une connaissance approfondie des aspects plus techniques et physiques liés à l'épandage de la phéromone sexuelle dans la zone infestée, mais aussi de la biologie reproductive et comportementale du ravageur. Ces différents aspects seront discutés en prenant comme exemples les espèces forestières chez lesquelles la confusion sexuelle a été testée et dont la liste figure au tableau 1.

2. *Aspects techniques et physiques*

La première étape de la mise en place des essais de confusion sexuelle implique un choix judicieux, d'une part des composés de la phéromone, de leur rapport et de leur concentration, et d'autre part du type de support (diffuseur) qui servira à dissiper la phéromone dans le milieu et enfin de leur nombre (concentration à l'hectare) et de leur distribution dans la zone traitée.

2.1. Composition et concentration de la phéromone des diffuseurs

Un des préalables au succès de la confusion sexuelle repose sur l'avantage compétitif des diffuseurs de phéromone par rapport aux femelles vierges en appel, et ce, tant au niveau de la composition du mélange que de la concentration émise. Evenden *et al.* (1999) ont soulevé des doutes quant à la nécessité d'utiliser le mélange le plus attractif ou le plus représentatif du produit naturel pour réussir la confusion sexuelle. Cette hypothèse, testée chez un certain nombre d'espèces forestières, a donné des résultats variés.

Ainsi, chez l'arpenteuse d'automne (*Alsophila pometaria, Lepidoptera*), le mélange phéromonal, composé de trois hydrocarbures insaturés, a permis d'obtenir une confusion supérieure à 95 %. Individuellement, les différents composés de ce mélange sont inactifs à l'exception du composé majeur qui, à lui seul, était tout aussi efficace pour provoquer la confusion que le mélange intégral (Palaniswamy *et al.*, 1986). Cependant, il est plus difficile de se prononcer sur l'importance relative des deux isomères (E/Z) de la phéromone sexuelle chez la tordeuse du bourgeon de l'épinette (*C. fumiferana*). Schmidt *et al.* (1980) ont trouvé que le degré de confusion était le même, quelle que soit la proportion utilisée des isomères. Par contre, Sanders

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau I ■ Espèces forestières chez lesquelles la confusion sexuelle a été testée.

Espèces	Familles	Arbres-hôtes	Lieu de l'étude	Références
Alsophila pometaria Arpenteuse d'automne	*Geometridae*	*Ulmus, Quercus, Acer spp.*	Canada	Palaniswamy *et al.* (1986)
Lymantria dispar Spongieuse	*Lymantriidae*	*Quercus spp.*	États-Unis	Kolodny-Hirsch et Webb (1993) Leonhardt *et al.* (1996)
Lymantria monarcha Bombyx moine	*Lymantriidae*	*Picea, Pinus spp.*	Tchécoslovaquie Pologne	Zdarek *et al.* (1988)
Lymantria obfuscata Spongieuse indienne	*Lymantriidae*	*Populus, Salix, Malus spp.*	Inde	Masoodi *et al.* (1990)
Orgya pseudostugata Chenille à houpes du Douglas	*Lymantriidae*	*Abies concolor* *Pseudotsuga menziesii*	États-Unis Canada	Sower *et al.* (1990) Hulme et Gray (1994)
Dioryctria amatella *Dioryctria disclusa* Pyrale rousse des cônes du pin *Dioryctria merkeli*	*Pyralidae*	*Pinus taeda*	États-Unis	DeBarr *et al.* (2000)
Choristoneura fumiferana Tordeuse des bourgeons de l'épinette	*Tortricidae*	*Abies balsamea,* *Picea glauca*	Canada	Schmidt *et al.* (1980) Sanders (1981) Alford et Silk (1983)
Choristoneura occidentalis Tordeuse occidentale de l'épinette	*Tortricidae*	*Pseudotsuga menziesii*	États-Unis	Daterman *et al.* (1985)
Eucosoma sonomana Perce-pousse occidental du pin	*Tortricidae*	*Pinus ponderosa*	États-Unis	Overhulser *et al.* (1980) Sartwell *et al.* (1983)
Rhyacionia buoliana Perce-pousse européen du pin	*Tortricidae*	*Pinus sylvestris*	États-Unis	Daterman *et al.* (1975)

Rhyacionia frustana Perce-rameau du pin	*Tortricidae*	*Pinus taeda*	États-Unis	Berisford et Hedden (1978)
Rhyacionia zozana Perce-rameau du pin ponderosa	*Tortricidae*	*Pinus ponderosa*, *Pinus spp.*	États-Unis	Niwa et Daterman (1989)
Cydia trasias Tordeuse de Chine	*Tortricidae*	*Sophora japonica*	Chine	Zhang *et al.* (2001)
Neodiprion sertifer Diprion du pin sylvestre	*Diprionidae*	*Pinus sylvestris* *Pinus contorta*	Suède Italie	Anderbrant *et al.* (1998) Martini *et al.* (2002)

(1981) a observé une augmentation du degré de confusion au fur et à mesure que la proportion du composé mineur (Z) diminuait, atteignant même un niveau de confusion maximale lorsque celle-ci s'approchait de la proportion normalement rencontrée dans le mélange naturel (4 %). En conséquence, le mélange intégral n'apparaît pas indispensable pour créer un degré de confusion acceptable ; le composé majeur de la phéromone sexuelle de l'espèce visée pourrait à lui seul suffire.

La présence de composés mineurs en excès, ou de composés dont la configuration spatiale (stéréo-isomérie) diffère par rapport à la composition de la phéromone naturelle, aura le plus souvent un effet inhibiteur sur la réponse des mâles à la phéromone sexuelle. L'idée que de telles substances inhibitrices et antagonistes permettent à elles seules de confondre sexuellement les mâles a déjà été envisagée. Cependant, tous les essais de confusion utilisant une telle approche se sont avérés négatifs vis-à-vis des Lépidoptères des genres *Rhyaciona* (Berisford et Hedden, 1978 ; Daterman *et al.*, 1975) et *Dioryctria* (DeBarr *et al.*, 2000) et de l'Hyménoptère du genre *Neodiprion (*Anderbrant *et al.*, 1998). Malgré leur capacité à inhiber le comportement sexuel des mâles, les substances dites « inhibitrices » ou « antagonistes », qu'elles soient intrinsèques ou non à l'espèce, sont incontestablement inefficaces en confusion sexuelle.

Les coûts élevés associés à la production d'isomères optiques purs obligent parfois à utiliser des mélanges racémiques (50 % [+] : 50 % [–]), comme c'est le cas du « disparlure » chez la spongieuse (*Lymantria dispar*, *Lepidoptera*) (Webb *et al.*, 1990). Cependant, pour contrer l'effet inhibiteur exercé par la présence importante de certains composés mineurs, ou de leur absence, une augmentation de la dose du mélange peut être nécessaire : cet aspect mériterait d'être examiné plus attentivement dans les prochains essais de confusion sexuelle.

De façon générale, la confusion sexuelle est réalisée à partir de phéromones dont les concentrations dans les diffuseurs individuels sont beaucoup plus élevées que celles utilisées pour le dépistage. La dose de phéromone optimale est souvent dépendante du type de diffuseur utilisé puisqu'il influence le taux d'émission de la phéromone, lequel tend à diminuer avec le temps (Leonhardt *et al.*, 1990 ; 1996). Ainsi, Palaniswamy *et al.* (1986) ont démontré en laboratoire que pour une quantité fixe de matière active, le taux d'émission de la phéromone imprégnée sur des capsules de caoutchouc était plus faible que sur des copeaux stratifiés commercialisés par la société Hercon, ce qui pourrait signifier que les capsules ont une durée de vie plus longue que celle des copeaux sur le terrain. Par ailleurs, le taux d'émission de la phéromone étant généralement fonction de la température, la durée de vie des diffuseurs devrait être d'autant plus courte que les températures sont élevées (Leonhardt *et al.*, 1990). Une bonne connaissance des variations saisonnières de la température pendant la période d'activité de l'insecte peut s'avérer fort utile dans le choix du diffuseur à utiliser.

Le diffuseur se doit aussi de protéger les composés chimiques de la phéromone contre la photo-dégradation et l'oxydation, lesquelles peuvent réduire d'autant plus sa durée de vie. Par exemple, à la suite d'une exposition d'une quinzaine de jours

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

à l'air libre, moins de matières actives ont été trouvées dans les bandes de chlorure de polyvinyle comparativement aux rubans stratifiés de la société Hercon, et ce, même si le taux d'émission de la phéromone, mesuré en laboratoire, est équivalent pour les deux types de diffuseur (Sartwell *et al.*, 1983). Cette perte différentielle, qui s'est traduite par une diminution du degré de confusion chez le Lépidoptère *Eucosoma sonomana*, serait attribuable à la dégradation du composé chimique lorsque celui-ci est imprégné sur les bandes.

Les concentrations élevées requises pour créer la confusion sont obtenues en faisant varier le nombre de diffuseurs par unité de surface et sont exprimées normalement en $g.ha^{-1}$. La grande majorité des tests de confusion sexuelle montre que le degré de désorientation des mâles, estimé à partir des captures dans les pièges à phéromone, augmente proportionnellement avec la dose de phéromone appliquée à l'hectare (Daterman *et al.*, 1985 ; Webb *et al.*, 1990). Cependant, chez *Lymantria monarcha*, la différence dans les captures de mâles en fonction de la dose ne s'est pas avérée significative, même en la doublant (Zdarek *et al.*, 1988).

2.2. Répartition de la phéromone : diffusion horizontale et verticale

Le succès de la confusion sexuelle a souvent été associé à la distribution uniforme des diffuseurs dans la zone traitée (Sower *et al.*, 1979 ; 1990 ; Kolodny-Hirsch *et al.*, 1990 ; Hulme et Gray, 1994), laquelle peut être obtenue lors d'épandage aérien ou en fixant les diffuseurs directement sur les arbres, à intervalles réguliers. Deux éléments peuvent jouer un rôle dans le succès de la confusion : la densité des diffuseurs et leur concentration en phéromone.

Par exemple, tout en maintenant la concentration de phéromone fixe à $3,5\ g.ha^{-1}$, Sartwell *et al.* (1983) n'ont obtenu aucune capture dans les pièges avec cependant une réduction supérieure à 45 % des dommages, l'espacement entre les points d'émission (25 ou 50 m) n'ayant pas d'incidence. Alford et Silk (1983) ont, par ailleurs, observé une diminution plus importante du nombre de captures et de l'incidence des accouplements de femelles sentinelles, quand le nombre de points d'émission de la phéromone diminuait et que leur taux d'émission (nombre de diffuseurs/point) augmentait. Les résultats de ces deux expériences montrent qu'il est possible de compenser la diminution du nombre de points d'émission de phéromone par une augmentation de la concentration de chacun des points tout en saturant efficacement l'air du site traité. Cependant, le fait de réduire le nombre de points d'émission pourrait laisser des espaces exempts de phéromones et par conséquent propices aux accouplements dans l'habitat.

De la même manière, mais à une échelle spatiale différente, Sharov *et al.* (2002a) ont démontré que, chez la spongieuse, les accouplements de femelles sentinelles ainsi que les captures de mâles dans les pièges pouvaient être réduits pour des distances situées à plus de 600 ou 800 m de la zone traitée. Il semble donc que la saturation de l'air en phéromone s'étende bien au-delà de la zone visée par le traitement. En conséquence, cela permettrait d'accroître l'intervalle des lignes de vol empruntées par les avions ou les hélicoptères lors de l'épandage de la phéromone,

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

de réduire la quantité de phéromone déversée et les coûts qui y sont associés. Cet aspect mériterait d'être réexaminé en utilisant non pas une seule, mais plusieurs doses de phéromone. De tels essais permettraient de vérifier si la zone d'efficacité de la phéromone à l'échelle du paysage varie de la même façon qu'à l'échelle du piège. De plus, la direction des vents est un autre facteur qui devra être pris en compte lors de ces tests, car celle-ci pourrait influencer l'étendue de la zone d'efficacité. Enfin, la mosaïque du paysage forestier autour du site traité est aussi à prendre en considération, car selon le modèle de dispersion de la phéromone en forêt proposé par Fares *et al.* (1980), le panache de la phéromone tend à se dissiper vers le haut une fois à l'extérieur de l'espace arboré.

La distribution de la phéromone a été le plus souvent prise en compte pour un espace bidimensionnel, mais la hauteur des arbres vient ajouter une dimension supplémentaire. Tout comme la distribution horizontale, la distribution verticale de la phéromone soulève des interrogations quant à l'uniformité du nuage en hauteur, et ce, aussi bien lorsque le traitement a été réalisé par voie aérienne qu'à partir du sol. Diverses études ont été réalisées pour examiner le niveau de confusion à différentes hauteurs en mesurant les captures de mâles dans des pièges, le succès d'accouplement de femelles sentinelles ou la densité de population.

Ainsi, chez les populations de la noctuelle *Orgya pseudostugata,* Hulme et Gray (1994) ont obtenu une inhibition presque totale de la reproduction estimée à partir des masses d'œufs échantillonnées, que la confusion ait été réalisée au sol ou par hélicoptère. Ce qui suggère que l'épandage de la phéromone était uniforme. Mais d'autres observations tendraient à nuancer cet *a priori*. En effet, les taux d'accouplement des femelles sentinelles de la spongieuse, placées à différentes hauteurs, ont été plus élevés dans la partie supérieure de l'arbre, même en présence de fortes doses de phéromone (700 $g.ha^{-1}$) (Kolodny-Hirsch *et al.*, 1990 ; Kolodny-Hirsch et Webb, 1993). Cependant, au bas de l'arbre, l'incidence plus faible des accouplements ne s'est pas pour autant traduite par une diminution du nombre de pontes. Dans les deux études de Kolodny-Hirsch, les diffuseurs de la phéromone avaient été placés directement sur le tronc des arbres à 1,5 m de hauteur, ce qui laisse sous-entendre qu'il n'y aurait pas assez de phéromone à la cime de l'arbre pour inhiber totalement l'accouplement. Des succès plus récents de confusion chez cette espèce (Sharov *et al.*, 2002a) ont montré que des traitements par voie aérienne assuraient une meilleure distribution de la phéromone dans le site. Ces résultats appuient l'idée que la structure tridimensionnelle de la forêt est susceptible d'affecter la distribution verticale de la phéromone.

Ces études montrent bien toute l'importance de la compréhension des modalités de diffusion des phéromones lorsque les habitats sont appelés à varier suivant l'essence dominante (conifère ou décidue), la structure (uniforme ou hétérogène), l'âge, la hauteur et la densité des arbres. Lors de tests préliminaires, il serait souhaitable de mesurer l'incidence de l'accouplement en fonction de la concentration de phéromone présente à différentes hauteurs dans l'habitat. Ce type de mesure est maintenant rendu possible grâce à la commercialisation de chromatographes en phase gazeuse miniaturisés et portatifs, conçus spécialement pour le terrain (Kunert

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

et al., 2002). De plus, une nouvelle méthode de micro-extraction en phase solide permet dorénavant de quantifier avec précision de faibles concentrations de phéromone à partir d'échantillons prélevés directement dans l'air (Faldt *et al.*, 2000).

3. *Aspects biologiques et écologiques*

Malgré la diminution, voire l'absence, de captures de mâles dans les pièges à phéromone, des succès d'accouplement de femelles sentinelles ou sauvages ont souvent été observés dans les sites de confusion. En plus d'une mauvaise saturation de l'air en phéromone, ces accouplements peuvent être le résultat de particularités ou de changements dans l'expression des comportements des adultes de l'espèce visée par le traitement. Une bonne connaissance de la biologie reproductive et de l'écologie du ravageur s'avère essentielle pour interpréter correctement les résultats découlant des essais de confusion sexuelle.

3.1. Comportements du ravageur adulte dans le site de confusion

Certaines caractéristiques du comportement d'appel des femelles peuvent nuire au succès de la confusion sexuelle. Par exemple, les femelles de l'arpenteuse de la pruche (*Lambdina fiscellaria, Lepidoptera*), lorsqu'elles sont en appel, ont l'habitude de marquer le tronc des arbres tout en se déplaçant (West et Bowers, 1994). De cette façon, ces femelles laissent derrière elles une piste de phéromone dont la concentration se distingue par rapport à celle du milieu ambiant, ce qui permettrait aux mâles de les trouver plus facilement sur le tronc. Suivant le même principe, l'émission intermittente de la phéromone par la femelle en appel peut favoriser son repérage par le mâle dans les sites de confusion (Willis et Baker, 1984).

Les mâles peuvent aussi recourir à d'autres sens que l'olfaction pour localiser les femelles dans les sites traités à la phéromone. À cet égard, l'un des meilleurs exemples est celui de l'arpenteuse d'automne (*Alsophila pometaria*) dont les mâles, tout comme ceux de la spongieuse (Kolodny-Hirsch *et al.*, 1993), utilisent la silhouette des arbres pour s'orienter vers les endroits les plus susceptibles d'abriter de futures partenaires sexuelles. Une fois sur le tronc, ces mâles vont se déplacer au hasard jusqu'à ce qu'ils voient ou qu'ils touchent une femelle (Palaniswamy *et al.*, 1986). En plus de ces signaux visuels et tactiles, le son peut être aussi utilisé par les mâles de certaines espèces comme stimulus complémentaire à leur système principal de communication par voie olfactive (Krasnoff et Yager, 1988).

Enfin, l'accouplement dans les sites de confusion peut aussi survenir lors d'une rencontre fortuite des deux sexes. Les probabilités que de telles rencontres se produisent sont plus élevées lorsque la densité des populations augmente. Comme la confusion sexuelle vise à empêcher la réalisation de l'accouplement au sein de la population, les fortes densités d'insectes sont assurément une contrainte écologique majeure à sa pleine réussite. Schmidt et Seabrook (1979), utilisant différentes densités de couples dans des cages suspendues à la mi-couronne des arbres, ont observé

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

une réduction du degré de confusion avec l'augmentation de la densité chez *C. fumiferana*. Lorsque Webb *et al.* (1990) ont comparé simultanément des populations de densités variables de la spongieuse, ils ont obtenu une relation inverse entre la densité de la population et le degré de confusion quand celui-ci était estimé à partir de captures de mâles dans les pièges et le succès d'accouplement de femelles sentinelles et sauvages. Même avec une très forte concentration de phéromone à l'hectare, le traitement s'est avéré peu efficace pour inhiber l'accouplement lorsque les populations de spongieuses dépassaient 40 larves par piège de jute. D'autres études de confusion chez la spongieuse, réalisées par Schwalbe *et al.* (1983) et Kolodny-Hirsh *et al.* (1990), ont aussi démontré une relation positive entre les captures de mâles et le succès d'accouplement à basse densité, mais ce ne fut pas le cas à haute densité (Sower *et al.*, 1979).

Les différents exemples mentionnés montrent que la désorientation olfactive des mâles provoquée par la saturation phéromonale, ne signifie pas que l'accouplement sera totalement inhibé dans les sites de confusion puisqu'il existe beaucoup d'autres facteurs pouvant favoriser la rencontre des partenaires. C'est pourquoi la capture des mâles dans les pièges à phéromone ne peut démontrer à elle seule l'efficacité de la confusion sexuelle comme méthode de lutte.

3.2. Compétition : effets directs et indirects

Alford et Silk (1983) ont noté que des traitements de phéromone à différentes concentrations étaient incapables de supprimer totalement les captures de mâles de *C. fumiferana*. Le suivi de l'émergence journalière des adultes a permis d'affirmer que le moindre degré de confusion était le résultat d'une augmentation de la compétition entre les femelles sauvages vierges et les pièges à phéromone plutôt qu'une diminution de l'efficacité des traitements de confusion. Cette interprétation serait justifiée si les auteurs avaient mesuré, en même temps que les captures dans les pièges, le succès d'accouplement de femelles sauvages à différents jours de la période de vol. Par ailleurs, la détermination de la période d'émergence est aussi nécessaire pour s'assurer que les diffuseurs de phéromone seront installés suffisamment tôt en saison, évitant ainsi que les femelles sauvages ne s'accouplent avant la mise en place du traitement, comme il a été observé chez le perce-pousse occidental du pin (*Eucosoma sonomana)* (Overhulser *et al.*, 1980).

Les estimations du degré de confusion sexuelle sont généralement plus faibles lorsque les femelles vierges sont utilisées comme appâts dans les pièges au lieu de phéromones de synthèse. Ces dernières ne sont parfois qu'une faible imitation du mélange naturel et, de ce fait, sont moins compétitives. Ainsi, lorsqu'il y a des doutes sur le pouvoir attractif des phéromones de synthèse, il est préférable d'utiliser des pièges appâtés avec des femelles vierges, afin de mieux évaluer le degré de confusion (Schwalbe *et al.*, 1983). Ceci est d'autant plus vrai s'il faut faire varier les mélanges synthétiques normalement utilisés dans le piégeage sexuel, pour tenir compte de la distribution géographique de l'espèce visée (El-Sayed *et al.*, 2003) ou encore du renouvellement des générations au cours de la saison (Delisle, 1992).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Même si la confusion ne provoque pas l'inhibition de l'accouplement, elle peut occasionner des retards importants dans l'initiation de ce comportement. En conséquence, les femelles peuvent devenir moins fécondes ou fertiles (Fraser et Trimble, 2001). Toutefois, afin de compenser ces baisses de fécondité et de fertilité, les femelles peuvent s'accoupler à nouveau, ce qui sera d'autant plus facile si le milieu diminue en saturation phéromonale avec le temps. Il est donc important d'utiliser des diffuseurs dont la concentration en phéromone persistera pendant toute la période de la reproduction. Chez les espèces qui ont un potentiel reproducteur très élevé, un délai d'accouplement pourrait ne pas être suffisant pour réduire les niveaux de la population sous un seuil économiquement acceptable. Une forte fécondité implique souvent des augmentations rapides de population et constitue un obstacle à l'efficacité de la lutte par confusion sexuelle.

3.3. Immigration (ré-invasion) et émigration

Malgré l'inhibition des accouplements résultant d'un traitement de phéromone, la présence d'œufs, de larves ou de dommages à la plante-hôte peut être observée dans les sites de confusion. La ré-invasion du site traité par des femelles accouplées en provenance de zones de peuplement voisines bien infestées a été suggérée pour expliquer les dommages causés par le Lépidoptère *E. sonomana* en bordure des zones traitées (Sartwell *et al.*, 1980), ou de leur intensité plus faible à mesure que l'on se déplaçait vers le centre du site traité (Sower et Mitchell, 1994). Afin de minimiser l'immigration de femelles gravides vers les sites traités, il a été proposé de réaliser la confusion sexuelle sur de grandes superficies ou au sein de populations isolées, ou encore d'élargir le traitement bien au-delà de la zone infestée. Cependant, aucune de ces hypothèses n'a vraiment été testée rigoureusement, même si des travaux les suggèrent.

Depuis une vingtaine d'années, plusieurs tests de confusion ont été réalisés chez des populations d'insectes vivant dans des milieux isolés (Overhulser *et al.*, 1980 ; Sartwell *et al.*, 1983 ; Leonhardt *et al.*, 1996 ; Zhang *et al.*, 2001 ; Martini *et al.*, 2002). Par ailleurs, les premiers succès de confusion chez la spongieuse ont été effectivement obtenus en traitant des populations qui, tout en étant de faibles densités, étaient aussi isolées (Leonhardt *et al.*, 1996). Dans cette étude, la confusion a été suffisamment importante pour que les populations soient maintenues à un niveau endémique pendant quelques années, sans intervention additionnelle. La méthode de confusion sexuelle fait maintenant partie intégrante de la stratégie nationale de lutte contre la spongieuse aux États-Unis. Ce programme préventif, appelé « *slow the spread* », vise à ralentir l'expansion de cette espèce introduite, dont le caractère envahissant est une menace pour les forêts de feuillus. Ce programme consiste à détecter précocement, à l'aide d'un vaste réseau de pièges à phéromone, les îlots de populations qui apparaissent en marge de la zone principale de l'infestation, de façon à les éradiquer, soit par la confusion sexuelle à faible densité, soit par des pulvérisations de *Bt* à plus fortes densités (Sharov *et al.*, 2002b).

L'étude de Sharov *et al.* (2002a) suggère que les mâles de la spongieuse pourraient s'échapper de la zone traitée même si celle-ci est isolée à l'intérieur de vastes

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

étendues qui ont fait l'objet de coupes à blanc. Ce phénomène d'émigration a aussi été observé chez le diprion du pin sylvestre (*N. sertifer*), en particulier lorsque les plantations infestées par cette espèce étaient entourées de pâturages, contribuant ainsi à leur isolement (Martini *et al.*, 2002). L'étude a révélé que non seulement les mâles de cette espèce pouvaient émigrer, mais qu'il y avait aussi proportionnellement plus de femelles vierges et accouplées qui disparaissaient de la zone traitée comparativement à la zone témoin (Östrand *et al.*, 1999). Le ravageur adulte a donc la possibilité de sortir des zones de confusion et de coloniser de nouveaux sites.

L'émigration potentielle des adultes de la zone traitée, provoquée par la confusion elle-même, est un aspect qui a été peu étudié, mais qui pourrait avoir de l'importance pour le succès à long terme de la stratégie de lutte par confusion sexuelle. La sortie des adultes de la zone traitée peut favoriser la colonisation de sites dont la composition végétale n'est pas nécessairement celle recherchée par le ravageur. De ce fait, ces sites ne sont pas considérés comme susceptibles d'accueillir des insectes et, en conséquence, ils ne sont pas dépistés. Le traitement de ces sites marginaux, abritant des populations refuges, devrait être ajouté au plan d'intervention, car ils risquent de devenir la source de nouveaux îlots de contamination. Ce traitement est d'autant plus important que les espèces ont une dynamique de population de nature explosive.

3.4. Un cas particulier : celui du diprion du pin sylvestre

Le cas de *N. sertifer* mérite d'être discuté plus longuement étant donné que cette espèce est arrhénotoque, ce qui signifie que les femelles vierges produiront des œufs viables donnant exclusivement des mâles. En conséquence, on ne devrait pas s'attendre à ce que la confusion, bien qu'inhibant l'accouplement de façon importante, se traduise par une diminution de la densité de la population à court terme. Le modèle hypothétique développé par Mertins *et al.* (1975) prévoit que quatre générations seront nécessaires pour provoquer l'extinction locale du diprion importé du pin *(D. similis)* au moyen de la technique de la confusion sexuelle. À la suite des traitements de confusion chez les populations de *N. sertifer*, Martini *et al.* (2002) ont observé un déséquilibre dans la sex-ratio en faveur des mâles, indiquant que la population était en voie de diminution comparativement aux témoins chez lesquels la proportion de mâles était restée stable à environ 40 %. Dès la première génération suivant le traitement, une diminution significative de la population est observée et les auteurs avancent deux hypothèses pour l'expliquer : soit les femelles vierges ont eu une fécondité réduite parce qu'elles prenaient trop de temps à initier la ponte, soit elles ont eu une plus grande propension à se disperser. Cette dernière hypothèse a déjà été confirmée par Östrand *et al.* (1999). Ainsi, les travaux de Martini *et al.* (2002), basés sur l'isolement des sites et les faibles densités d'insectes, se sont avérés être les premiers à démontrer les effets positifs de la confusion sexuelle sur la dynamique des populations de *N. sertifer*.

Cependant, plusieurs autres paramètres doivent être pris en compte avant de conclure que la confusion est vraiment un succès chez les espèces qui recourent à

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

ce mode de reproduction. D'une part, il est important de déterminer le ratio mâles/femelles pré et post-traitements puisque celui-ci varie non seulement d'un site à l'autre, mais aussi selon la densité et le taux de croissance de la population. D'autre part, la présence d'un grand nombre de femelles compétitrices dans la population peut favoriser la production de mâles sans que les femelles soient pour autant vierges (Waage, 1986). De là s'impose le besoin de vérifier si l'accouplement a réellement eu lieu en confirmant la présence ou l'absence de spermatozoïdes dans la spermathèque, comme Schwalbe *et al.* (1983) et Webb *et al.* (1990) l'ont fait chez la spongieuse.

Finalement, le long délai requis pour obtenir une baisse significative de la population par la technique de la confusion sexuelle suggère que cette méthode de lutte contre des espèces arrhénotoques est envisageable seulement si on est en mesure de détecter très tôt l'infestation naissante et si l'état épidémique se prolonge localement sur une période de temps assez longue (supérieure à quatre ans).

3.5. Impact de la confusion sexuelle sur la dynamique de la faune auxiliaire

La confusion sexuelle peut aussi avoir des conséquences sur la dynamique des ennemis naturels inféodés aux ravageurs visés : soit directement en influençant la capacité de recherche de l'hôte par le parasitoïde ou de la proie par le prédateur, soit indirectement par une diminution de la densité de l'hôte ou de la proie, étant donné que l'efficacité des ennemis naturels est dépendante souvent de la densité. Ainsi, en dépit d'une réduction de plus de 70 % des masses d'œufs produites par *Orgya pseudostugata*, à la suite d'un traitement par confusion, Sower *et al.* (1990) n'ont obtenu aucune différence au niveau du pourcentage des œufs parasités par des Hyménoptères du genre *Telenomus*. Cette situation devrait normalement s'observer si l'activité de ces parasitoïdes était indépendante de la densité. Cependant, dans le cas particulier de *T. californicus*, Mason et Torgersen (1987) ont démontré que le taux d'attaque de ce parasitoïde, était fonction de la densité de son hôte, *O. pseudotsugata*. Ceci suggère que le traitement par phéromone a stimulé l'activité de recherche de l'hôte par le parasitoïde si bien qu'aucune différence dans l'incidence du parasitisme n'a été observée en dépit de la diminution importante de la densité de l'hôte. Une situation semblable a déjà été rapportée par Sower et Torgerson (1979) dans une étude antérieure.

Certains ennemis naturels utilisent la phéromone sexuelle de leurs hôtes pour les retrouver dans l'habitat (Arakaki *et al.*, 1997). Dans ce cas, le traitement par confusion sexuelle peut avoir deux impacts possibles sur l'activité de recherche des parasitoïdes ou des prédateurs. Premièrement, la perception de la phéromone (kairomone du point de vue de l'ennemi naturel) peut stimuler les déplacements de l'ennemi naturel en augmentant ainsi ses chances de rencontres avec l'hôte ou la proie. Une augmentation de son efficacité d'attaque en résultera. Par contre, si l'ennemi naturel utilise la phéromone pour s'orienter vers son hôte ou sa proie, la saturation du milieu peut créer un état de confusion chez celui-ci au même titre que

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

chez l'hôte, réduisant ainsi son taux d'attaque. Il peut en résulter une chute importante de sa densité voire même éventuellement son extinction locale. Cependant, comme plusieurs ennemis naturels ont des hôtes alternatifs, ils peuvent réussir à maintenir leurs effectifs surtout si leur activité de recherche n'est pas totalement inhibée par le traitement de confusion.

Une diminution de la densité de l'hôte résultant d'un traitement par confusion peut, tout en n'affectant pas le taux global de parasitisme, modifier l'importance relative de certaines espèces telle qu'observée chez *Rhyacionia zozana* (Niwa et Daterman, 1989). De plus, le comportement de recherche de l'hôte par le parasitoïde ainsi que les stimuli qui y sont associés peuvent varier d'une région à l'autre, voire même d'un habitat à l'autre (Price, 1981). En conséquence, lorsque l'on tente de manipuler le comportement d'un ravageur en utilisant la confusion sexuelle, il est important d'en mesurer aussi l'impact sur ses ennemis naturels (après une étude préalable de leur biologie), afin de s'assurer que l'intervention sera vraiment bénéfique pour la gestion intégrée du ravageur concerné.

Conclusion

Il ne fait pas de doute que la confusion sexuelle, en tant que méthode de lutte, peut réussir à désorienter efficacement les mâles dans leur quête sexuelle, surtout lorsque les conditions relatives à la qualité des diffuseurs de la phéromone sont satisfaites lors des essais sur le terrain. Si l'on s'en tient aux espèces forestières considérées dans notre analyse, cette désorientation olfactive est souvent accompagnée d'une baisse importante des accouplements entraînant par conséquent une diminution de la densité de la population ou des dommages causés aux arbres. Toutefois, ce résultat ne peut être atteint lorsque les diffuseurs ne sont pas uniformément distribués dans l'habitat ou lorsque les sites traités ne sont pas suffisamment éloignés ou isolés des autres sites infestés. Par ailleurs, il suffit parfois qu'une des répétitions du plan expérimental soit plus fortement infestée que les autres pour que les tests de confusion ne soient pas statistiquement valides. Cette difficulté peut être évitée par un échantillonnage de la densité lors du prétraitement, bien que les invasions post-traitement de femelles gravides puissent être à l'origine de variations imprévisibles.

Au cours de la dernière décennie, la multiplication des essais de confusion chez divers insectes forestiers a permis d'établir les conditions physiques, écologiques et biologiques favorables au succès de cette méthode de lutte. Les progrès réalisés en confusion sexuelle, grâce en partie à l'audace et à la ténacité des chercheurs, ont été tels que, ce qui était impossible hier est devenu possible aujourd'hui, comme en fait foi la capacité de ralentir, au moyen de cette technique, l'expansion et l'évolution des populations de la spongieuse, l'un des plus grands ravageurs des forêts de feuillus en Amérique du Nord. Cet exemple et bien d'autres démontrent qu'il existe un avenir prometteur pour la confusion sexuelle en milieu forestier.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

La partie n'est pas pour autant gagnée. En effet, certaines situations écologiques peuvent survenir et éventuellement compromettre le succès de la lutte par confusion sexuelle. Parmi les événements qui sont les plus à craindre, en raison de leurs probabilités plus élevées de se réaliser, on note ceux liés aux changements climatiques et à la trop grande utilisation des phéromones sexuelles. Ainsi, on peut s'attendre à ce que :

– d'une part, le réchauffement climatique prolonge la période d'activité de l'insecte en augmentant le nombre de générations. Par conséquent, les diffuseurs devront être utilisés sur une plus longue période que la normale tout en maintenant leur concentration en phéromone élevée. Le développement de tels diffuseurs représentera un véritable défi technique compte tenu du fait que le taux de diffusion de la phéromone dans les diffuseurs augmente avec la température, réduisant d'autant plus la durée de leur efficacité sur le terrain ;

– d'autre part, la pression sélective exercée par des traitements répétés de confusion sexuelle pourrait être suffisamment forte pour modifier tout le système de la communication entre les sexes, comme on l'a constaté expérimentalement à l'aide de souches mutantes du Lépidoptère *Trichoplusia ni* (Evenden et Haynes, 2001). En conséquence, promouvoir la confusion sexuelle dans des populations d'insectes fortement isolées, en l'absence d'immigrants pour renouveler leur pool génétique, pourrait à long terme contribuer au développement de la résistance.

De tels enjeux constituent de nouvelles sources de motivation et d'inspiration dans la poursuite des recherches en vue de mieux valoriser l'utilisation des phéromones sexuelles comme méthode de lutte contre les ravageurs de la forêt naturelle et urbaine ou des plantations arboricoles.

Références bibliographiques

Alford A.R., Silk P.J. (1983). Effect of pheromone-releaser distribution and release rate on the mating success of spruce budworm (*Lepidoptera: Tortricidae*). *J Econ Entomol*, **76** : 774-778.

Anderbrant O., Högberg H.E., Hedenström E., Löfqvist J. (1998). Towards the use of pine sawfly pheromones in forest protection: Evaluation of a behavioral antagonist for mating disruption of *Neodiprion sertifer*. *In* McManus M.L., Liebhold A.M., *Proceedings: Population Dynamic, Impacts, and Integrated Management of Forest Defoliating Insects*. USDA For Serv Gen Tech Rep NE-247, 53-63.

Arakaki N., Wakamura S., Yasuda T., Yamagishi K. (1997). Two regional strains of a phoretic egg parasitoid, *Telenomus euproctidis* (*Hymenoptera: Scelionidae*), that use different sex pheromones of two allopatric tussock moth species as kairomones. *J Chem Ecol*, **23** : 153-161.

Berisford C.W., Hedden R.L. (1978). Suppression of male *Rhyacionia frustrana* response to live females by the sex pheromone of *R. buoliana*. *Ann Entomol Soc Am*, **7** : 532-533.

Campion D.G. (1984). Survey of pheromone uses in pest control. *In* Hummel H.E., Miller T.A., *Techniques in Pheromone Research*. Springer-Verlag, New York, 405-449.

Cardé R.T., Minks A.K. (1995). Control of moth pests by mating disruption: Successes and constraints. *Annu Rev Entomol*, **40** : 559-585.

Daterman G.E., Daves G.D. Jr., Smith R.G. (1975). Comparison of sex pheromone versus an inhibitor for disruption of pheromone communication in *Rhyacionia buoliana*. *Environ Entomol*, **4** : 944-946.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Daterman G.E., Sower L.L., Sartwell C. (1985). Courtship disruption of western spruce budworm by aerial application of synthetic pheromone. *In* Sanders C.J., Stark R.W., Mullins E.J., Murphy J., *Recent Advances in Spruce Budworm Research*. Proceedings of the CANUSA Spruce Budworm Research Symposium. Ottawa, Ontario, 386-387.

DeBarr G.L., Hanula J.L., Niwa C.G., Nord J.C. (2000). Synthetic pheromones disrupt male *Dioryctria spp.* moths in a loblolly pine seed orchard. *Can Entomol*, **132** : 345-351.

Delisle J. (1992). Monitoring the seasonal male flight activity of *Choristoneura rosaceana* (*Lepidoptera: Tortricidae*) in eastern Canada using virgin females and several pheromone blends. *Environ Entomol*, **21** : 1007-1012.

El-Sayed A.M., Delisle J., De Lury N., Gut L.J., Judd G.J.R., Legrand S., Reissig W.H., Roelofs W.L., Unelus C.R., Trimble R.M. (2003). Geographic variation in pheromone chemistry, antennal electrophysiology, and pheromone-mediated trap catch of North American populations of the oblique-banded leaf-roller. *Environ Entomol*, **32** : 470-476.

Evenden M.L., Judd G.L.R., Borden J.H. (1999). Pheromone-mediated mating disruption of *Choristoneura rosaceana*: Is the most attractive blend really the most effective? *Entomol Exp Appl*, **90** : 37-47.

Evenden M.L., Haynes K.F. (2001). Potential for the evolution of resistance to pheromone-based mating disruption tested using two pheromone strains of the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. *Entomol Exp Appl*, **100** : 131-134.

Faldt J., Eriksson M., Valterova I., Borg-Karlson A.K. (2000). Comparison of headspace techniques for sampling volatile natural products in a dynamic system. *Zeitschrift fur Naturforschung, Section C, Biosciences*, **55** : 180-188.

Fares Y., Sharpe P.J.H., Magnuson C.E. (1980). Pheromone dispersion in forests. *J Theor Biol*, **84** : 335-359.

Fraser H.B., Trimble R.M. (2001). Effect of delayed mating on reproductive biology of the oriental fruit moth (*Lepidoptera: Tortricidae*). *Can Entomol*, **133** : 219-227.

Hulme M., Gray T. (1994). Mating disruption of Douglas-fir tussock moth (*Lepidoptera: Lymantriidae*) using a sprayable bead formulation of Z-1-heneicosen-11-one. *Environ Entomol*, **23** : 1097-1100.

Kolodny-Hirsch D.M., Webb R.E., Olsen R., Venables L. (1990). Mating disruption of gypsy moth (*Lepidoptera. Lymantriidae*) following repeated ground application of racemic disparlure. *J Econ Entomol*, **83** : 1972-1976.

Kolodny-Hirsch D.M., Webb R.E. (1993). Mating disruption of gypsy moth (*Lepidoptera: Lymantriidae*) following ground application of high rates of racemic disparlure. *J Econ Entomol*, **86** : 815-820.

Krasnoff S.B., Yager D.D. (1988). Acoustic response to a pheromonal cue in the arctiid moth *Pyrrharctia isabella*. *Physiol Entomol*, **13** : 433-440.

Kunert M., Biedermann A., Koch T., Boland W. (2002). Ultrafast sampling and analysis of plant volatiles by a hand-held miniaturised GC with pre-concentration unit: Kinetic and quantitative aspects of plant volatile production. *J Sep Sci*, **25** : 677-684.

Leonhardt B.A., Mastro V.C., Paszek E.C., Schwalbe C.P., Devilbissa E.D. (1990). Dependence of gypsy moth (*Lepidoptera: Lymantriidae*) capture on pheromone release rate from laminate and other dispensers. *J Econ Entomol*, **83** : 1977-1981.

Leonhardt B.A., Mastro V.C., Leonard D.S., McLane W., Reardon R.C., Thorpe K.W. (1996). Control of low-density gypsy moth (*Lepidoptera. Lymantriidae*) populations by mating disruption with pheromone. *J Chem Ecol*, **22** : 1255-1272.

Martini A., Baldassari N., Baronio P., Anderbrant O., Hedenström E.H., Högberg H-E., Rocchetta G. (2002). Mating disruption of the pine sawfly *Neodiprion sertifer* (*Hymenoptera: Diprionidae*) in isolated stands. *Agric For Entomol*, **4** : 195-201.

Mason R.R., Torgersen T.R. (1987). Dynamics population of the Douglas-fir tussock moth (*Lepidoptera: Lymantriidae*) in southern Oregon. *Environ Entomol*, **16** : 1217-1227.

Masoodi M.A., Trali A.R., Bhat A.M. (1990). Suppression of *Lymantria obfuscata* Walker by sex pheromone trapping of males. *Indian J Entomol*, **52** : 414-417.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Mertins J.W., Coppel H.C., Karandinos M.G. (1975). Potential for suppressing *Diprion similis* (*Hymenoptera: Diprionidae*) with pheromone trapping: a population model. *Res Pop Ecol*, **17** : 77-84.

Niwa C.G., Daterman G.E. (1989). Pheromone mating disruption of *Rhyacionia zozana* (*Lepidoptera: Tortricidae*): Influence on the associated parasite complex. *Environ Entomol*, **18** : 570-574.

Östrand F., Wedding R., Jirle E., Anderbrant O. (1999). Effect of mating disruption on reproductive behaviour in the European pine sawfly, *Neodiprion sertifer* (*Hymenoptera: Diprionidae*). *J Insect Behav*, **12** : 233-243.

Overhulser D.L., Daterman G.E., Sower L.L., Sartwell C., Koerber T.W. (1980). Mating disruption with synthetic sex attractant controls damage by *Eucosma sonomana* (*Lepidoptera: Tortricidae, Olethreutinae*) in *Pinus ponderosa* plantations II. Aerially applied hollow fiber formulations. *Can Entomol*, **112** : 1563-165.

Palaniswamy P., Underhill E.W., Gillot G., Wong J.W. (1986). Synthetic sex pheromone components disrupt orientation, but not mating, in the fall cankerworm, *Alsophila pometaria* (*Lepidoptera: Geometridae*). *Environ Entomol*, **15** : 943-950.

Price P. (1981). Semiochemicals in evolutionary time. *In* Nordlund D.A., Jones R.L., Lewis W.J. *Semiochemicals. Their Role in Pest Control*. John Wiley & Sons, New York, 251-279.

Sanders C.J. (1981). Spruce budworm: effects of different blends of sex pheromone components on disruption of male attraction. *Experientia*, **37** : 1176-1178.

Sartwell C., Daterman G.E., Sower L.L., Overhulser D.L., Koerber T.W. (1980). Mating disruption with synthetic sex attractants controls damage by *Eucosma sonomana* (*Lepidoptera: Tortricidae, Olethreutinae*) in *Pinus ponderosa* plantations. I. Manually-applied polyvinyl chloride formulation. *Can Entomol*, **112** : 159-162.

Sartwell C., Daterman G.E., Overhulser D.L., Sower L.L. (1983). Mating disruption of western pine shoot borer *(Lepidoptera: Tortricidae)* with widely spaced releasers of synthetic pheromone. *J Econ Entomol*, **76** : 1148-1151.

Schmidt J.O., Seabrook W.D. (1979). Mating of caged spruce budworm moths in pheromone environments. *J Econ Entomol*, **72** : 509-511.

Schmidt J.O., Seabrook W.D., Ross R.J., Darvesh S., Lonergan G. (1980). Spruce budworm: Roles of pheromone components and analogues in male disruption and attraction. *Experientia*, **36** : 222-223.

Schwalbe C.P., Paszek E.C., Bierl-Leonhardt B.A., Plimmer J.R. (1983). Disruption of gypsy moth (*Lepidoptera: Lymantriidae*) mating with disparlure. *J Econ Entomol*, **76** : 841-844.

Sharov A.A., Thorpe K.W., Tcheslavskaia K. (2002a). Effect of synthetic pheromone on gypsy moth (*Lepidoptera: Lymantriidae*) trap catch and mating success beyond treated areas. *Environ Entomol*, **31** : 1119-1127.

Sharov A.A., Leonard D., Liebhold A.M., Roberts E.A., Dickerson W. (2002b). A national program to slow the spread of the gypsy moth. *J Forest*, **100** : 30-35.

Sower L.L., Daterman G.E., Orchard R.D., Sartwell C. (1979). Reduction of Douglas-fir tussock moth reproduction with synthetic sex pheromone. *J Econ Entomol*, **72 :** 739-742.

Sower L.L., Torgerson T.R. (1979). Field application of synthetic Douglas-fir tussock moth sex pheromone did not reduce egg parasitism by two Hymenoptera. *Can Entomol*, **115** : 965-969.

Sower L.L., Wenz J.M., Dahlsten D.L., Daterman G.E. (1990). Field testing of pheromone disruption on preoutbreak populations of Douglas-fir tussock moth (*Lepidoptera: Lymantriidae*). *J Econ Entomol*, **83** : 1487-1491.

Sower L.L., Mitchell R.G. (1994). Mating disruption of western pine shoot borer (*Lepidoptera: Olethreutidae*) in lodgepole pine. *J Econ Entomol*, **87** : 144-147.

Waage J.K. (1986). Family planning in parasitoids: Adaptative patterns of progeny and sex allocation. *In* Waage J., Greathead D., *Insect Parasitoids*, Academic Press, New York, 63-95.

Webb R.E., Leonhardt B.A., Plimmer J.R., Tatman K.M., Boyd V.K., Cohen D.L., Schwalbe C.P., Douglass L.W. (1990). Effect of racemic disparlure released from grids of plastic ropes on mating success of gypsy moth (*Lepidoptera: Lymantriidae*) as influenced by dose and by population density. *J Econ Entomol*, **83 :** 910-916.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

West R.J., Bowers W.W. (1994). Factors affecting calling behavior by *Lambdina fiscellaria fiscellaria* (*Lepidoptera: Geometridae*), under field conditions. *Environ Entomol*, **23** : 122-129.

Willis M.A., Baker T.C. (1984). Effects of intermittent and continuous pheromone stimulation on the flight behaviour of the oriental fruit moth, *Grapholita molesta*. *Physiol Entomol*, **9** : 341-358.

Zdarek J., Vrkoc J., Hochmut R., Kolk A. (1988). Male confusion of the nun moth with disparlure at high and low population densities. *J Chem Ecol*, **14** : 537-547.

Zhang G.F., Meng Yan X.H., Sheng C.F., Meng X.Z. (2001). Mating disruption of the chinese tortrix *Cydia trasias* (*Lepidoptera. Olethreutidae*) by atmospheric permeation with synthetic sex pheromone. *Environ Entomol*, **30** : 7-11.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

33

Les phéromones sexuelles des Lépidoptères : nouvelles approches et perspectives en protection intégrée

Brigitte Frérot

Les phéromones sexuelles de nombreux insectes ravageurs des cultures ont été identifiées au cours des 40 dernières années, en partie grâce à une formidable évolution des techniques analytiques (Arn *et al.*, 2000). En 1959, Butenandt *et al.*, identifiaient la première phéromone sexuelle, celle du ver à soie, à partir d'un extrait de 500 000 glandes. Actuellement, les progrès de la physicochimie permettent d'identifier le contenu d'une seule glande (Frérot *et al.*, 1997).

Les phéromones sexuelles des Lépidoptères sont des substances volatiles qui sont émises, sauf exception, par la femelle qui prend une posture particulière : la position d'appel. Les phéromones sont perçues par les mâles, dont l'organe de l'olfaction est l'antenne. Le signal chimique, intégré au niveau du système nerveux central, déclenche chez le mâle un comportement qui détermine la recherche et la rencontre du partenaire sexuel. Chez ce dernier, le comportement sexuel peut être divisé en deux phases. Une première phase à distance où le mâle suit les effluves odorants libérés par la femelle et une seconde phase à proximité de la femelle, caractérisée par l'atterrissage et le comportement de cour.

La plupart des espèces de Lépidoptères communiquent avec un mélange complexe de molécules dont les variables sont la longueur de la chaîne hydrocarbonée, la position des doubles liaisons et la fonction. La qualité du mélange, la quantité et le ratio des différents constituants jouent un rôle primordial sur toutes les phases du comportement sexuel.

L'utilisation des phéromones sexuelles pour lutter contre les insectes ravageurs des cultures a été très précoce. Dès 1967, Gaston *et al.*, ont démontré qu'il était

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

possible de limiter les populations d'un insecte cible par la technique de lutte connue sous le nom de confusion sexuelle. Cette méthode est homologuée pour les principaux ravageurs de la vigne, des fruits à pépins et à noyaux, et du coton. Elle présente l'avantage de répondre aux problèmes liés à la résistance aux insecticides et aux besoins de l'agriculture biologique. Les phéromones sexuelles sont aussi utilisées pour les avertissements agricoles. Elles permettent de détecter la présence de ravageurs, de préciser leurs périodes d'activité et d'adapter les traitements. Dans tous les cas, l'utilisation des phéromones contribue à la réduction du nombre des traitements insecticides.

Le comportement sexuel des insectes est très variable d'une espèce à l'autre, que ce soit au sein d'un même ordre, d'une même famille voire d'une tribu. Les applications en protection intégrée doivent tenir compte des particularités éthologiques et éco-éthologiques de chaque espèce, comme le fait que certaines ne se reproduisent pas dans les cultures où elles se développent.

Les constituants de la plupart des phéromones sont des molécules ayant des particularités physicochimiques différentes et la restitution d'un signal phéromonal de synthèse implique une mise au point de la formulation.

Dans ce chapitre, nous allons : définir la place de l'utilisation des phéromones sexuelles dans une perspective de protection intégrée des cultures ; dégager les potentialités et les manques pour l'avenir ; montrer l'importance des connaissances sur la biologie reproductive des insectes et sur les différentes techniques d'utilisation. Ces dernières seront décrites, et les perspectives de développement seront évoquées.

1. Quel avenir pour les phéromones sexuelles en protection intégrée ?

Le concept de protection intégrée a trouvé son origine dans la notion de lutte intégrée, développée après guerre, et qui prônait un usage raisonné des pesticides, la prise en compte du seuil de nuisibilité, le développement de tous les moyens de lutte biologique contre les ravageurs des cultures. La protection intégrée vise au développement d'une agriculture raisonnée, très technique, respectueuse de l'environnement et de la santé (Milaire,1991 ; Riba et Silvy, 1989). Une des conséquences en est la réduction des traitements chimiques et une intégration de tous les moyens alternatifs de lutte à tous les paramètres de la conduite d'une exploitation (amendement, taille, enherbement, etc.).

1.1. Les atouts

La prise de conscience du danger que représente l'abus des pesticides pour la santé humaine et l'environnement, modifie la conception de la production agricole moderne. La protection intégrée est soutenue par une volonté politique matérialisée par la mise en place en 2000, au niveau de l'Union européenne (UE), d'un programme d'action pour l'environnement dont les objectifs sont une réduction signifi-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un delit

cative de l'utilisation des pesticides sur les surfaces cultivées et une conversion à des méthodes de protection intégrée, au moins sur les surfaces présentant une importance pour la conservation de la nature. Cette politique motivée par les effets négatifs des pesticides, a conduit à un changement significatif de la réglementation qui va affecter un grand nombre (presque la moitié) des molécules actives de pesticides (*cf.* chapitres 40 et 46).

À cette situation s'ajoute l'apparition, dans plusieurs pays, de populations d'insectes, ravageurs majeurs, résistants à plusieurs familles d'insecticides (Sauphanor et Bouvier, 1995 ; Charmillot *et al.*, 1999). Le développement de méthodes alternatives de lutte devient indispensable, d'autant plus qu'il est admis, depuis longtemps, qu'aucun insecticide ne parvient, sur le long terme, à éradiquer les populations de nuisibles. Leurs usages intensifs provoquent, en plus de la résistance, des pullulations de ravageurs secondaires comme les acariens phytophages insensibles aux insecticides.

Un dernier point mérite d'être pris en considération : le rôle des consommateurs, des grands groupes agroalimentaires et des grands distributeurs. Les premiers sont de plus en plus sensibilisés au lien entre l'alimentation et la santé. Les seconds répondent à cette attente en développant de nouvelles gammes d'aliments, et développent très souvent leurs propres circuits d'analyse de qualité.

Dans ce contexte, les phéromones sexuelles, comme outil pour réduire les populations ou pour adapter la lutte chimique, doivent trouver une place intéressante. Il n'en reste pas moins que le développement et l'extension de leurs usages dépendent de la prise en compte de plusieurs paramètres.

1.2. Les voies de recherche à développer

L'optimisme des années 80 a fait place, dans les années 90, à un pessimisme lié à l'impression générale que les connaissances sur le comportement des insectes et des molécules n'étaient pas souvent prises en compte lors du passage à l'application. L'avenir de l'utilisation des phéromones sexuelles repose sur des recherches intégrées, et il apparaît clairement un besoin d'intensifier la collaboration et la communication entre les différents partenaires que sont les instituts de recherche, l'industrie phytosanitaire et les organismes techniques. Les échecs des méthodes de lutte sont souvent liés à un manque de savoir-faire ou à un manque de transfert des avancées de la recherche. Toutes les connaissances sur la biologie des insectes, sur la chimie des phéromones, sur la technologie des diffuseurs doivent être intégrées lors de la mise en place des essais.

Très peu de nouvelles espèces sont actuellement concernées par le développement industriel. En effet, la validation des nouvelles technologies de lutte repose essentiellement sur des essais de terrain et sur une approche par essai-erreur, longue et coûteuse. Ce fait est une autre conséquence du manque d'intégration des données de la recherche dans la phase de développement d'une part, et d'autre part d'un manque de soutien des recherches à mener en amont.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1.2.1. Compréhension des mécanismes

La question n'est pas récente. Dès 1982, Bartell mettait en exergue le besoin de comprendre les mécanismes impliqués dans la confusion sexuelle :

– le mécanisme dit « de la fausse piste » requiert de nombreuses sources dont l'attraction est très compétitive par rapport aux femelles ;

– le camouflage de la phéromone produite naturellement par la femelle nécessite une concentration en phéromone suffisante et homogène ;

– l'adaptation sensorielle implique que les mâles soient exposés longtemps à une quantité suffisante de la phéromone de synthèse.

Une unité culturale est un système complexe, et tous les mécanismes cités peuvent exister. La structure des panaches de phéromone n'est pas la même en bordure, au centre ou au niveau de la canopée. De même, cette structure changera avec la densité des diffuseurs, leur charge et le mélange utilisé. Le statut physiologique, la biologie des mâles qui sont, soit nouvellement émergés, soit en phase de migration ou ne se reproduisant pas dans les parcelles cultivées, peuvent rendre difficilement transposable une technique qui donne satisfaction pour une espèce.

1.2.2. La dynamique des populations

La densité des populations est un paramètre important qui affecte le succès de la lutte avec les phéromones sexuelles, les bas niveaux de population étant corrélés avec une bonne réduction. Les modèles de dynamique des populations qui existent doivent faire partie intégrante du développement de l'utilisation des phéromones.

1.2.3. La technologie des diffuseurs

La réussite de la lutte dépend de la qualité des diffuseurs qui doivent émettre une quantité efficace pendant une longue période. La plupart des diffuseurs mis sur le marché ont une diffusion passive, liée à la température. La conséquence est que 90 % de la phéromone diffuse pendant la journée alors que l'insecte est actif seulement au crépuscule (Witzgall *et al.*, 1999). Pour répondre à ce problème, des diffuseurs séquentiels ont été expérimentés récemment avec succès, mais ne sont pas commercialisés actuellement (Shorey et Gerber,1996 ; Baker *et al.*, 1997).

La technologie des diffuseurs a une incidence sur le coût de la méthode. La synthèse des phéromones s'est développée en mode industriel et l'expansion du marché a fait baisser les coûts de production d'un facteur 100 depuis les années 80 pour la codlemone, mais il n'en reste pas moins que la matière active reste chère et doit être utilisée au mieux. La plupart des diffuseurs s'appliquent manuellement et cette technique entraîne une augmentation du coût du traitement ou rend la méthode inadaptée à certaines cultures.

2. *Les différentes utilisations des phéromones de Lépidoptères en protection intégrée*

L'utilisation des phéromones sexuelles pour lutter contre les insectes ravageurs des cultures a été très précoce, et la manipulation de la communication chimique qui gère la reproduction chez les insectes ravageurs des cultures a fait l'objet de nombreuses études au cours des 40 dernières années. Parmi les méthodes de lutte, nous distinguerons : les méthodes indirectes de lutte qui ne visent pas, par leur seule action, à réduire les niveaux des populations et les méthodes directes qui, contrairement aux précédentes, ont un impact par leurs usages sur les niveaux des populations. Dans tous les cas, l'utilisation des phéromones contribue à la réduction du nombre des traitements insecticides et trouve sa place dans une démarche de protection intégrée des cultures.

Il est à noter que les phéromones sexuelles de nombreuses espèces ont été identifiées (Arn *et al.*, 2000) mais que très peu ont fait l'objet d'un développement industriel. Cependant, l'utilisation des sémiochimiques croit chaque année. En 2002, le marché était évalué à 18,5 millions USD pour l'Europe. Une croissance annuelle de 10,2 % est prévue et le marché devrait atteindre en 2007, 36 millions USD (Jones, 2002).

2.1. Méthode indirecte de lutte : le piégeage sexuel

Les recherches sur l'identification des phéromones sexuelles des Lépidoptères correspondent à une demande des partenaires du monde agricole. Ces substances, une fois reproduites par synthèse, devaient remplacer les élevages que les instituts techniques faisaient pour surveiller par piégeage avec des femelles vierges, les vols des ravageurs afin de déclencher les traitements. Cette pratique permet de mieux cibler les applications d'insecticides par opposition aux traitements effectués en fonction de calendrier. Cette démarche s'intègre dans le développement de la protection intégrée des cultures, qui vise à utiliser intelligemment les insecticides, à préserver les auxiliaires, à réduire les coûts et les dangers liés aux traitements chimiques pour la population et l'environnement.

Les phéromones sexuelles peuvent être reproduites par synthèse chimique. Après une dilution dans un solvant organique qui permet d'obtenir une solution titrée, elles sont déposées sur un petit diffuseur, très souvent un bouchon en caoutchouc que l'on nomme capsule. Les diffuseurs ont très peu évolué au cours des dix dernières années ; cependant, certaines firmes développent des polymères techniques qui assurent une diffusion plus régulière des molécules phéromonales.

La capsule est placée dans un piège dont il existe plusieurs modèles. La forme du piège est un paramètre important pour obtenir un piégeage fiable, car chaque espèce présente des exigences différentes liées au comportement d'atterrissage. Ameline et Frérot (2001), Pélozuelo et Frérot (2002) ont démontré, chez deux ravageurs du

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

maïs, comment la forme du piège et sa position peuvent affecter les résultats du piégeage.

Le modèle le plus courant est le piège delta. La capsule est placée sur la surface engluée qui capture les mâles. L'étude du comportement d'atterrissage de la pyrale du maïs (*Ostrinia nubilalis*) a permis d'expliquer pourquoi les niveaux de captures des mâles n'étaient pas corrélés avec l'importance des dégâts quand ces pièges étaient utilisés. En effet, les mâles qui pénètrent dans le piège se posent sur la glu et s'en échappent en y laissant leurs pattes.

D'autres systèmes existent pour les Lépidoptères et nous ne citerons que le piège à entonnoir, plus généralement utilisé pour la capture des noctuelles. Les mâles sont tués par de l'eau ou de l'insecticide. Les pièges sont généralement placés à hauteur d'homme ou à hauteur de la végétation suivant les cultures et les insectes à surveiller.

La facilité d'utilisation des pièges sexuels permet de surveiller plusieurs espèces au sein d'une même unité culturale. Les informations données par cette technique sont la présence ou l'absence d'une espèce, et le vol des adultes avec en référence le pic de vol, qui correspond au maximum des accouplements. Les renseignements sur le vol permettent d'adapter les traitements chimiques ou de situer au mieux les traitements par les agents biologiques tels que les trichogrammes ou la Carpovirusine®.

Les relevés de captures constituent un moyen intéressant pour estimer les variations numériques des populations naturelles dans différents sites. Par contre, très peu d'études ont porté sur l'établissement d'une relation entre les captures et un risque de dégât. Audemard (1996) avait ouvert la voie en établissant des seuils de capture par unité de surface pour le carpocapse des pommes (*Cydia pomonella*). En protection intégrée, il est essentiel de posséder un outil de prognose qui évalue les risques pour la production. Pour répondre à ce besoin, le défi des années à venir sera d'établir des seuils de capture par unité culturale, reliés à une notion de risque pour la récolte et donc à une nécessité de traitement chimique.

Actuellement, le piégeage sexuel est largement utilisé en arboriculture, viticulture et grandes cultures pour surveiller les populations des principaux ravageurs. L'information sur les périodes de vol a permis une réduction du nombre des traitements. Il n'en reste pas moins qu'un bon usage nécessite de suivre un certain nombre de règles. Le problème rencontré le plus fréquemment est lié à la pollution des pièges par la phéromone destinée à une autre espèce et, comme nous le démontrerons dans le dernier paragraphe, à la biologie des ravageurs et à leurs comportements.

2.2. Méthodes directes de lutte

Ces méthodes visent à réduire les populations d'un ravageur bien identifié en manipulant le comportement reproducteur et le sens olfactif.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

2.2.1. Le piégeage de masse

Une des techniques les plus triviales consistait initialement en la mise en place d'un nombre important de pièges. Des calculs théoriques, prenant en compte la compétition entre les pièges, les profils d'émergence des insectes, l'existence de protandrie, le taux de survie, préconisaient cinq pièges pour une femelle. Les pièges appâtés de phéromone de synthèse devaient attirer la grande majorité des mâles et l'absence de géniteurs entraîner une réduction d'au moins 95 % des accouplements. De fait, les essais menés sur les tordeuses des vergers n'ont pas abouti à des résultats intéressants malgré le grand nombre (30) de pièges par arbre (Roelofs,1975).

La technique s'est avérée trop lourde en termes de mise en œuvre et de coût par rapport aux résultats. De nombreux paramètres restaient indéterminés : le rôle de la masse foliaire, de la température, du niveau initial de la population ; la compétitivité entre les phéromones de synthèse et les femelles. Ce procédé fut assez vite abandonné pour les Lépidoptères ravageurs de la vigne ou des vergers, mais il fait actuellement l'objet de nombreuses études pour les Lépidoptères forestiers (*cf.* chapitre 31).

Le piégeage de masse contre la processionnaire du pin est d'actualité. Il faut en effet trouver des méthodes de lutte alternatives aux traitements chimiques par voie aérienne qui vont être interdits totalement sur les massifs forestiers par décret européen et qui le sont déjà en zones urbaine et périurbaine. La biologie de cet insecte en fait un candidat sérieux. Les adultes ont une vie extrêmement courte : ils émergent avant le crépuscule et doivent s'accoupler dans la nuit, avant de mourir le jour suivant. Les mâles sont donc limités quant au nombre des accouplements et les femelles qui n'ont pas pu être fécondées la nuit de l'émergence, meurent sans descendance. Des recherches sont en cours dans des biotopes très différents pour valider la technique (Jactel et Martin, communication personnelle). Le piège doit être facile à poser, présenter une grande capacité de capture et être adapté au comportement d'atterrissage des mâles. Le nombre nécessaire de pièges dépend de la population initiale, mais aussi du couvert végétal. Les populations doivent être estimées avant et après ; la lutte doit être poursuivie sur plusieurs années. Notons qu'en Espagne le piégeage de masse est utilisé contre cet insecte à raison d'un piège par hectare.

2.2.2. Lutte attracticide

La lutte attracticide reprend comme dans le piégeage de masse l'idée de la destruction des géniteurs. Dans ce cas, les mâles sont attirés par de la phéromone contenue dans une petite boule de gelée empoisonnée par un insecticide puissant. Les mâles leurrés entrent en contact avec la gelée et meurent dans les minutes qui suivent.

Au cours des cinq dernières années, les industriels du phytosanitaire ont mis au point des matrices d'une très bonne qualité quant à leur capacité de diffusion de la phéromone. Les insectes choisis pour développer cette technique, le carpocapse des pommes dans la plupart des cas ou les tordeuses de la grappe, n'étaient peut-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

être pas les meilleurs candidats du fait de la capacité des mâles à s'accoupler plusieurs fois. La technique n'a pas donné la protection exigée par la profession, bien qu'aucun essai n'ait été mené sur plusieurs années, ni combiné avec d'autres méthodes biologiques ou en appoint avec des traitements insecticides ciblés. Aucune des formulations n'a été à ce jour homologuée et de nombreuses recherches portent actuellement sur des attractifs pour les femelles. Les esters de poire, décrits comme attractifs (Light *et al.*, 2001), n'ont pas montré une grande efficacité et l'attraction des femelles reste un domaine à explorer.

2.2.3. La confusion sexuelle

Cette technique vise à brouiller la communication chimique entre les femelles et les mâles en appliquant, sur une unité culturale, une quantité importante de phéromone de synthèse. Cette technique affecte le comportement sexuel des mâles, qui sont alors incapables de localiser la femelle et donc de s'accoupler. Elle agit sur le comportement de l'insecte, et elle est parfois qualifiée de lutte éthologique. La technique est un excellent palliatif, en cas de résistance des insectes aux insecticides, et doit être considérée comme une méthode alternative dans le cas d'une agriculture conventionnelle. Par ailleurs, les résultats sont satisfaisants dans une structure de production biologique, où elle est largement utilisée en arboriculture et en viticulture.

Son application nécessite un suivi technique constant. Les résultats en termes de réduction des populations restent souvent inégaux et inférieurs à ceux qui sont obtenus avec les traitements insecticides conventionnels. L'absence de capture dans les piéges à phéromone placés dans les parcelles en confusion, indique bien que les mâles ne peuvent plus retrouver les femelles, mais ne garantit pas une efficacité complète. De ce fait, il est nécessaire de surveiller les attaques du ravageur ciblé mais aussi des autres ravageurs potentiels, qui ne sont pas pris en compte par la méthode.

Malgré les contraintes techniques, la méthode gagne des adeptes. En 2000, la superficie traitée en confusion représentait en Europe 64 000 ha répartis comme suit : 19 500 ha contre le carpocapse des pommes, 9 000 ha contre les tordeuses, 34 500 ha contre les tordeuses de la grappe (Jones, 2002).

2.2.3.1. Les diffuseurs

Les phéromones sexuelles sont des composés volatils, non solubles dans l'eau, et pour certains instables. Leurs formulations passent par la fabrication d'une solution titrée dans un solvant organique à laquelle certains fournisseurs ajoutent des anti-oxydants et de l'anti-ultra violet, pour pallier les problèmes d'instabilité des composés chimiques.

La technologie des diffuseurs a très peu évolué au cours des dix dernières années. Les micro-capsules, développées dans les années 80, ne sont plus utilisées bien qu'elles présentaient l'avantage d'être, pour la plupart, solubles dans l'eau et com-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

patibles avec une pulvérisation par du matériel agricole classique ou par voie aérienne. Ce type de diffuseur pouvait être intéressant pour constituer une multitude de sources susceptibles d'être chacune un leurre pour les mâles. D'autres formulations pulvérisables ont été expérimentées en grande culture avec succès. La phéromone est alors combinée avec un adjuvant qui favorise une émulsion aqueuse. Les résultats obtenus sur la sésamie du maïs sont intéressants (Albajes *et al.*, 2002). Mais l'épandage de ces formulations nécessite une homologation identique à celle d'un insecticide organique de synthèse, qui est, considération prise des marchés actuels, trop coûteuse pour les industriels.

Les diffuseurs des méthodes homologuées sont :

– de type « *sandwich* » constitués d'un polymère imprégné de phéromone pris en sandwich entre deux couches protectrices ;

– de type « *twist ties* » dans lequels des fibres creuses longues d'une quinzaine de centimètres, chargées de phéromone sont parcourues de fibre métallique permettant la fixation sur les rameaux ;

– les diffuseurs « réservoirs ».

Les recherches récentes portent sur des diffuseurs programmables par un système mécanique ou électronique (Baker *et al.*, 1997 ; Guillon, communication personnelle). L'avantage est alors de diffuser seulement pendant la courte période de reproduction qui est limitée chez les Lépidoptères à un moment particulier du jour ou de la nuit. La perte d'une grande quantité de phéromone est alors réduite, mais l'économie réalisée sur les phéromones compense à peine le coût d'un tel diffuseur.

La tendance actuelle, sous la pression des utilisateurs qui dans les pays européens ont une main-d'œuvre coûteuse, est de réduire le nombre des diffuseurs à environ une vingtaine par hectare. Ils sont alors fortement chargés, et les doses appliquées sont de l'ordre de 100 g à l'hectare.

Enfin, signalons une nouvelle technique, qui se sert des mâles comme agent de dissémination de la phéromone. Les mâles sont attirés dans des pièges qui contiennent de la phéromone incluse dans des fines particules. Par effet électrostatique, ils se chargent de ces particules et constituent alors une source odorante qui leurre les autres individus en quête d'une femelle.

2.2.3.2. Les mécanismes de la confusion sexuelle

La connaissance des mécanismes qui conduisent à la rupture de la communication chimique entre les sexes, suite à une application de la confusion sexuelle, est essentielle pour adapter la technique à l'insecte cible. Plusieurs mécanismes ont été envisagés par Cardé et Minks (1995) tels que : l'adaptation, l'habituation, la compétitivité entre les femelles et les différentes sources d'émission que représentent les diffuseurs, le déséquilibre de l'information chimique perçue par le mâle du fait de l'utilisation d'un mélange différent et enfin le camouflage du mélange naturel par la phéromone de synthèse (*cf.* chapitre 32).

Ameline *et al.* (2002) ont étudié une question qui se pose depuis longtemps : faut-il reproduire le plus fidèlement possible le mélange naturel ou appliquer un

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

mélange partiel ? Les formulations utilisées reproduisaient soit la phéromone émise par la femelle, soit un message imparfait avec seulement le constituant majoritaire (Z11-16 :Ac) ou seulement deux composés de la phéromone (Z11-16 :Ac et le Z11-16 :OH). Le mélange parfait attire les mâles alors que les deux dernières formules ne sont pas attractives en tunnel de vol. En étudiant la capacité des mâles à rejoindre une source naturelle de phéromone, encadrée par ces formulations de synthèse, il s'avère qu'à faible dose le mélange parfait entre en compétition avec la source naturelle et qu'il faut de fortes doses ponctuelles pour que les mâles soient désorientés. Par contre, avec les mélanges imparfaits, il n'y a pas de phénomène de compétition entre les sources de synthèse et les sources naturelles. Les mâles sont plus vite dans l'incapacité de localiser la source avec le mélange binaire qu'avec le composé majoritaire seul et cela pour des doses raisonnables. La surimposition au mélange naturel d'un mélange de synthèse imparfait induit alors un déséquilibre de l'information chimique perçue par le mâle, qui de ce fait, ne reçoit plus l'information satisfaisante pour déclencher les phases comportementales le menant à la femelle. La connaissance des mécanismes a permis de recommander un mélange binaire, incomplet par rapport à la phéromone naturelle. Des études complémentaires ont de plus démontré qu'un tel mélange avait pour second avantage de ne pas attirer les mâles des parcelles environnantes.

Les mécanismes décrits pour la sésamie du maïs ne sont pas généralisables à tous les Lépidoptères. Chez l'eudémis de la vigne, la formulation de synthèse reproduit la phéromone naturelle et la confusion est appliquée avec des diffuseurs très dosés. Dans ce contexte, le mécanisme relève de la compétition entre les diffuseurs et les femelles (Schmitd *et al.*, 1995). Les mécanismes impliqués dans la confusion sexuelle dépendent donc fortement de l'insecte, de la qualité et de la dose de la formulation de synthèse, et du nombre de diffuseurs.

Une bonne compréhension des mécanismes permet d'adapter la formulation tant en termes de qualité que de dose, de répartition et de quantité des diffuseurs. Elle a conduit à des expérimentations réussies.

3. *Paramètres de la communication chimique pouvant remettre en cause la réussite de l'utilisation des phéromones sexuelles*

L'utilisation des phéromones sexuelles a été très précoce par rapport à l'acquisition des connaissances sur les populations d'insectes, le comportement reproducteur, l'éco-éthologie, ainsi que sur la diffusion de ces molécules.

3.1. Populations phéromonales et variabilité intraspécifique

L'existence de races phéromonales au sein d'une même espèce n'est pas une connaissance nouvelle. Dès 1973, Klun *et al.*, montraient, par piégeage sexuel, qu'il

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

existait un polymorphisme phéromonal au sein d'une même espèce. La pyrale du maïs présentait aux États-Unis deux populations phéromonales pouvant s'hybrider et dépendantes en partie de la situation géographique. Pendant plus de dix ans, ce cas a été considéré comme une exception jusqu'à ce qu'il soit possible d'analyser individuellement les glandes productrices de phéromone, et de découvrir que ce phénomène était fréquent. Sans être toutefois général, il démontre l'existence d'un isolement reproducteur entre des populations appartenant à la même espèce (Krokos *et al.*, 2002).

En France, nous avons mis en évidence, très récemment, que les deux races phéromonales de la pyrale du maïs étaient séparées par une spécialisation à l'hôte. Les pyrales qui se développent sur le maïs réagissent, quelle que soit la zone géographique, aux phéromones de type Z, tandis que celles qui se développent sur le houblon, ou sur une plante sauvage, l'armoise, réagissent au type E. Les études du comportement des mâles nous portent à conclure que l'inter-fécondation entre les deux populations phéromonales est très peu probable. Ce point est confirmé par les analyses des phéromones d'individus appartenant à des populations caractérisées par leurs plantes hôtes et par leurs situations géographiques, où il n'apparaît que peu d'hybrides (Pelozuelo *et al.*, 2004). Cette situation, propre à la France, s'avère être différente en Italie et en Grèce où les deux populations phéromonales se développent sur le maïs avec une prédominance de la souche phéromonale de type E et la présence d'hybrides (Thomas *et al.*, résultats non publiés).

Dans le cadre des avertissements agricoles, le polymorphisme peut être un facteur limitant la justesse des informations données par le piégeage sexuel. Si l'on considère le cas de la pyrale du maïs, le piégeage sexuel dans les champs de maïs, avec la phéromone de type Z ne donnera pas la même information en France, en Italie et en Grèce. Ces nouvelles connaissances mettent en avant l'intérêt de l'étude du système phéromonal, non plus à partir de souche d'élevage, mais à partir d'individus prélevés dans la nature. La connaissance des systèmes de communication chimique de populations, définies par des caractéristiques écologiques et géographiques, est indispensable.

Le polymorphisme phéromonal n'est, fort heureusement, pas une généralité. L'étude de populations de sésamie issues de différents pays d'Europe montre une grande stabilité de la composition de la phéromone chez des individus prélevés sur le maïs (Krokos *et al.*, 2002). Néanmoins, ce paramètre doit être pris en compte pour les espèces concernées et des recherches sont menées actuellement sur différents ravageurs des cultures pour statuer sur le polymorphisme phéromonal.

3.2. Étho-écologie des populations de ravageurs

Suivant un schéma général, les Lépidoptères ravageurs se développent et se reproduisent dans les parcelles cultivées, et de ce fait, les praticiens placent les pièges destinés aux avertissements agricoles dans les cultures. Cette particularité est vraie pour la plupart des Lépidoptères, mais il a été mis en évidence que chez certaines espèces, les adultes quittaient les parcelles cultivées pour se reproduire ailleurs.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Des lâchers d'adultes de la noctuelle du chou, *Mamestra brassicae*, dans des parcelles non traitées, conduisent à très peu de recaptures dans des pièges appâtés par des femelles ou par des phéromones de synthèse : seulement 2 % de la population introduite artificiellement en dehors d'une période de vol naturel. Les battages des plantes pendant la période de reproduction confirment l'absence des adultes et démontrent que la noctuelle du chou ne reste pas dans les parcelles de choux pour l'épisode reproductif (Frérot, résultats non publiés). Ce cas n'est pas une exception. La pyrale du maïs n'est présente sur sa plante-hôte que lors de la ponte (Stockel *et al.*, 1985). Chez cette espèce, différents auteurs avaient décrit des regroupements de mâles et de femelles dans des zones herbacées et humides. Récemment, ces zones ont fait l'objet d'études et des accouplements ont été observés. La comparaison du nombre de captures dans les pièges à phéromone, placés dans les zones de culture et dans les zones herbacées, montre bien que pour surveiller les vols de cet insecte, il faut placer les pièges à l'extérieur des champs de maïs dans des zones herbeuses ou des fossés enherbés (Pélozuelo et Frérot, 2002). Ces deux exemples démontrent l'importance de la connaissance de l'éco-éthologie des populations de ravageurs pour un bon usage du piégeage sexuel. Il serait illusoire de suivre les vols avec des pièges à phéromone placés dans les cultures, ainsi que d'envisager de lutter contre la noctuelle du chou ou la pyrale du maïs par confusion sexuelle appliquée dans les parcelles cultivées.

Conclusion et perspectives

La manipulation des comportements induits par les odeurs d'un congénère, s'intègre parfaitement dans une démarche de protection intégrée des cultures et conduit à la mise sur le marché de méthodes de lutte contre les ravageurs, plus respectueuses de l'environnement et de la santé humaine. Plusieurs firmes ont homologué des formulations pour la confusion sexuelle. Cependant, l'usage fiable des phéromones de synthèse en protection intégrée ne peut s'envisager sans une connaissance parfaite du comportement des insectes, de leurs écosystèmes, de leurs déplacements et de la variabilité populationnelle. La restitution d'un message chimique fiable nécessite, en plus de l'identification des constituants, des études sur la diffusion des molécules intervenant dans un mélange phéromonal, et des connaissances approfondies du comportement d'attraction et d'atterrissage, afin de proposer des outils adaptés à l'espèce.

Les recherches actuelles ne sont plus restreintes à la rencontre des sexes et prennent en considération la globalité de l'écologie chimique des insectes ravageurs. Un intérêt particulier est porté aux substances chimiques qui permettent à l'insecte de reconnaître son hôte et de s'y développer. D'autres voies de recherche portent sur les signaux répulsifs informant l'insecte qu'il n'est pas sur la bonne plante ou qu'il fait fausse route dans sa quête d'un partenaire.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Le développement de la génomique de l'insecte, de la biologie moléculaire et de la biologie cellulaire, permettra de comprendre les processus impliqués dans la discrimination des odeurs, dans la synergie entre les odeurs, dans les phénomènes de répulsion. Ces recherches permettront de mieux gérer les méthodes de lutte décrites, voire d'en envisager de nouvelles et d'appréhender les capacités d'adaptation aux changements prolongés de l'environnement olfactif.

Références bibliographiques

Albajes R., Konsantopoulou M., Etcheparé O., Eizaguire M., Frérot B., Sans A., Krokos F., Ameline A., Mazomenos B. (2002). Mating disruption of the corn borer *Sesamia nonagrioides* (*Lepidoptera, Noctuidae*) using sprayable formulations of pheromone. *Crop Prot*, **21** : 217-225.

Ameline A., Frérot B. (2001). Pheromone blends and trap designs can affect catches of *Sesamia nonagrioides* in maize fields. *J Appl Entomol*, **125** :15-18.

Ameline A., De Vlieger J.J., Frérot B. (2002). Lutte par confusion sexuelle contre la sésamie du maïs : qualité du mélange et efficacacité. *In* 2e Conférence internationale sur les moyens alternatifs de lutte contre les organismes nuisibles aux végétaux. Association Française de Protection des Plantes (AFPP) Ed : 57-64.

Arn H., Toth M., Priesner E. (2000). List of sex pheromones of female Lepidoptera and related male attractants, Internet Edition : http ://www-pherolist.slu.se

Audemard H. (1996). L'estimation du risque dans la lutte contre le carpocapse. *Adalia*, **31** : 12-15.

Baker T.C., Mafra-Neto, Dittl T., Rice M.E. (1997). A novel controlled-release device for disrupting sex pheromone communication in moths. *IOBC/WPRS Bulletin*, **20** : 141-149.

Bartell R.J. (1982). Mechanism of communication disruption by pheromone in control of *Lepidoptera*: a review. *Physiol Entomol*, **7** : 353-364.

Butenandt A., Beckmann R., Stamm D., Hecker E. (1959). Uber den Sexual-Lockctoff des Seidenspinners *Bombyx mori*. Reindarstellung und Konstitutionsermittlung. *Z Naturforsch*, **14** : 283-284.

Cardé R.T., Minks A.K. (1995). Control of moth pests by mating disruption: successes and constraints. *Annu Rev Entomol*, **40** : 559-585.

Charmillot P.J., Pasquier D., Sauphanor B., Bouvier J.-C., Olivier R. (1999). Carpocapse des pommes : premier cas de résistance au diflubenzuron en Suisse. *Revue Suisse Vitic Arboric Hortic*, **31** : 129-132.

Frérot B., Malosse C., Cain A.H. (1997). Solid Phase Micro Extraction: A new tool in pheromone identification in Lepidoptera. *J High Resol Chromatogr*, **20** : 340-342.

Gaston L.K., Shorey H.H., Saario C.A. (1967). Insect population control by the use of sex pheromone to inhibit orientation between sexes. *Nature*, **213** : 1155.

Jones O.T. (2002). Commercialization of semiochemicals (an analysis of potential barriers to the commercial development of semiochemicals for crop protection). *Crop Protection monthly*, **148** : 1-14. http://www.crop.protection-monthly.co.uk

Klun J.A., Chapman O.L., Mattes K.C., Wojtkowski P.W., Beroza M., Sonnet P.E. (1973). Insect sex pheromones : Minor amount of opposite geometrical isomer critical to attraction. *Science*, **181** : 661-663.

Krokos F., Ameline A., Bau J., Sans A., Konsantopoulou M., Frérot B., Guerrero A., Eizaguire M., Malosse C. ; Etcheparé O., Albajes R., Mazomenos B. (2002). Comparative studies of female sex pheromone components and male response of the corn stalk borer *Sesamia nonagrioides* in three different populations. *J Chem Ecol*, **28** : 1463-1472.

Light D.M., Knight A.L., Henrick C.A., Rajapaska D., Lingren B., Dickens J.C., Reynolds K.M., Buttery R.G, Merrill G., Roitman J., Campbell B.C. (2001). A pear-derived kairomone with pheromonal potency that attract male and female codling moth, *Cydia pomonella* (L.). *Naturwissenschaften*, **88** : 333-338.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Milaire H.G. (1991). Vers l'équilibre : de la lutte raisonnée à la production intégrée. *L'Arboriculture fruitière*, **436** : 175-182.

Pélozuelo L., Frérot B. (2002). Comportement des males de pyrale du maïs *Ostrima nubilalis* (Hübner) vis-à-vis des pièges sexuels de type delta-englués et nasse. *In* 2e Conférence internationale sur les moyens alternatifs de lutte contre les organismes nuisibles aux végétaux. Association Française de Protection des Plantes (AFPP) Ed : 49-56.

Pélozuelo L., Malosse C., Genestier G., Guénégo H., Frérot (2004). Host-plant specialisation in pheromone strains of European corn borer *Ostrinia nubilalis* in France. *J Chem Ecol*, **2** : 335- 352.

Riba G., Silvy C. (1989). *Combattre les ravageurs des cultures : enjeux et perspectives.* INRA Éd, Paris.

Roelofs W. (1975). Manipulating sex pheromones for insect suppression. *In Insecticides of the future.* M. Dekker, New York, Jacobson M. Ed, 41-59.

Sauphanor B., Bouvier J.-C. (1995). Cross resistance between benzoylureas and benzoyhydrazines in codling moth, *Cydia pomonella* L. *Pestic Sci*, **45** : 369-375.

Shorey H.H., Gerber R.G. (1996). Use of puffers for mating disruption of sex pheromone communication of codling moth in walnut orchards. *Environ Entomol*, **25** : 1398-1400.

Schmidt V., Roehrich R., Stockel J. (1995). Étude du mécanisme de la confusion sexuelle pour l'Eudémis de la vigne *Lobesia botrana* (Den et Schiff) (*Lépidoptère, Tortricidae*). I- Rôles respectifs de la competition, du camouflage de la piste odorante et de la modification du signal phéromonal *J Appl Entomol*, **119** : 131-138.

Stockel J., Arnaud L., Peypelut L. (1985). Observation et essai d'interprétation des déplacements nocturnes des papillons de la pyrale du maïs *Ostrinia nubilalis* Hb. (*Lep. Pyralidae*) entre peuplement végétal refuge et maïs. *Biol Behav*, **10** : 169-182.

Witzgall P., Bengtsson M., El-Sayed A., Bäckman A.C., Rauscher S., Borg-Karlson A.K., Unelinus C.R., Löfqvist J. (1999). Chemical communication in codling moth: towards environnementally safe control methods. *IOBC/WPRS Bulletin*, **22** : 57-65.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Section 4

Stratégies génétiques

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

34

Génie biologique et phytoprotection

Yves Tourte

Les biologistes ont coutume de rassembler les acquisitions cognitives et les maîtrises qui en découlent sous le terme très général de « biotechnologies ». En réalité, les biotechnologies constituent un vaste domaine aux limites floues avec d'autres disciplines récemment développées comme la biologie moléculaire ou la biochimie des interactions biologiques. Elles reposent sur des connaissances approfondies concernant l'organisation des génomes, les étapes successives des chaînes métaboliques, les voies de biosynthèse et les cascades réactionnelles impliquées dans la transmission des informations. Le biochimiste les étudie en tubes à essais tandis que le biotechnologiste les contrôle au sein des systèmes vivants, comme les cultures cellulaires pro ou eucaryotiques. Ces deux approches ne s'opposent nullement mais, au contraire, se complètent heureusement. Il convient donc à la fois de parfaitement maîtriser les cultures cellulaires, la connaissance de l'ensemble des enzymes qui catalysent les étapes biosynthétiques et les gènes qui codent la synthèse de ces enzymes (Tourte, 2001, 2002, 2003b).

Les biotechnologies comprennent, en fait, trois pôles qui apparaissent aujourd'hui majeurs : le génie cellulaire, le génie enzymatique et le génie génétique. Ces trois disciplines sont devenues les auxiliaires précieux et incontournables des agronomes et en particulier de ceux qui s'investissent dans l'amélioration des plantes, que ce soit en amélioration du rendement ou en renforcement des qualités agronomiques de résistance face aux stress de toute nature auxquels les plantes dites « améliorées » peuvent se trouver confrontées au cours de leur cycle biologique. Si le rendement d'une culture est étroitement lié aux capacités intrinsèques du génome en matière de production de matière vivante, il l'est tout autant aux capacités de résistance vis-à-vis de ses parasites, prédateurs et ravageurs qui constituent des menaces permanentes et souvent grandissantes pour notre agriculture moderne.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Ces trois formes de « génie » (cellulaire, enzymatique et génétique) interviennent dans le domaine de la phytoprotection.

À cet égard, les plantes dites sauvages, c'est-à-dire celles appartenant à la flore spontanée, présentent une remarquable résistance à la grande majorité des stress abiotiques et biotiques comparée à la grande fragilité de la majorité des plantes cultivées dans les champs de la même aire géographique. L'agronome a toujours rêvé de concilier les caractères de rendement de la plante cultivée et de résistance de la plante sauvage. Pour cela, la seule méthode possible a été durant plus d'un siècle, c'est-à-dire depuis la découverte des lois de l'hérédité et ses applications à l'agronomie, celle du croisement par voie sexuée suivi de la sélection, parmi les descendants, des individus qui ont conservé l'essentiel des qualités agronomiques du géniteur cultivé et acquis la résistance du sauvage vis-à-vis du stress considéré. Il s'agit d'une technique efficace mais souvent de longue durée car elle nécessite généralement une dizaine de générations pour retrouver les caractères choisis, associés de façon stable. Parmi les différents types de croisements utilisés, le plus fréquent est le « croisement en retour » ou « *back cross* » avec, ici, croisement des individus issus de chaque génération avec le « parent amélioré », ce qui conduit à conserver majoritairement les qualités agronomiques de celui-ci et de n'y ajouter que relativement peu de caractères sauvages hormis celui de la résistance souhaitée.

Les techniques plus récentes, en fait disponibles depuis la fin des années 70, qui concernent la maîtrise du génome, notamment l'identification et l'isolement des gènes, associée aux techniques de transfert de ces gènes d'un individu à un autre en une seule opération, sont venues bouleverser ce schéma classique de l'amélioration des plantes. L'ensemble de ces techniques est très vite apparu comme idéal dans son principe, car pouvant parfaitement répondre au problème du transfert d'un caractère sous une forme à la fois efficace, très rapide et peu exigeante en investissement. Ainsi est née la transgénèse végétale avec son cortège d'attentes et d'espoirs mais aussi de difficultés et de controverses dans de nombreux domaines d'applications.

Voyons ce que ces techniques ont déjà apporté et ce que l'on peut encore sérieusement en attendre dans le domaine de la phytoprotection. Aussi, après un bref rappel des principes et méthodes du génie biologique appliqués au transfert et à l'acquisition des caractères de résistance, nous ferons un rapide bilan des progrès enregistrés dans la lutte contre les stress biotiques et abiotiques.

1. Rappel des principes et méthodes du génie biologique

1.1. Les gènes de résistance : bref rappel de l'organisation et du fonctionnement d'un gène

Les résistances aux stress sont généralement de nature monogénique lorsqu'elles sont majeures, et multigénique lorsqu'elles ne sont que partielles (Greenberg, 1997 ;

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Durel et Parisi, 2001). Il faut cependant signaler que, dans les cellules végétales, les difficultés d'analyse et de transfert des caractères de résistance sont accrues par la présence dans ce type de cellules, des génomes plastidiaux et mitochondriaux, qui interviennent à côté du génome nucléaire et qui augmentent la complexité de l'analyse de l'héritabilité de ces caractères et des contrôles génomiques correspondants.

La maîtrise d'un gène fonctionnel implique à la fois une connaissance précise de ses éléments constitutifs : promoteur, séquence codante et terminateur, ainsi que des séquences qui assurent le contrôle de son fonctionnement. Quelles que soient leurs fonctions, les gènes sont construits sur le même principe. Chacun d'eux correspond à une séquence linéaire d'ADN de quelques centaines à quelques milliers de paires de bases (Callen, 1999).

Le promoteur, de quelques dizaines de paires de bases est situé en amont et se reconnaît à la présence de quelques séquences caractéristiques, comme la « *CAAT box* » et la « *TATA box* » qui sont des séquences de fixation de l'ARN polymérase et d'autres facteurs transcriptionnels. Le fonctionnement du promoteur est souvent contrôlé par la présence de messages venant du noyau, du cytoplasme ou de la membrane plasmique de la cellule. Il peut également être induit par des variations de conditions externes et en particulier par des messages venant du prédateur lui-même ou en réponse à l'attaque de ce dernier. Le promoteur est alors dit « inductible » et son activité se démarque d'autres promoteurs insensibles aux conditions environnementales et qui fonctionnent en toutes circonstances. C'est le cas de certains promoteurs viraux dits « promoteurs forts » ou « non inductibles ».

La séquence codante ou « cadre de lecture » est la partie transcrite en ARN messagers ou ARNm. Elle débute par un codon d'initiation, souvent un ATG, se poursuit sur quelques centaines à quelques milliers de paires de bases et se termine par un codon de terminaison tel qu'UGA, UAG ou UAA. L'ARN qui est transcrit à partir de cette séquence constitue un « messager » primaire qui subit très souvent une maturation caractérisée notamment par l'excision des introns suivie de l'épissage des exons, ceci avant d'être traduite en une protéine spécifique. La protéine migre ensuite dans différents compartiments cellulaires en fonction du « signal d'adressage » qu'elle possède dans sa partie antérieure (Callen, 1999 ; Tourte, 2003a).

Le terminateur provoque l'arrêt de la transcription et le détachement des facteurs qui en assuraient la lecture. On le reconnaît souvent à un « site de polyadénylation » qui fixe une « queue polyA » au messager.

Les séquences de contrôle du fonctionnement du gène ne sont pas des éléments constitutifs de celui-ci. Elles peuvent être situées en amont du promoteur mais aussi dans des régions très éloignées du gène et notamment sur d'autres chromosomes.

Pour être fonctionnel, le gène doit obligatoirement associer dans le bon ordre, ces trois régions fondamentales mais l'expérimentateur peut également construire des gènes artificiels fonctionnels, qui peuvent provenir de différents organismes pro ou eucaryotiques, en associant ces trois séquences ou régions dans le bon ordre. On peut aussi remplacer l'une des régions par une séquence synthétique à condition

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

toutefois de respecter certaines règles d'organisation de l'élément remplacé. La séquence codante peut être également remplacée par un ADN copie dont la synthèse a été réalisée *in vitro* à partir d'un messager grâce à une « *transcriptase reverse* ». On obtient ainsi des gènes chimères parfaitement fonctionnels. L'utilisation d'un promoteur fort assure une synthèse maximale quelles que soient les conditions environnementales du gène. Au contraire, le choix d'un promoteur inductible permet au généticien de moduler l'activité du gène en fonction de certaines circonstances particulières bien précises (Griffiths *et al.*, 2001).

1.2. Le transfert d'un gène de résistance

L'acquisition d'un caractère de résistance à des prédateurs par une plante cultivée peut se faire par le transfert d'un gène connu pour être impliquée dans le mécanisme de cette résistance. Il s'agit d'une opération relativement complexe et soumise à certains aléas que l'expérimentateur doit chercher à limiter. Pour que l'opération puisse être considérée comme un succès, il faut envisager d'effectuer successivement :

– l'identification de la séquence d'ADN correspondant à la résistance souhaitée ;

– l'incorporation de cette séquence entre un promoteur et un terminateur dans un vecteur de clonage puis dans un vecteur de transfert ;

– le transfert proprement dit dans des cellules réceptrices par voie directe ou indirecte ;

– les contrôles de la présence et du fonctionnement du gène transféré ou « transgène » (présence des messagers et des protéines spécifiques). Ces contrôles sont souvent facilités par le co-transfert d'un second gène dit gène rapporteur ;

– la régénération de la plante transformée à partir des cellules génétiquement modifiées ;

– le contrôle de la stabilité du transgène à travers les générations successives, notamment lors des méïoses précédant la reproduction sexuée.

D'autres contrôles peuvent concerner la présence ou non de substances nouvelles, inattendues ou toxiques.

Voyons quelques détails de chacune de ces opérations.

1.2.1. Identification du gène de résistance à transférer

Il s'agit de la première opération mais aussi de la plus délicate à réaliser même si, depuis la fin de l'an 2000, les chercheurs disposent de la séquence pratiquement complète du génome d'une petite plante modèle : la crucifère *Arabidopsis thaliana* que l'on désignera par « l'*Arabidopsis* » dans la suite de ce texte (Schmidt, 1998 ; Buell, 1998). En fait on ne connaît encore qu'un nombre très réduit de séquences correspondant précisément à des résistances à l'égard de pathogènes identifiés. Ainsi, la recherche de ces séquences susceptibles d'induire une forme particulière de résistance à un parasite donné peut se présenter sous différentes modalités. Dans tous les cas, il est nécessaire de disposer d'une banque d'ADN d'une plante

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

connue et relativement peu ou pas sensible à toutes sortes d'agressions. C'est, par exemple, le cas de l'*Arabidopsis* car il s'agit d'une plante sauvage commune et rustique, relativement épargnée par les parasites. On peut légitimement penser que cette plante possède un certain nombre de gènes protecteurs vis-à-vis des parasites les plus fréquemment rencontrés dans la nature et au cours de son cycle de vie. Les chercheurs disposent aujourd'hui d'un certain nombre de banques d'ADN de diverses espèces de plantes (tabac, pomme de terre, tomate, riz, maïs, blé, melon, radis, colza, choux, etc.).

Il existe en fait deux types de banque d'ADN : les banques génomiques et les banques d'ADN copies ou ADNc. Dans le premier cas, la totalité de l'ADN est extraite des tissus de jeunes plantes en pleine croissance. Cet ADN est ensuite découpé en petits fragments à l'aide d'enzymes de restriction. Les fragments doivent être suffisamment petits, de l'ordre de quelques centaines ou milliers de paires de bases (pb), pour pouvoir être ensuite insérés dans des plasmides. Leur taille doit être suffisamment grande cependant pour qu'ils puissent renfermer un gène ou un petit nombre de gènes. L'insertion dans les plasmides se fait au hasard par une opération classique en biologie moléculaire de coupure suivie de ligation. Ces plasmides modifiés sont ensuite réintroduits dans des cellules bactériennes qui vont se multiplier et donner naissance, chacune, à une colonie. On a ainsi multiplié à l'identique ces plasmides, c'est-à-dire que l'on a procédé au clonage du gène. Ces colonies bactériennes constituent une banque d'ADN génomique. Toutefois, chez les eucaryotes dont les gènes sont généralement éclatés, l'exploitation de ces banques est parfois délicate, et on leur préfère alors les banques d'ADNc dans lesquelles seules sont présentes les séquences codantes parce qu'elles sont réalisées à partir des messagers, après maturation c'est-à-dire après l'excision des introns (Minet *et al.*, 1992). La majorité des étapes de construction de la banque est identique à la précédente, à l'exception des toutes premières, puisque l'on part, non plus de l'ADN, mais des messagers présents à un stade de développement donné. Cependant, seuls les gènes en activité y sont représentés, ce qui confère l'avantage de ne devoir rechercher une séquence qu'au sein d'un nombre plus limité de fragments. La banque ne renfermera pas les gènes qui, bien que présents dans les cellules de la plante, ne présentent aucune activité de transcription au moment du prélèvement ; l'activité étant décalée dans le temps et souvent reportée à un stade ultérieur du développement. Par exemple, si l'on part des messagers de plantules, aucun des gènes correspondant à la floraison ne sera présent dans la banque. Si ces gènes doivent être étudiés, il faudra alors recourir à une autre banque, réalisée à partir de tissus floraux.

La recherche du gène au sein de la banque choisie constitue l'étape suivante. Le chercheur se trouve alors dans diverses situations :

– premier cas : il connaît, chez une autre espèce (pouvant être *A. thaliana* par exemple), une séquence codant la résistance recherchée ou présentant des caractéristiques assez proches de celle-ci. Il peut alors rechercher le gène concerné au sein de la banque à l'aide d'une sonde d'ADN complémentaire du gène connu, marquée par un fluorochrome (sonde froide) ou par un radiotraceur (sonde chaude). Ce n'est qu'après transfert de la séquence dans une culture cellulaire appropriée, qu'il pourra

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

constater ou non la présence d'une propriété nouvelle acquise vis-à-vis du parasite et ainsi conclure au succès de sa recherche ;

– deuxième cas : il ne connaît qu'une partie seulement de la séquence mais elle correspond au début de la séquence du gène. Cette petite séquence peut néanmoins lui servir d'amorce dans une opération d'amplification de fragments d'ADN par PCR (*polymerase chain reaction*) à l'aide d'un thermocycleur. Grâce à une telle opération, le chercheur peut disposer de fragments, de taille variable, et possédant en commun la séquence de départ. Il lui faudra encore trier, parmi ces fragments, ceux qui, par transfert dans des colonies cellulaires, confèrent à leurs cellules-hôtes le caractère de résistance recherché ;

– troisième cas : le caractère recherché est dû à la présence d'une protéine enzymatique dont on connaît les effets spécifiques chez le parasite. C'est par exemple le cas de la β 1-3-gluconase et des chitinases qui attaquent indifféremment tous les hôtes dont la protection cellulaire est assurée par une couche de chitine. C'est le cas des insectes phytophages mais aussi celui de nombreux champignons pathogènes. On sait que tous les enzymes qui appartiennent à la famille des chitinases possèdent des sites actifs – sites catalytiques, sites de fixation des cofacteurs – dont on connaît, à la fois, la séquence en acides aminés et la position à l'intérieur de la chaîne protéique. Ces éléments vont déterminer les modalités de construction de sondes qui permettront de retrouver toutes les séquences génomiques répondant à ces critères d'organisation ;

– quatrième cas : on ne connaît pratiquement rien du gène recherché mais on dispose de mutants sensibles de l'espèce sauvage ; par exemple, une souche d'*Arabidopsis* sensible à une maladie à laquelle l'équivalent sauvage est manifestement résistant. Une culture cellulaire réalisée à partir de cette souche sauvage permet de procéder à une opération de complémentation fonctionnelle. Pour cela, il est alors nécessaire d'introduire, au hasard, des fragments d'ADN de la banque jusqu'à ce qu'un petit nombre de cellules transformées donne naissance à des colonies cellulaires résistantes, rétablissant ainsi le caractère sauvage de la culture cellulaire. On peut légitimement supposer que le fragment introduit présente une séquence correspondant au gène de résistance recherché. De telles démarches sont grandement facilitées lorsque l'on recherche un gène du métabolisme commun à la majorité des êtres vivants. On peut alors réaliser la complémentation fonctionnelle chez la levure de boulangerie, *Saccharomyces cerevisiae*, dont on connaît de multiples mutants. À noter que ces phénomènes de complémentation fonctionnelle sont des événements relativement rares au sein d'une culture mais cette difficulté est contournée en travaillant toujours sur un très grand nombre de cellules.

1.2.2. Construction et transfert du gène chez le receveur

Les séquences codantes des gènes ainsi identifiées doivent être introduites dans des systèmes qui vont en assurer le transfert et l'expression, et permettre la sélection des cellules transformées. C'est le rôle du vecteur dont la construction doit assurer ces trois fonctions. Lorsqu'il s'agit, comme c'est souvent le cas, d'un plasmide bac-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

térien avec son origine de réplication, il sera aisé d'en assurer le clonage au moyen d'une colonie bactérienne en croissance. La séquence codante sera placée entre un promoteur et un terminateur devant assurer l'activité transcriptionnelle, c'est-à-dire fonctionnelle du gène. On choisit généralement un promoteur fort, c'est-à-dire insensible aux contrôles que pourrait exercer la cellule-hôte. Par exemple, on a souvent recours au promoteur du gène codant la synthèse de la protéine 35S de la capside du virus de la mosaïque du chou-fleur (en abrégé : CaMV 35S). Dans d'autres cas, des promoteurs inductibles sont choisis afin que l'expression puisse être contrôlée à volonté. Le gène de résistance, comme tout gène d'intérêt, est souvent associé à un second gène qui est destiné à faciliter la sélection des cellules réellement transformées après l'opération de transfert. Ce second gène ou gène rapporteur (ou encore gène *reporter*) doit conférer à la cellule transformée un caractère facile à mettre en évidence :

– comme l'acquisition d'une résistance à un antibiotique, telle la kanamycine (Bevan, 1984) ou l'ampicilline, ou à un produit herbicide (glyphosate, bromoxynil) ;

– ou encore la capacité à réaliser une réaction colorimétrique facile à mettre en œuvre.

Seules les cellules transformées survivent en présence de l'antibiotique et la sélection est immédiate. Dans le cas d'une réaction colorimétrique, seules les cellules colorées en bleu au sein d'un tissu sont les cellules transformées, si par exemple on a eu recours au gène rapporteur de la β-glucuronidase.

1.2.2.1. Le transfert direct

Le transfert d'une partie de cette construction est possible par les méthodes dites de transfert direct (figure 1). Ces méthodes comprennent différentes modalités qui varient avec le type de cellules réceptrices du plasmide. Chez les bactéries, il suffit de perméabiliser la membrane plasmique par des sels de calcium associés à un choc thermique ou par une décharge électrique appelée électroporation. Chez les levures, on a plus généralement recours à des sels de lithium mais l'électroporation peut être également utilisée à condition de traiter la paroi par des enzymes chitinolytiques de façon à obtenir des protoplastes.

En ce qui concerne les végétaux, les chercheurs disposent de plusieurs techniques de transfert direct, dont certaines ne sont que des adaptations des précédentes aux spécificités de la cellule végétale. L'électroporateur peut être utilisé de deux façons. La première est voisine de celle utilisée pour les levures. Seules l'intensité et la durée du choc électrique demandent à être adaptées et, là encore, les cellules doivent faire place à des protoplastes (Tourte, 2000) dont il faut utiliser de grandes quantités pour obtenir un nombre suffisant de transformants car les protoplastes transformés ne sont pas tous capables de régénérer une nouvelle plante. La seconde utilisation de l'appareil consiste à le considérer comme un « électrofusionneur ». Le choc électrique est destiné à obtenir une fusion entre deux types cellulaires à l'état de protoplastes présents dans la suspension. Il y a des fusions homologues entre cellules appartenant au même type mais également des fusions hétérologues conduisant à

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

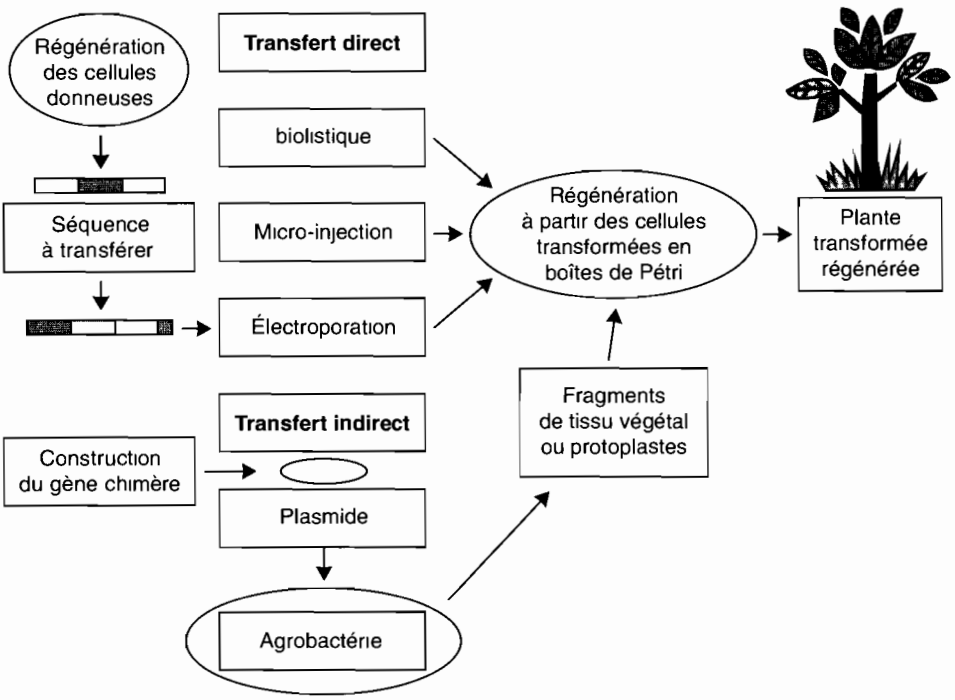


Figure 1 ■ Schéma général concernant les techniques directes et indirectes de transfert d'un gène chez une plante.

la naissance d'hybrides somatiques (cellules à 4n chromosomes) ou seulement à des cybrides (cellules à 2n chromosomes mais à double patrimoine mitochondrial et plastidial). Le choc électrique peut également être employé pour obtenir la fusion de protoplastes d'un seul type avec des liposomes contenant le transgène. Ces fusions peuvent être facilitées par la présence d'une solution concentrée de polyéthylène glycol (PEG) – jusqu'à 30 % – qui neutralise les charges négatives situées sur la face externe de la membrane plasmique. D'autres chercheurs neutralisent ces charges par des courants électriques à hautes fréquences.

Dans certains laboratoires, les chercheurs transforment les cellules en ayant recours à la micro-injection. Cette opération est réalisée sous microscope à l'aide de micro-seringues et de micro-aiguilles déplacées avec précision grâce à un micro-manipulateur. L'injection se pratique en conditions stériles sur des protoplastes de grande taille obtenus à partir de cellules du parenchyme palissadique foliaire. L'injection se fait dans le noyau après immobilisation du protoplaste à l'aide d'une micro-canule. Cette technique demande une longue pratique et un chercheur particulièrement entraîné ne peut pratiquer qu'une centaine d'injections par jour, mais, dit-on, avec parfois près de 60 % de succès. Elle paraît aujourd'hui assez peu pratiquée.

Dans les années 1986-87, une nouvelle technique est née de la rencontre d'un biologiste et d'un spécialiste de la balistique. Cette collaboration a engendré une

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

nouvelle méthodologie : la biolistique (Sanford *et al.*, 1991). Il s'agit d'une technique de transfert originale utilisant l'énergie cinétique de la décharge d'une arme à feu (au départ un fusil 22 LR), aujourd'hui d'une bouteille d'azote liquide. L'ADN porteur du transgène est adsorbé à la surface de micro-billes métalliques (tungstène ou or) à l'aide de spermidine . La détente d'une petite quantité de gaz sous pression (environ 7 à 8 bars) projette ces micro-billes sur une cible constituée par un fragment de tissus du végétal à transformer. Une rondelle de parenchyme foliaire découpée à l'aide d'un emporte-pièce convient parfaitement, une suspension de protoplastes également. Toute la manipulation se fait en conditions stériles sous hotte à flux laminaire. Les micro-billes pénètrent de façon aléatoire dans les cellules plus ou moins superficielles et achèvent leur trajectoire au hazard dans les différents compartiments cellulaires, y compris le noyau et les organites cytoplasmiques. Dans un tout petit nombre de cas, l'ADN libéré par le projectile s'exprime de façon transitoire et parfois même s'intègre au génome. Il est bien sûr indispensable de multiplier les cibles et les impacts pour n'obtenir, malgré cela, qu'un nombre assez faible de transformations. Cependant, cette technique est la seule qui puisse aboutir à la transformation du génome nucléaire mais aussi du génome des organites cytoplasmiques. Également utilisable en transgénèse animale, elle est d'usage courant dans de nombreux laboratoires d'amélioration des plantes, notamment pour les graminées et autres monocotylédones assez récalcitrantes aux techniques de transfert indirect. Cette technique a donné de bons résultats pour le transfert de résistance à des antibiotiques dont les gènes sont souvent portés par les organites cytoplasmiques.

1.2.2.2. Le transfert indirect

La transgenèse est une technique qui apparaît aujourd'hui nettement plus avancée dans le règne végétal que dans le règne animal. Cette avance est essentiellement due aux techniques de transfert indirect qui sont incontestablement plus riches dans le premier que dans le second règne et, en particulier, grâce à l'utilisation des « agrobactéries ».

Dans le transfert indirect, la transformation est confiée à un agent infectieux capable d'envahir les cellules du tissu-cible et d'incorporer une partie de son génome au génome des cellules réceptrices. C'est le cas, par exemple, dans les deux règnes, des virus. Aussi a-t-on mis au point des techniques de « transfection » en ayant recours à des virus envahissants mais pourvus d'une totale inocuité ou présentant une très faible toxicité pour les cellules infectées. Certains de ces virus ont été modifiés pour devenir des vecteurs de transfert de gènes chez les plantes. On peut citer, par exemple, le virus de la mosaïque du tabac (TMV) ou du choux-fleur (CaMV). Ces vecteurs viraux se présentent généralement sous la forme de plasmides contenant la séquence complète de l'ADNc du gène d'intérêt associé à un gène de sélection pour réaliser leur clonage dans une bactérie. L'ensemble est placé en aval du promoteur du gène de la protéine de la capside virale. On utilise également des géminivirus qui, eux, sont des virus à ADN mais dont les deux chaînes ne s'apparient pas. L'une porte le caractère infectieux et l'autre le système de réplication dans la cellule

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

végétale. On remplace une partie de l'ADN codant pour les protéines de l'enveloppe par le transgène. La technologie des vecteurs viraux, après avoir bénéficié d'un certain succès, a connu une période d'éclipse relative mais semble à nouveau d'actualité dans certains laboratoires.

Le succès de la transgénèse indirecte chez les végétaux est en fait essentiellement dû à l'utilisation de vecteurs construits sur le modèle des plasmides des bactéries appartenant au genre *Agrobacterium*. On ne dispose pas d'équivalent dans le règne animal. Ces bactéries sont connues pour être à l'origine de maladies graves qui affectent un certain nombre de plantes dicotylédones ; « maladie du *crown gall* », par exemple, qui se traduit par une prolifération cellulaire anarchique de type cancer chez les plantes qui en sont victimes. Des recherches précises ont montré que ces bactéries infectieuses incorporent au génome de l'hôte une partie d'un grand plasmide qu'elles renferment, le plasmide *Ti*, pour *Tumor inducing*. L'ADN transféré (ADN_t) possède tous les gènes nécessaires à son transfert de la bactérie au noyau de la cellule de l'hôte, puis à son incorporation dans le génome, ainsi qu'à sa réplication et à la synthèse de protéines qui ont pour objet le détournement du métabolisme de l'hôte au profit des bactéries (oncogènes). L'idée d'utiliser cette propriété pour transférer des gènes est venue dans les années 80, mais il convenait de modifier le plasmide et en particulier de retirer les oncogènes pour les remplacer par les gènes à transférer. C'est ainsi qu'est né le « système *Agrobacterium* » auquel a recours la grande majorité des chercheurs aujourd'hui. Dans un premier temps, la transformation était réalisée par « co-intégration » mais la taille des plasmides-vecteurs due à la taille de l'ADN du vecteur bactérien rendait la technique délicate. Elle introduisait, de plus, dans le génome végétal une origine de réplication bactérienne. On lui préfère, aujourd'hui, le « système binaire » dans lequel l'agrobactérie domestiquée possède deux plasmides, l'un portant les gènes de virulence nécessaires à l'infection du tissu végétal par les bactéries, et le second, le transgène placé entre les deux « bordures » de l'ADN_t. Ces bordures sont de courtes séquences situées de part et d'autre de l'ADN_t et indispensables au transfert de cet ADN_t de la bactérie au génome nucléaire de la plante.

Les chercheurs disposent maintenant de diverses espèces d'agrobactéries qui ont permis d'augmenter le nombre d'espèces-cibles essentiellement parmi les dicotylédones. Des modifications apportées aux vecteurs autorisent depuis peu l'utilisation de ce système pour la transformation de certaines monocotylédones, notamment des graminées.

Certains chercheurs ont réussi à marier le système « *Agrobacterium* » et la biolistique. Les projectiles blessent les cellules-cibles favorisant l'envahissement par les agrobactéries. On parle alors d'« agrolistique ».

1.2.3. Régénération de la plante et comportement du transgène

Sitôt les opérations de transfert du gène réalisées, il faut procéder à la régénération de la plante à partir des cellules transformées et d'elles seules. L'un des risques encourus est l'obtention de plantes chimères qui s'édifient à partir de cel-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

lules transformées et non transformées, les secondes ayant souvent un avantage sélectif par rapport aux premières et devenant ainsi rapidement majoritaires au sein des tissus de la plante néoformée. Le gène rapporteur s'avère un auxiliaire précieux pour distinguer ces caractéristiques du développement.

La régénération des plantes correspond souvent à des manipulations lourdes et complexes sans bases scientifiques très rigoureuses. Son succès réside principalement dans l'utilisation de milieux et de conditions de cultures *ad-hoc*. Il existe des recettes pour la composition globale des milieux de culture en macro et micro-éléments, vitamines et hormones (milieux de Gamborg, de Murashige et Skoog, de Nitsch, de Kao, par exemple, Yeomann ; 1968). Mais la composition précise doit être affinée pour chaque espèce, voire chaque cultivar. Ces milieux doivent favoriser à la fois la multiplication et la différenciation des cellules pour réaliser l'ontogenèse souhaitée. L'édification même de la plante peut se faire selon plusieurs schémas que l'on peut qualifier d'« embryogenèse directe » lorsque les étapes du développement miment le développement de l'embryon issu de la reproduction sexuée et d'« embryogenèse indirecte » lorsque le développement de l'embryon somatique est précédé par la formation de cals qui deviennent poly-embryogènes par la suite.

1.2.4. Contrôles

Le succès d'une opération de transgenèse nécessite divers contrôles au niveau de la plante régénérée. Il faut notamment vérifier : la présence du transgène et déterminer si possible le nombre de copies ; puis son aptitude à la transcription à travers la présence de messagers ou de protéines correspondantes ; enfin, sa stabilité à travers les processus de la reproduction sexuée. La présence du gène rapporteur est, certes, un élément de présomption de celle du transgène mais on sait qu'il peut y avoir, dans quelques rares cas, une rupture de la liaison gène rapporteur-transgène ou un transfert partiel de l'ADN_t. La recherche de la présence du transgène lui-même se fait par hybridation avec une sonde complémentaire après transfert sur une membrane de l'ADN de la plante transformée. Ces contrôles doivent être répétés chez les descendants des différentes générations issues de la reproduction sexuée de la plante régénérée afin de vérifier la stabilité du transgène au sein du génome sachant que le transgène suit naturellement les règles de ségrégation mendéliennes des caractères. Ces contrôles peuvent être allégés pour les gènes de résistance puisque l'expression du caractère constitue finalement le critère essentiel à considérer.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

2. *La lutte contre les stress biotiques*

2.1. La lutte contre les viroses

Les maladies provoquées par les virus végétaux à ADN ou à ARN représentent une part importante de la pathologie des plantes de grandes cultures. L'accumulation de plusieurs viroses peut être à l'origine de la dégénérescence d'une variété appréciée et cultivée sur une grande échelle. Ce fut le cas, par exemple, de la pomme de terre dite « Belle de Fontenay » dans les années 40. Sa « guérison » constitue l'un des premiers exemples d'application des biotechnologies à la résolution d'un problème de phytopathologie.

On dispose actuellement de plusieurs stratégies relevant du génie cellulaire et du génie génétique.

La thermothérapie est une technique traditionnelle de lutte contre les viroses mais les résultats sont souvent aléatoires et peu convaincants. Dans les années 50, partant du fait que les virus n'envahissaient jamais les régions méristématiques des plantes, Morel et Martin (1952) mettent au point une technique d'élimination des virus par culture *in vitro* de méristèmes caulinaires suivie de régénération de la plante (pomme de terre, dahlia, asperge). Les plantes régénérées sont ainsi débarrassées des virus qui les affectaient mais ne sont pas à l'abri d'une nouvelle invasion. Il faut, dans certains cas, repasser périodiquement par ces techniques de culture *in vitro* pour maintenir l'état sanitaire de la variété.

La biologie moléculaire, et la transgenèse en particulier, apportent aujourd'hui des solutions dans la lutte contre les virus. On a ainsi pu isoler, chez les virus à ARN, une séquence d'ARN correspondant à la production d'une protéine de la capside. La molécule d'ADNc obtenue par la transcriptase réverse à partir de cet ARN a pu être transférée dans le génome de la plante hôte qui, ainsi transformée, est devenue résistante au virus. Ce caractère s'est avéré rester stable à travers plusieurs générations. On dispose actuellement de diverses variétés de tabac (Wang *et al.*, 1998), de pomme de terre (Tacke *et al.*, 1996), de riz (Pinto *et al.*, 1999), de concombre, de piment, de tomate (Adkins *et al.*, 1995), de courgette, de melon (Chawla, 2002) ainsi protégées des viroses correspondantes. La ressemblance du traitement avec une vaccination fait que l'on désigne les produits des transgènes antiviraux sous le vocable de « planticorps » rappelant les anticorps des animaux. On ne connaît pas encore bien les mécanismes précis de la protection, hésitant entre une perte de reconnaissance du virus par la plante ou une saturation des sites de décapsidation du virus des cellules transformées devenues ainsi incapables de décapsider les nouveaux virus envahissants. Le processus de décapsidation étant un préalable indispensable à la multiplication des virus.

Une nouvelle technique est apparue récemment. Elle repose sur le principe de « l'inhibition épigénétique de la transcription » par un mécanisme « d'interférence ARN ou ARNi » (Hutvàgner et Zamore, 2002 ; Michot et Gautheret, 2002). L'expression d'un gène peut être bloquée si l'on introduit de l'ARN double brin

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

(RNA_{ds}) de séquence identique au messager simple brin du gène cible. La cellule réagit alors en détruisant les ARN messagers simple brin de ce même gène provoquant son extinction post-transcriptionnelle. Le processus de dégradation est encore mal connu mais peut être approximativement schématisé ainsi (figure 2) : l'ARN

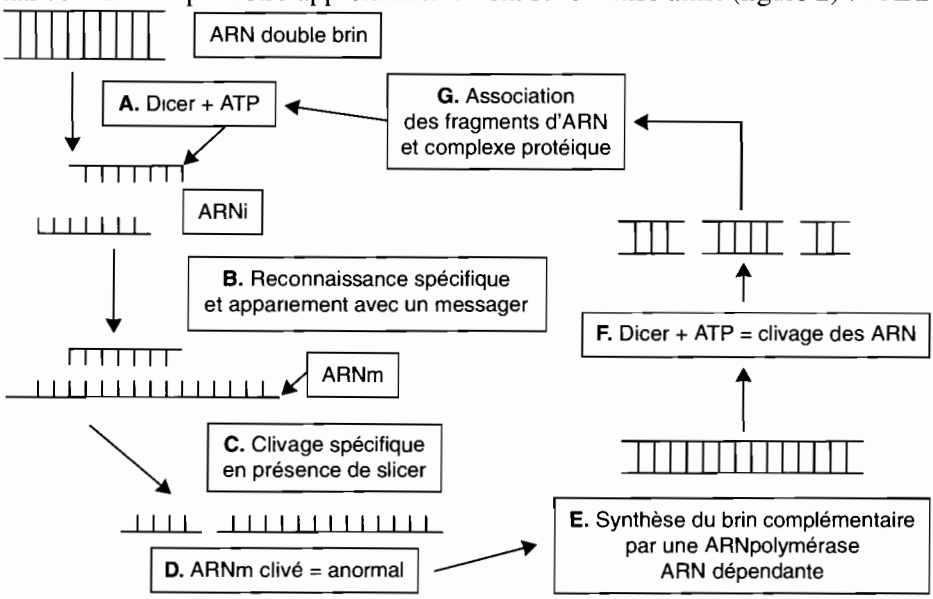


Figure 2 ■ Schéma simplifié de la technique des ARNi selon Hutvàgner et Zamore (2002).

double brin serait découpé en petits fragments d'une vingtaine de nucléotides avec trois nucléotides non appariés aux extrémités 3' : les ARN_{si}. Ces coupures sont réalisées en présence d'ATP (adénosine triphosphate) par une enzyme nommée Dicer (A) (ARN_{ase} III endonucléase spécifique des doubles brins). Ces fragments s'associeraient à un complexe protéique qui, en présence d'ATP, générerait ses simples brins capables de reconnaître les séquences homologues sur l'ARN cible (B), puis de les cliver grâce à une enzyme « *slicer* » présente dans le complexe protéique (C), générant ainsi des ARN anormaux (D). Ce processus serait amplifié par des ARN polymérase – ARN dépendantes, productrices d'ARN double-brins (E) et qui serviraient de base au complexe enzymatique Dicer pour générer d'autres ARN_{si} (F).

On connaît de telles ARN polymérases chez *Arabidopsis*. Ce nouveau mode de répression post-transcriptionnelle devrait être, lorsqu'il sera mieux connu, un excellent modèle de lutte contre les infections virales mais aussi parasitaire.

On a également signalé l'acquisition de résistances secondaires aux virus à la suite de l'acquisition de résistances à certaines maladies cryptogamiques et ceci sans que l'on ait réussi à en identifier les véritables mécanismes.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

2.2. La lutte contre les maladies cryptogamiques

Les maladies des plantes cultivées provoquées par les champignons sont très nombreuses et souvent très graves. On estime qu'elles peuvent être à l'origine de pertes pouvant aller jusqu'à 40 % des récoltes. Au XIX^e siècle, elles furent responsables de grandes famines comme celle qui entraîna une forte émigration des Irlandais vers l'Amérique à la suite d'une sévère attaque des cultures de pommes de terre par l'agent du mildiou. Actuellement, l'arsenal de lutte chimique antifongique est important et efficace mais il est coûteux pour l'agriculteur en terme d'intrants et, pour la société, en terme de pollution des sols et des nappes phréatiques. L'agronome cherche à réduire ces inconvénients en ayant recours à des variétés génétiquement résistantes ou en rendant résistantes les variétés habituellement cultivées. Cette dernière démarche peut se faire par hybridations successives suivies de rétrocroisements avec des lignées sauvages ou par transfert de gènes de résistance par génie génétique.

Dans ce dernier domaine, il existe plusieurs stratégies dont le succès repose souvent sur le recours à plusieurs démarches selon le niveau et le type de protection souhaitée : générale ou spécifique, préventive ou curative. Ces technologies s'inspirent des mécanismes naturels de défense chez les plantes. Ces mécanismes sont aujourd'hui relativement bien connus et ils dépendent de la nature du pathogène, au cours de l'une des phases précoces ou tardives de l'invasion. Dans toutes les attaques cryptogamiques, on distingue habituellement trois phases qui correspondent à la mise en œuvre de trois programmes de défense : la phase de contact et de reconnaissance du pathogène, l'activation des cascades de réactions dans les cellules en contact avec le pathogène mais aussi celles qui adressent l'information aux autres cellules, et même aux autres individus vivant à proximité, enfin la sécrétion de molécules toxiques pour le pathogène (*pathogenesis related proteins* ou protéines PR, phytoalexines, antibiotiques, élicitine, radicaux oxydants, etc.).

L'une des techniques généralistes consiste à introduire le gène d'une β-glucanase ou d'une chitinase, enzymes qui ont la propriété de s'attaquer spécifiquement aux structures pariétales des champignons pathogènes lors de leur contact avec les cellules de la plante. Il est également possible de stimuler artificiellement les défenses naturelles de la plante en introduisant le gène codant la synthèse d'un composé antifongique. Ainsi, le transfert du gène de la stilbène-synthase de la vigne ou du pois (Hain *et al.*, 1990) a provoqué l'expression d'un caractère de résistance chez un tabac receveur à l'égard d'un champignon provoquant normalement le pourrissement des parties aériennes de la plante. La sécrétion des protéines PR est provoquée, chez la plante agressée par le champignon pathogène, par la production de molécules appelées « éliciteurs ». Par exemple, le champignon *Phytophthora infestans*, agent d'une pourriture, produit un éliciteur bien identifié, la cryptogéine, qui déclenche, chez sa victime, la réaction d'hypersensibilité. Celle-ci se traduit par la mort très rapide des cellules au niveau du contact avec le pathogène. La lyse de ces cellules libère des substances toxiques pour ce dernier qui concourent, ainsi, à

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

sa perte. Il est donc possible au généticien de renforcer les mécanismes de défense d'une plante en transférant le gène de la cryptogéine du *Phytophtora* chez un tabac (Keller *et al.*, 1999) ou chez une variété de pomme de terre, pour protéger ces plantes des attaques du champignon. Des chercheurs ont montré chez un *Solanum* qu'un niveau de résistance tout à fait comparable à ce même pathogène était obtenu après transfert du gène de la glucose oxydase. On connaît actuellement une trentaine de gènes de résistance aux pathogènes dont : *Hm1* du Maïs, *Rps2* et *RPM1* d'*Arabidopsis*, *Pto*, *Cf2*, *Cf'4*, *Cf9* de la tomate ; *FlaxL6* du tabac ; *Xa21* du riz. La résistance fait appel à une multitude de molécules et en particulier à des protéines riches en leucine ou intervenant dans des réactions d'oxydation. La recherche dans le domaine de la résistance acquise par transgenèse semble actuellement privilégier la polyvalence des protections acquises aux dépens d'une stricte spécificité.

Le génie génétique a également répondu de façon très favorable au problème de la détection précoce et de l'identification du pathogène. Les techniques classiques reposent sur une surveillance permanente de l'état sanitaire des cultures puis, à la moindre manifestation d'anomalies constatées pouvant être interprétées comme l'arrivée d'un pathogène, sur un prélèvement et une mise en culture en boite de Pétri. Le traitement ne peut être alors que curatif. Il est aujourd'hui possible de détecter, de façon précoce, la présence du pathogène même lorsqu'il est encore très faiblement représenté. On pratique ces détections parfois au niveau de la parcelle avant même d'y implanter une culture. C'est le cas, par exemple, de *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*, agent de la « graisse du haricot » (Tourte, 1993). Cette détection repose sur la recherche d'une séquence d'ADN spécifique du pathogène après amplification de la séquence par PCR. La sensibilité (de l'ordre de 2.10^2 à 10^4 ufc.mL^{-1}), la spécificité et la rapidité (4 à 5 h) de ces tests sont remarquables. La détection peut faire l'objet de mise sur le marché de kits, d'utilisation aisée, y compris par l'agriculteur lui-même.

2.3. La lutte contre les insectes

Les insectes sont des partenaires des plantes en participant, pour un grand nombre de celles-ci, aux processus de fécondation mais aussi en y prélevant souvent leur nourriture et certaines de leurs hormones indispensables à leur développement. Certains insectes y trouvent également leur gîte ce qui se traduit parfois par des proliférations cellulaires à l'origine d'organes comme les « galles » ou par le creusement de galeries dans les tiges qui entraînent des dégâts considérables et parfois la mort de la plante. D'autres y véhiculent des champignons pathogènes, comme les scolytes qui propagent la « graphiose » *(Dutch Elm Disease)*, maladie cryptogamique mortelle pour certains arbres et notamment les ormes. D'autres encore apparaissent comme des vecteurs de maladies virales.

Il existe plusieurs stratégies de transgenèse, parfois très éloignées les unes des autres, mais toutes destinées à protéger les plantes cultivées des insectes ravageurs.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

L'une d'elles consiste à limiter la taille des populations d'insectes en perturbant individuellement leurs modalités de croissance et de reproduction. Les insectes sont soumis à plusieurs mues pour passer de l'état larvaire à l'état adulte. Ces mues sont sous la dépendance d'une hormone de nature stéroïde, l'ecdysone. Or, les insectes sont incapables de réaliser la synthèse des précurseurs de la chaîne de biosynthèse des stérols et doivent prélever ces molécules chez les végétaux qui entrent dans leur alimentation. Un programme de recherche qui consiste à modifier légèrement le profil stérolique des végétaux que consomme habituellement l'insecte ravageur, afin de perturber son processus de mues, et, par conséquent, sa capacité de reproduction, a été lancé il y a déjà plusieurs années (Benveniste, 1986).

Une autre stratégie consiste à faire secréter par la plante une toxine plus ou moins spécifique pour les insectes prédateurs comme les Lépidoptères, les Coléoptères et les Diptères (Jouanin *et al.*, 1998 ; Schuler *et al.*, 1998). C'est ainsi qu'est née la technique utilisant la bactérie tellurique, *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) : technique efficace mais qui est à l'origine de certaines polémiques, pas toujours bien argumentées, en Europe occidentale. On connaît depuis longtemps l'existence d'une toxine bactérienne secrétée par le *Bt*, qui est utilisée comme insecticide contre les formes larvaires de certains Lépidoptères comme *Manduca sexta* chez la tomate ou *Helicoverpa armigera* chez le maïs. Cette toxine modifie les propriétés de perméabilité de la membrane plasmique des cellules intestinales en perturbant à la fois la nutrition et les transferts de protons liés à la digestion. Ces perturbations conduisent souvent à la mort de l'insecte avant qu'il ait pu se reproduire.

On a parfois recours à la bactérie elle-même qui est alors considérée comme un biopesticide, donc utilisable en culture biologique. Pulvérisée à la surface des végétaux, la bactérie se révèle très efficace contre les insectes qui vivent à la surface des plantes mais beaucoup moins pour ceux qui y creusent des galeries, comme la pyrale du maïs (*Ostrinia nubilalis*).

L'équipe de Van Montaigu, pionnière en matière de transgenèse (Van Haute *et al.*, 1983), a réussi à introduire le gène de la toxine bactérienne dans le génome d'un tabac dès 1985. Le tabac ainsi transformé est devenu résistant à la pyrale en secrétant au niveau de toutes ses cellules des petites quantités de protéines insecticides (Fraley et Schell, 1991). Divers gènes codant la synthèse de toute une famille de variantes de la toxine *Bt*, plus ou moins spécifiques contre les larves de divers insectes phytophages, ont été isolés et transférés dans diverses cultures de maïs, de cotonnier, de tabac, de soja, de tomate. Ces variantes correspondent à autant de gènes identifiés (*Cry1Ab*, *Cry1Ac*, *Cry3A*). Les espèces ainsi protégées ont fait l'objet de brevets détenus par des sociétés multinationales comme par exemple Monsanto.

Les cultures de ce type d'OGM (organismes génétiquement modifiés) couvrent plus de 100 millions d'hectares en Amérique du Nord et du Sud (États-Unis, Argentine essentiellement). Elles ne sont autorisées que dans des conditions très restrictives en Europe occidentale. Elles concernent essentiellement le cotonnier, le soja et le maïs. L'enthousiasme des débuts a cependant fait place à un peu de scepticisme depuis que des phénomènes de résistance sont apparus au sein des popu-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

lations d'insectes prédateurs (Tabashnik, 1994). Aussi doit-on palier cet inconvénient en maintenant, à côté des cultures OGM, d'autres cultures non OGM destinées à réduire la fréquence d'apparition des phénomènes de résistance. Les cultures de « maïs *Bt* », ont fait l'objet d'un certain nombre de manifestations polémiques en France et en Europe occidentale où elles ont fait l'objet, encore tout récemment, d'un moratoire.

Des progrès sont encore attendus dans cette technologie, notamment au niveau des promoteurs utilisés de façon à ce que l'activité de sécrétion de la toxine se trouve limitée à certains organes et soit, de préférence, absente dans l'épi. Il existe quelques variantes aux techniques ci-dessus qui consistent à faire produire par la plante à protéger des protéines de diverses natures mais qui ont des propriétés insecticides comme la cholestérol oxydase d'un *Streptomyces*, le gène de l'isopentenyl transférase des agrobactéries ou certains inhibiteurs de protéases comme le gène *Cp*TI de la vigne. On a également obtenu certaines formes de résistance avec des inhibiteurs d'α-amylase codés par un gène du haricot ainsi qu'avec des glycoprotéines du type lectine (GNA par exemple) : les premières perturbant les processus de digestion de l'insecte et les secondes intervenant en limitant ses capacités de reproduction (Chawla, 2002). Une troisième stratégie commence à se développer. Elle consiste à faire sécréter, par la plante transformée, des molécules allélochimiques (*cf.* chapitre 29), qui interviennent de façon générale sur différents niveaux trophiques et sont capables d'attirer spécifiquement les propres prédateurs des insectes phytophages (Howse *et al.*, 1998). Ces molécules appartiennent le plus souvent à la voie des terpènes et terpènoïdes.

On connaît actuellement une quarantaine de gènes de résistance contre les insectes.

3. *La lutte contre les agressions abiotiques*

À côté des agents biotiques – virus, bactéries, champignons, insectes – que nous venons de recenser, il existe un certain nombre d'agressions de nature abiotique, c'est-à-dire causées par des phénomènes physiques ou chimiques : gel, chaleur extrême, sécheresse prononcée, charge en sel de l'eau d'alimentation, vent violent, inondation. La plupart de ces stress abiotiques concerne en fait les aspects qualitatifs et quantitatifs de la disponibilité en eau pour la plante. Il faut remarquer, qu'aux dégâts directement causés par ces agents abiotiques, s'ajoutent fréquemment des attaques d'agents biotiques dont l'invasion se trouve facilitée par les blessures. Par exemple, les blessures provoquées aux tissus épidermiques par le gel favorisent l'invasion des champignons parasites, comme l'agent du chancre, qui n'ont plus à franchir ces tissus protecteurs, obstacle important à leur encontre. Les plantes sauvages paraissent, là encore, beaucoup plus aptes à supporter ces conditions de vie extrêmes par des adaptations structurales ou physiologiques. Elles sont ainsi capables de réduire leur déperdition en eau en cas de sécheresse ou de secréter des subs-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un delit

tances osmoprotectrices ou des antigels pour protéger leurs tissus en cas de froid intense. La dessiccation, de même que l'excès de sel, par exemple, activent les gènes qui codent la synthèse de protéines généralement de faible poids moléculaire, très souvent riches en proline ou en composés ammonium quaternaire, Ces protéines dites LEA (*late embryogenesis abundant*), telle la déhydrine, s'accumulent au niveau des graines en formation mais également dans d'autres régions exposées de la plante. Le niveau de synthèse de la proline est régulé par une enzyme : la γ-pyrroline-5-carboxylate synthétase. Le gène qui code cette enzyme peut faire l'objet d'une surexpression chez certaines plantes transgéniques chez lesquelles le niveau de synthèse de proline peut être 10 fois supérieur au témoin. La plante OGM acquiert ainsi une capacité de résistance à la sécheresse et une plus grande tolérance à l'hypersalinité (Kishore *et al.*, 1995).

Les biotechnologies ont donc réussi à apporter quelques solutions à l'égard de certains de ces agents abiotiques. C'est ainsi, par exemple, que des riz transgéniques qui surexpriment des gènes de LEA d'orge placé sous promoteur d'un gène de riz, résistent beaucoup mieux que les témoins à des stress. Toutefois, un bon niveau de résistance nécessite la présence d'osmolytes du type mannitol ou sorbitol. Des tabacs transformés surexprimant le gène bactérien de la mannitol-1-phosphate deshydrogénase qui intervient sur le stockage du saccharose dans les organes réserves, améliorent leur performance en présence d'une forte salinité (Bartels, 2000).

Le rôle d'une hormone, l'acide abscissique, dans les processus de régulation de l'eau dans la vie de la plante est bien connu. En cas de déshydratation, cette hormone agit par l'intermédiaire de protéines de liaison dont on connaît désormais les gènes qui les codent (gènes *Cbf*, *Dreb*). On a également pu identifier, à partir de banques d'ADN réalisées chez des plantes capables de supporter des longues périodes de sécheresse, des gènes qui confèrent une résistance accrue au manque d'eau chez une *Arabidopsis* transformée.

La résistance au froid relève d'une démarche assez proche. On sait qu'il est possible d'acclimater des plantes au froid en les soumettant à des stress successifs et progressifs. Ces stress provoquent l'activation d'une série de gènes spécifiques correspondants. La découverte chez *Arabidopsis* d'individus résistant au froid a permis d'identifier plusieurs gènes responsables de cette résistance. Certains de ces gènes, comme le gène *Atplc1*, interviennent par l'intermédiaire de la synthèse d'une lipase C. D'autres, comme *Cbf1*, *Cbf2* et *Cbf3*, par la synthèse de protéines qui se lient à certains promoteurs de gènes intervenant dans la résistance au froid, ou encore par la synthèse de protéines spécifiques circulantes dites « protéines antigel ». Ces protéines sont capables d'abaisser la température de formation de la glace qui, on le sait, est à l'origine des dégâts irréversibles causés aux tissus de la plante. Ces protéines sont, de plus, souvent toxiques pour les prédateurs ce qui présente alors l'avantage d'une double protection phytosanitaire.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un delit

Conclusion

Les biotechnologies et le génie génétique progressent régulièrement dans le domaine phytosanitaire en s'enrichissant de nouveaux outils efficaces dans l'identification des pathogènes et dans les moyens d'en limiter les agressions. À cet égard, l'agriculture est actuellement confrontée à d'étranges situations, très déséquilibrées et aux conséquences imprévisibles, et qui ne pourront sans doute pas perdurer. On peut, en simplifiant à l'extrême, ramener ces situations à trois cas principaux :

– des pays, qui profitent pleinement des progrès scientifiques dans ce domaine, dans lesquels les plantes génétiquement protégées sont cultivées à grande échelle. C'est le cas des pays d'Amérique du Nord et du Sud, de l'Inde, de la Chine et de nombreux pays d'Extrême-Orient ;

– des pays dits en développement qui souhaiteraient disposer de ces technologies pour développer leur agriculture et répondre ainsi favorablement aux problèmes endémiques d'insuffisance en produits alimentaires. On trouve dans ce cas de nombreux pays d'Afrique, du Moyen-Orient ou d'Europe centrale ;

– des pays qui disposent de ces technologies et des structures capables de répondre à leur progression, notamment en Europe occidentale, mais qui, pour des motifs d'opinion publique, diffèrent l'usage de ces techniques, au risque de voir la situation de leur potentiel industriel agroalimentaire se dégrader rapidement. Bien qu'il ne soit pas encore possible actuellement de connaître le niveau de rentabilité économique des OGM par rapport aux cultures traditionnelles, il ne peut s'agir pour eux assurément que d'une situation transitoire dont il est aujourd'hui difficile de prévoir les échéances et les orientations de son indispensable, et inéluctable, évolution.

Références bibliographiques

Adkins S.W., Kunuanachaidach R., Godwin I.D. (1995). Somaclonal variation in rice-drought tolerance and other agronomic characters. *Aus J Bot*, **43** : 201-203.

Bartels B. (2000). La résistance des plantes à la sécheresse. *Pour la science H.S.*, **26** :122-124.

Benveniste P. (1986). Stérol biosynthesis. *Annu Rev Plant Physiol*, **37** : 275-307.

Bevan M. (1984). Binary *Agrobacterium* vectors for plant transformation. *Nuc Acids Res*, **12** : 8711-8721.

Buell C.R. (1998). *Arabidopsis*: A weed leading the field of plant-pathogen interactions *Plant physiol. Biochem*, **36** : 177-186.

Callen J.-C. (1999) *Biologie cellulaire : des molécules aux organismes*. Dunod, Paris.

Chawla H.S. (2002). *Introduction to Plant Biotechnology (2nd ed.)*. Science Publishers Inc., Enfield (NH, USA).

Durel C.E., Parisi L. (2001). Des pommiers résistent aux maladies. *Biofutur*, **215** : 50.

Fraley R., Schell J. (1991). Plant biotechnology. *Curr Opinion Biotechnol*, **2** : 145-210.

Greenberg J.T. (1997). Programmed cell Death in Plant-pathogen interactions. *Annu Rev Plant Mol Biol*, **48** : 525-545.

Griffiths A., Gelbart W., Miller J., Lewontin R. (2001). *Analyse génétique moderne*, De Boeck, Bruxelles.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Hain R., Biessler B., Kindl H., Schroeder G., Stocker R. (1990). Expression of stilbene synthase gene in *Nicotiana tabacum* results in synthesis of phytoalexin veratrol. *Plant Mol Biol*, **15** : 325.

Howse P., Stevens I., Jones O. (1998). *Insect pheromones and their use in pest management.* Chapman and Hall, Londres.

Hutvàgner G., Zamore D. (2002). ARNi : la nature a horreur des doubles brins. *Biofutur*, **228** : 52-57.

Jouanin L., Bonadé-Bottino M., Girard C., Morrot G., Giband M. (1998). Transgenic plants for insect resistance. *Plant sci*, **131** : 1-11.

Keller H., Pamboukdjian N., Poupet A., Delon R., Verrier J.-L., Roby D., Ricci P. (1999). Pathogen-induced elicitin production in transgenic tobacco generates a hypersensitive response and non-specific disease resistance. *Plant Cell*, **11** : 223-235.

Kishore P.B., Hong Z., Miao G.H., Hu C.A., Verma D.P. (1995). Overexpression of D1-pyrroline-5-carboxylate synthetase increases proline production and confers osmoloresistance in transgenic plants. *Plant physiol*, **108** : 1387-1395.

Michot B., Gautheret D. (2002). Les ARNm : la face cachée des génomes. *Biofutur*, **228** : 45-51.

Minet M., Dufour M.E., Lacroute F. (1992). Complementation of *Saccharomyces cerevisiae* auxotrophic mutants by *Arabidopsis thaliana* cDNAs. *Plant J*, **2** : 417-422.

Morel G., Martin C.(1952). Guérison de pommes de terre atteintes de maladies à virus. *C. R. Acad Agric Fr*, **41** : 471-474.

Pinto Y.M., Kok R.A., Baulcombe D.C. (1999). Resistance to rice yellow mosaic virus (RYMV) in cultivated African rice varieties containing RYMV transgenes. *Nat Biotechnol*, **17** : 702-707.

Sanford J.C., Devit M.J., Russell J.A., Smith F.D., Harpending P.R., Roy M.K., Johnston S.A. (1991). An improved helium driven biolistic device. *Technique*, **3** : 3-16.

Schmidt R. (1998). Physical mapping of the *Arabidopsis thaliana* genome. *Plant Physiol Biochem*, **36** : 1-8.

Schuler T.H., Potting R.P., Kerry B.R., Denholm I (1998). Insect resistant transgenic plants. *Trends biotechnic*, **16** : 168-175.

Tabashnik B.E. (1994). Evolution of resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annu Rev Entomol*, **39** : 47-79.

Tacke E., Salamani F., Rohde W. (1996). Genetic engineering of potato for broad spectrum protetion against virus infection. *Nat Biotechnol*, **14** : 1597-1601.

Tourte C. (1993). *Épidémiologie* de Pseudomonas syringae pv. Phaseolicola et *mise au point de la PCR pour sa détection.* Thèse Université Claude Bernard, Lyon.

Tourte Y. (2000). *Comment obtenir une plante génétiquement modifiée.* MT 210°41 Pierron multimédia Sarreguemines, France.

Tourte Y. (2001). *Les OGM, La transgenèse chez les plantes.* Dunod, Paris.

Tourte Y. (2002). *Génie génétique et biotechnologies* (seconde édition) Dunod, Paris.

Tourte M. (2003a). *Biologie cellulaire*, 2e édition, Dunod, Paris.

Tourte Y. (2003b). *Genetically Modified Organisms.* Science Publishers Inc., Enfield, USA.

Van Haute E., Joos H., Maes M., Warren G., Van Montaigu M., Schell J. (1983). Intergenetic tranfert and exchange recombination of restriction fragments cloned in pBR 322, a novel strategy to the reverse genetics of the Ti plamid of *Agrobacterium tumefaciens*. *EMBO J*, **2** : 429-434.

Wang P., Zoubenko O., Tumer N.E. (1998). Reduced toxicity ands broad spectrum resistance to viral and fungal infection in transgenic plants expressing pokeweed antiviral protein II. *Plant Mol Biol*, **38** : 957-964.

Yeoman M.M. (1968). *Plant cell culture technology.* Blackwell Scientific publications, Oxford, UK.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

35

Génomiques structurale et fonctionnelle appliquées à la lutte phytosanitaire : le cas de la fusariose de l'épi chez les céréales

Thérèse Ouellet, Linda Harris, Steve Gleddie, François Belzile

De l'avis général, il est fortement souhaitable que les efforts soient dirigés vers une agriculture de type durable où l'optimisation du rendement des cultures et le maintien de la santé des plantes tiennent compte du besoin de minimiser les conséquences de l'usage des pesticides sur les cultures. Dans ce contexte de protection de l'environnement, il est nécessaire d'explorer des stratégies de contrôle alternatives.

Les approches biotechnologiques deviendront bientôt des compléments indispensables aux méthodes traditionnelles de lutte phytosanitaire, spécialement lorsqu'il est difficile de contrôler le pathogène par les méthodes conventionnelles. Les dernières années ont été marquées, entre autres, par la mise en œuvre d'une approche globale de l'étude génétique des organismes en procédant à la caractérisation de leur génome (information génétique complète). Cette nouvelle discipline, appelée génomique, se distingue par l'utilisation de méthodologies expérimentales à grande échelle, fournissant un grand nombre de données (par exemple des séquences d'ADN ou des profils d'expression), et le recours à des supports informatiques spécialisés, permettant de recueillir, traiter et analyser ces données.

Un des obstacles principaux au développement de stratégies alternatives de lutte intégrée contre les maladies réside dans le manque de connaissance sur les mécanismes moléculaires :

– utilisés par la plante pour se défendre avec succès contre un pathogène donné ;

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

- utilisés par le pathogène pour organiser une attaque efficace ;
- au niveau des interactions entre la plante et le pathogène.

Ce chapitre traitera de l'utilisation de la génomique structurale et de la génomique fonctionnelle pour aider à la compréhension et l'amélioration des mécanismes de défense que les plantes utilisent pour détecter et combattre les pathogènes. Nous prendrons pour exemple le cas de la fusariose de l'épi chez le blé, l'orge et le maïs. Pour compléter l'approche fonctionnelle, nous présenterons l'utilisation de techniques de protéomique, telle la caractérisation de profils protéiques par gels bidimensionnels.

1. *Le problème de la fusariose de l'épi chez le maïs et les céréales à petits grains*

La fusariose de l'épi, chez le maïs et les céréales à petits grains (blé, orge, avoine), est un exemple de maladies difficiles à contrôler par les méthodes existantes. Causée par les champignons filamenteux *Fusarium graminearum*, *F. culmorum* et les espèces voisines, la fusariose de l'épi constitue un grave problème dans toutes les zones tempérées du globe, causant d'importantes pertes de rendement lors des épidémies ainsi que des pertes de qualité des grains, même en conditions sub-épidémiques, par suite de production de mycotoxines (McMullen *et al.*, 1997). Les mycotoxines synthétisées par *F. graminearum* et *F. culmorum* comprennent les trichothécènes, principalement le désoxynivalénol et le nivalénol, et la zéaralénone. Cette dernière toxine est un composé macrocyclique de type lactone aux propriétés œstrogéniques. Reconnus pour leur forte inhibition de la synthèse protéique chez les eucaryotes, les trichothécènes provoquent une modification du contenu protéique des grains, affectant la germination, mais aussi la qualité des produits finaux (pain, bière, etc.). De plus, les trichothécènes constituent un problème majeur de salubrité des aliments, car l'ingestion de grains contaminés entraîne des effets toxiques chroniques et sérieux aussi bien chez l'homme que chez l'animal (CAST, 2003).

La résistance naturelle dans les cultures céréalières attaquées par ce champignon est très faible. Dans le cas du blé, on a trouvé un nombre limité de sources de résistances (Snijders, 1990 ; Chen *et al.*, 1997) et, également pour le maïs (Reid et Hamilton, 1997 ; Munkvold, 2003), en passant au crible les collections internationales de céréales. Pour l'orge, la situation est encore plus inquiétante, car seuls quelques génotypes présentent une certaine tolérance naturelle (Gilbert et Tekauz, 2000). Jusqu'à présent, il s'est avéré très difficile de transférer ces résistances aux variétés élite cultivées. De plus, il existe très peu d'options efficaces pour un contrôle chimique de cette maladie, le tébuconazole étant le fongicide ayant montré les résultats les plus constants d'une saison à l'autre (Jones, 2000), et aucun agent de lutte biologique n'ayant fait ses preuves au champ (Gilbert et Tekauz, 2000).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

2. *Génomique structurale*

Dans le cas de la fusariose dont les impacts sont considérables à plusieurs niveaux (santé humaine et animale, impacts économiques) et dont les interactions entre les pathogènes et l'hôte sont très complexes, il faut mettre à profit les divers outils qu'offrent la génomique et la protéomique. La génomique structurale peut être considérée comme la phase initiale de l'analyse d'un génome, de laquelle découlera la construction de cartes génétique et physique du génome d'un organisme. La carte physique ultime d'un organisme représente la séquence complète de son génome.

2.1. Marqueurs et cartes génétiques

Une des difficultés rencontrées lors de la sélection pour une plus grande résistance à la fusariose de l'épi, provient de la nature variée des mécanismes de résistance. D'après Gilbert et Tekauz (2000), Il existerait cinq types de résistance à la fusariose de l'épi :

- la résistance à l'infection initiale ;
- la résistance à la progression de l'infection ;
- la résistance à l'infection des grains ;
- la tolérance à l'infection (maintien des rendements en dépit de la maladie) ;
- une certaine capacité à neutraliser les mycotoxines ou à en limiter l'accumulation.

Il est donc difficile pour le sélectionneur d'identifier des lignées combinant l'ensemble de ces types de résistance. De plus, pour mettre en évidence plusieurs de ces résistances, il est essentiel de procéder à des inoculations artificielles dont les résultats sont grandement influencés par les conditions environnementales. C'est pourquoi de nombreux travaux actuellement en cours cherchent à identifier des marqueurs moléculaires associés à ces différentes composantes de la résistance génétique. De tels outils contribuent sûrement à la sélection de génotypes améliorés ainsi qu'à une meilleure compréhension de l'interaction entre la plante et son pathogène par suite du clonage et de l'étude de ces gènes.

De nombreuses études de cartographie de *quantitative traits loci* (QTL) ont été réalisées chez le blé et l'orge afin de localiser les loci qui contribuent aux divers mécanismes de résistance. Il en ressort plusieurs points importants :

- de nombreux loci interviennent dans la résistance (pratiquement tous les chromosomes en contiennent) ;
- on détecte certains loci dans toutes les études ou presque toutes (par exemple, les loci sur le chromosome « 3BS » chez le blé et « 2 » chez l'orge) ;
- certains loci sont caractéristiques d'une source de résistance, d'un type de résistance ou d'une méthode d'inoculation.

De cette complexité découle un certain nombre de défis. Tout d'abord, le nombre de loci qui contribuent à la résistance suppose forcément que chaque gène n'exerce

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

qu'un effet modeste. Ensuite, aucun génotype parental ne réunit l'ensemble des allèles de résistance et il faudra donc assembler (« pyramider ») ces divers allèles par le biais de stratégies de sélection complexes. Une telle stratégie reposant sur la sélection précoce assistée de marqueurs, sur l'emploi de l'haplodiploïdisation et la combinaison de diverses sources de résistance est actuellement en cours au Canada sous la direction du Dr Daryl Somers (Centre de recherche sur les céréales, Winnipeg, Canada).

2.2. Cartes physiques et marche chromosomique

Pour acquérir une meilleure compréhension des mécanismes de résistance de l'hôte, il est intéressant de déterminer les gènes qui confèrent cette résistance et de préciser leur fonction. Après avoir identifié ces marqueurs génétiques fortement liés aux QTL les plus importants, il devient possible de cloner ces gènes par une stratégie de marche chromosomique. Essentiellement, une telle stratégie exige de border le locus visé d'une paire de marqueurs moléculaires très proches du gène recherché. Ensuite, ces marqueurs servent de sondes moléculaires pour identifier un ou plusieurs clones (le plus souvent dans des chromosomes bactériens artificiels : BAC, *bacterial artificial chromosomes*) qui contiennent l'ADN génomique de la région correspondante. Lorsqu'un contig (une collection de clones contigus) s'étend de façon ininterrompue d'un marqueur à l'autre, c'est que le gène recherché se trouve au sein de cet intervalle. Malgré la grande taille des génomes chez les graminées, on dispose de banques de clones BAC qui offrent une couverture génomique assez complète et qui sont disponibles pour le maïs (Yim *et al.*, 2002), l'orge (Yu *et al.*, 2000) et même le blé hexaploïde (Nilmalgoda *et al.*, 2003).

Une fois cette étape importante franchie, il reste encore à identifier le bon gène, au sein d'un nombre potentiellement considérable de candidats, car un contig peut s'étendre sur plusieurs centaines de kilobases et contenir un grand nombre de gènes. Grâce aux progrès fulgurants – en matière d'efficacité et de rapidité – du séquençage, il devient envisageable de séquencer l'ensemble des clones BAC représentant l'intervalle ciblé (chacun contenant un fragment d'ADN génomique long d'une centaine de kilobases). Pour qu'un gène candidat soit véritablement responsable de la résistance à la fusariose de l'épi, il faudra démontrer que l'introduction de ce gène dans un génotype sensible lui confère une résistance accrue.

2.3. Caractérisation d'homologues de gènes de résistance

Au milieu des années 90, les travaux de cartographie physique et de marche chromosomique (et quelques autres approches) ont abouti au clonage des premiers gènes de résistance (gènes R). Il est alors devenu évident que plusieurs gènes R partageaient des motifs hautement conservés (McDowell et Woffenden, 2003). Chez *Arabidopsis thaliana*, le nombre de gènes R excède la centaine (Arabidopsis Genome Initiative, 2000).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Vu le défi considérable que constitue le clonage d'un gène R (par marche chromosomique), ainsi que la forte conservation de certains motifs, il a été suggéré qu'il serait possible de cloner des gènes de résistance à partir de tels domaines conservés. En employant des amorces inspirées des segments les mieux conservés, il s'est avéré relativement facile de cloner un nombre considérable d'homologues de gènes de résistance (RGA : *resistance gene analogs*).

Bien que le clonage de telles séquences d'ADN se soit avéré relativement simple, il peut être très difficile de démontrer qu'un RGA donné correspond véritablement à un gène R recherché. Une des approches les plus fréquemment employées, afin de réduire le nombre de gènes candidats, est de les placer sur une carte génétique. Un candidat sérieux doit être proche du gène R recherché. Même lorsqu'une telle liaison génétique a été établie, il peut encore y avoir plus d'un candidat car il faut rappeler que les gènes R sont souvent groupés en amas (*clusters*). Ainsi, dans une même région génomique, on peut trouver toute une série de gènes R (à l'égard du même pathogène ou de divers pathogènes). *In fine*, la seule façon de prouver de façon définitive qu'un RGA correspond bel et bien à un gène R précis, est de réaliser une complémentation fonctionnelle. Ainsi, un allèle R (celui conférant la résistance) du RGA doit pouvoir conférer la résistance à une plante sensible.

3. *Génomique fonctionnelle*

La génomique fonctionnelle se définit comme la branche de la génomique qui étudie la fonction biologique des gènes et de leurs produits, en utilisant une approche expérimentale globale, ainsi que les informations et outils issus de la génomique structurale. La génomique fonctionnelle cherche à identifier des gènes candidats dont les caractéristiques permettent de penser qu'ils pourraient jouer un rôle dans le processus biologique étudié. Il s'avère donc très utile de connaître les grandes catégories de gènes qu'on s'attend à trouver lors de tels travaux. C'est pourquoi nous commencerons par dresser un rapide portrait des principaux mécanismes de défense et les types de gènes qui en sont responsables.

3.1. Progrès accomplis dans la compréhension des mécanismes moléculaires généraux de défense chez les plantes

Durant la dernière décennie, la génomique et la génétique moléculaire ont accompli de nombreux progrès, débouchant ainsi sur une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires généraux de la réponse de défense d'une plante attaquée par un pathogène. La réponse initiale de la plante, induite par la reconnaissance de l'agent pathogène, inclut l'activation d'une cascade de signaux d'alerte dans les cellules attaquées et leur transmission dans les cellules voisines. La transduction des signaux découle de la modulation de l'état de phosphorylation de certaines protéines par des kinases, particulièrement les kinases de type MAPK (*mitogen activated protein kinase*) et CDPK (*calcium dependant protein kinase*) (Romeis, 2001 ;

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Xing *et al.*, 2002). Elle dépend aussi de modifications physiologiques des influx d'ions tels le Ca^{2+} (Bowler et Fluhr, 2000) et la production intense de formes actives de l'oxygène (FAO) : le peroxyde d'hydrogène H_2O_2, le radical super oxyde $O_2^{\bullet -}$, le monoxyde d'azote $NO^{\bullet}$ (Lamb et Dixon, 1997 ; Delledonne *et al.*, 2003), au niveau des parois cellulaires. La dépolarisation membranaire et l'alcalinisation de l'espace extracellulaire entrent également en ligne de compte. Au-delà de la participation à la transduction du signal, certaines FAO produites agissent directement sur les pathogènes par leur action toxique. Elles agissent également de façon indirecte en renforçant la paroi végétale par pontages oxydatifs de protéines ou de polysaccharides, ce qui ralentit la progression du pathogène et laisse le temps aux autres défenses végétales de se mettre en place (Lamb et Dixon, 1997). Cette phase initiale se poursuivra par la production de phytohormones, tel l'acide salicylique, l'acide jasmonique, et l'éthylène, qui interviennent dans l'activation des gènes de défense et l'amplification du signal (Dong, 1998). Finalement, la plante met en place ses réactions de défense. Ces réactions comprennent la synthèse de phytoalexines (des composés antifongiques ou antibactériens), de protéines PR (*pathogenesis related*), comme les chitinases ou les glucanases qui hydrolysent les parois cellulaires du pathogène, ou la production de lignine et callose qui renforcent les parois des cellules végétales. Dans plusieurs cas de résistance à un pathogène, les réactions de défense aboutissent à l'induction d'une réaction hypersensible. Une réponse inductible et locale se produit, caractérisée par la nécrose rapide et localisée des tissus envahis par le pathogène ; elle conduit au confinement du micro-organisme invasif (Heath, 2000). Dans d'autres cas, une résistance systémique acquise se développe dans la plante entière, laquelle devient protégée contre toute une série de pathogènes, de façon plus ou moins durable (Gozzo, 2003).

Même si l'on connaît maintenant plusieurs mécanismes généraux de défense utilisés par les plantes, leur importance relative est mal définie et semble varier selon le modèle plante/pathogène étudié. De plus, notre compréhension de certains mécanismes de défense, tel la résistance non-hôte (résistance d'une plante aux micro-organismes non pathogènes pour cette plante), demeure floue (Thordal-Christensen, 2003). Pourtant, ce type de résistance existe dans la nature et représente la forme la plus diffuse et la plus durable de protection des plantes à l'égard des micro-organismes qui les attaquent.

3.2. Collections de gènes exprimés

Pour affiner notre compréhension des mécanismes moléculaires de défense de la plante, spécialement dans les systèmes hôte/pathogène peu caractérisés, tel celui de la fusariose des céréales, il est important d'élaborer des outils pertinents. Ainsi, les études de génomique fonctionnelle nécessitent d'accéder à des collections de gènes exprimés (EST : *expressed sequence tags* ou étiquettes de séquences exprimées) dans les tissus infectés par le pathogène ou de créer de telles banques de gènes. Le séquençage à grande échelle de ces clones permet d'avoir une image de l'activité cellulaire du tissu cible. Une comparaison des gènes exprimés entre

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

tissus sains et infectés, ou entre tissus sensibles et résistants à un pathogène, peut mener à l'identification de gènes intervenant dans la réponse de défense de la plante. Ce séquençage à grande échelle permet aussi d'identifier de nouveaux gènes.

Les collections d'EST constituent un outil précieux pour l'identification des gènes d'un organisme. Dans le cas où le génome de l'organisme est séquencé, comme chez l'arabette de Thalius, *Arabidopsis thaliana*, brassicacées (Arabidopsis Genome Initiative, 2000) et le riz (*Oryza sativa*) (Goff *et al.*, 2002 ; Yu *et al.*, 2002), les EST valident et renforcent la prédiction de gènes effectuée par algorithmes informatisés. Chez les autres espèces, les collections d'EST permettent d'amorcer des études de génomique fonctionnelle et d'établir un lien avec la masse d'informations disponibles dans les bases de données publiques concernant d'autres espèces végétales, y compris celles accumulées par *le National Center for Biotechnology Information*, États-Unis (NCBI ; http://www.ncbi.nlm.nih.gov/), *l'European Molecular Biology Laboratory* (EMBL ; http://www.ebi.ac.uk/) et *The Institute for Genomic Research* (TIGR ; http://www.tigr.org/).

De nombreux outils bio-informatiques développés, et en développement, sont accessibles *via* internet pour faciliter cette tâche : « EGO » et TGICL de TIGR (Lee *et al.*, 2002 ; Pertea *et al.*, 2003) ; « BLAST », « UNIGENE » et plusieurs autres du NCBI (Wheeler *et al.*, 2003).

Des collections d'EST ont été élaborées dans le cadre d'un programme de génomique visant à caractériser les mécanismes moléculaires de défense du maïs et du blé vis-à-vis de la fusariose. Une collection de 13 681 EST de maïs a été développée, utilisant tout particulièrement les tissus provenant de soies et d'épis sains ou infectés par *Fusarium graminearum* (tableau 1). Les tissus utiles provenaient autant de variétés de maïs auto-fécondées sensibles (par exemple B73, CO354) que de variétés résistantes à la fusariose (par exemple CO325, CO387, CO 388, CO430, CO433) créées principalement au Centre de recherche de l'Est sur les céréales et les oléagineux (CRECO) par L. Reid (Reid et Hamilton, 1997 ; http://res2.agr.ca/ecorc/inblig/list_e.htm). Cette collection d'EST, qui représente environ 8 700 gènes, inclut de nombreuses séquences correspondant à des gènes nouveaux qui n'avaient pas d'homologues dans la banque de données du NCBI (en date de février 2004). Plusieurs de ces EST proviennent de tissus qui étaient peu ou pas représentés dans les collections publiques, tels la soie, la rafle et les tissus sous-jacents au grain.

3.3. Caractérisation de profils d'expression génique par biopuce

Les biopuces sont des supports de verre ou de silicium, de type lamelle de microscope, sur lesquels sont fixés des centaines ou des milliers de fragments d'ADN correspondant chacun à un gène de l'organisme étudié. Les biopuces permettent de déterminer rapidement les gènes exprimés dans un échantillon donné, fournissant ainsi une image ponctuelle du profil de transcription du tissu au moment de l'échantillonnage. De plus, les biopuces permettent une comparaison systématique des profils de transcription entre deux conditions (ou plus), comme entre tissus infectés

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau I ■ Collection d'EST isolés du maïs au CRECO- AAC (Centre de recherche de l'Est sur les céréales et les oléagineux, Agriculture et Agro-Alimentaire Canada, Ottawa (Ont), Canada).

Les EST proviennent de banques d'ADNc régulières et de banques d'ADNc enrichies en gènes exprimés dans le tissu traité. L'enrichissement est fait par une technique d'hybridation avec étapes de soustraction (ADNc traités-ADNc contrôlés) et de normalisation, appelée SSH (Diatchenko *et al*, 1998). Pour les épis non traités, les banques d'ADNc sont enrichies en gènes exprimés spécifiquement dans les tissus d'épis 8 jours après fertilisation (grains immatures, rafle et tissus sous-jacents aux grains) et absents dans les tissus de plantules.

Tissu	Traitement	# d'EST(CRECO)
Soie	*F. graminearum*	3 839
Grain immature	*F. graminearum*	2 516
Épi, bout supérieur	*F. graminearum*	797
Épi, tissus variés	Aucun	3 729
Feuille et couronne	Basse température	1 618
Plantule complète	Basse température	1 182
Total		**13 681**

et sains par exemple. Dès la publication des premières analyses du genre, il est apparu clairement que les profils de transcription identifiaient des régulons (groupes de gènes co-régulés), communs à plusieurs stress, tandis que d'autres relevaient plutôt d'un système particulier (Schenk *et al.*, 2000 et 2003 ; Cheong *et al.*, 2002). De plus, les données laissaient supposer l'existence de réseaux de signaux et d'interactions entre ces réseaux. Les études ultérieures, qui comprenaient des analyses de mutants (*cf.* 3.5.), ont confirmé ces résultats et ajouté l'effet du monoxyde d'azote et d'autres FAO à la complexité des interactions (Thomma *et al.*, 2001).

Quoique notre compréhension des mécanismes de défense de la plante ait accompli d'immenses progrès au cours des dernières années, grâce à la génomique fonctionnelle, il existe encore de nombreuses lacunes dans la connaissance des gènes-clé participant à ces réactions. De plus, comme la plupart de ces connaissances proviennent d'observations effectuées chez *Arabidopsis thaliana*, il est nécessaire de les confirmer au moyen d'études portant sur les plantes de grande culture, en particulier les céréales.

La fusariose de l'épi, chez le blé et le maïs, est un exemple de maladie complexe et vis-à-vis de laquelle on dispose de très peu d'informations sur les gènes contrôlant la réaction de défense de la plante, tant pour les variétés sensibles que résistantes. Les connaissances acquises chez *A. thaliana* et quelques autres espèces constituent une trame de base pour interpréter les observations recueillies. Cependant, la fusariose de l'épi est une maladie qui implique les organes reproducteurs de la plante et il n'existe que très peu d'études consacrées à cet aspect particulier de la réaction de défense de la plante.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Nous avons produit des biopuces de maïs enrichies en gènes exprimés dans plusieurs tissus des épis, spécialement durant l'infection par *F. graminearum* (tableau 1 pour le maïs). Selon les résultats initiaux, deux jours après le début de l'infection par *F. graminearum*, on observe que 85 gènes présentent une augmentation statistiquement significative de l'abondance de leur ARNm dans les soies traitées du maïs sensible B73 (figure 1). Certains gènes ont un niveau d'expression réduit dans un ou plusieurs réplicats de l'expérience. Cependant, ces changements ne sont pas suffisamment marqués pour être statistiquement significatifs, si l'on applique un intervalle de confiance de 95 %. De la même manière, il y a 115 gènes significativement induits dans les grains de B73, après deux jours d'infection par *F. graminearum*. Ces changements de niveau d'expression sont confirmés par transferts de *Northern* pour plusieurs des gènes.

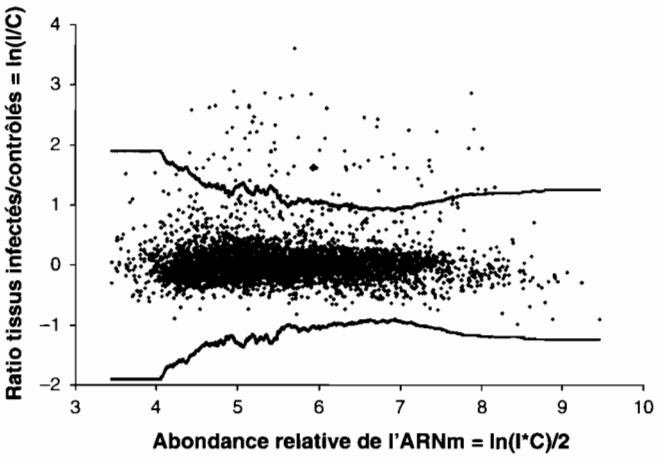


Figure 1 ■ Analyse du profil de transcription de 4 220 gènes de maïs par biopuce.
Les comparaisons des hybridations d'ARNm présente dans les soies du maïs sensible B73, 48 heures après innoculation par *F. graminearum*, avec le témoin des soies traitées avec du milieu de culture stérile. Les résultats présentés correspondent à la moyenne de quatre réplications techniques, avec normalisation et centralisation tel que décrit par Tinker *et al.* (2003). L'axe vertical est le rapport entre la quantité d'ARN présent dans le tissu infecté (I) et le tissu contrôle (C) pour un gène donné, exprimé comme le logarithme naturel [ln (I/C)]. L'axe horizontal est une mesure de l'abondance relative de l'ARN pour ce même gène, exprimée comme le logarithme naturel de la moyenne des deux traitements [ln (I*C/2)]. Les deux traits horizontaux représentent les seuils utilisés pour un intervalle de confiance de 95 % (95 % des gènes à l'extérieur des traits ont un changement d'expression significatif dans les échantillons infectés).

Une analyse fine des résultats obtenus avec les soies et les grains infectés montre, après deux jours d'infection, une induction ou une expression plus intense de plusieurs gènes associés à la défense chez les plantes. Par exemple, il y a induction de plusieurs gènes de type PR (PR1, PR2, PR3, PR4, PR5 et PR10), des gènes induits aussi dans plusieurs autres pathosystèmes (*cf.* 3.1.), de l'ACC oxydase (synthèse de l'éthylène) et de plusieurs cytochromes P450 intervenant dans la synthèse de polyphénols et de phytoalexines. Dans une réaction de défense efficace, l'induction

© Lavoisier - La photocopie non autorisée est un délit

des gènes PR est souvent associée à l'expression de gènes intervenant dans le stress oxydatif et entraînant l'augmentation de la synthèse d'acide salicylique, qui amplifie la réaction de défense de la plante. Quoique des gènes PR soient induits dans B73 en réponse à l'invasion par *Fusarium*, on constate qu'il n'y a aucune indication de l'induction des gènes associés à l'amplification de la défense, telle la glutathion peroxydase ou la phénylalanine lyase. Par contre, on note l'induction par *Fusarium* de certains gènes codant des enzymes contrôlant la production de peroxyde d'hydrogène et la protection de la cellule, tel des oxalate oxydases et des glutathion transférases.

En conséquence, ces résultats initiaux suggèrent que le maïs sensible peut induire une réaction de défense à l'attaque par *Fusarium sp.*, mais sans que cette réaction puisse atteindre un seuil à partir duquel la plante pourrait l'emporter sur le pathogène. Ces résultats soulignent l'absence de certaines étapes de la réaction de la plante et donnent des pistes d'analyse pour la comparaison des variétés résistantes et sensibles.

3.4. Caractérisation de profils protéiques

Par analogie avec la génomique, la discipline qui s'intéresse à toutes les protéines d'un organisme s'appelle la protéomique. Le contrôle de l'expression des gènes intervient tant au niveau de la transcription que de la traduction et des modifications post-traductionnelles. La caractérisation des profils de transcription des tissus infectés gagne donc à être suivie d'une caractérisation des profils protéiques des mêmes tissus. On établit les profils protéiques par électrophorèse bidimensionnelle au cours de laquelle les protéines sont séparées d'abord selon leur point isoélectrique, et puis selon leur masse moléculaire (Gorg *et al.*, 2000). Les protéines intéressantes sont identifiées principalement par spectrométrie de masse (par exemple MS-MS) couplée à la bio-informatique.

La plante répond à l'invasion d'un pathogène en produisant plusieurs protéines de défense (*cf.* 3.1.). Cependant, si la synthèse de protéines est inhibée par la présence de mycotoxines, telles les trichothécènes, la plante risque de ne plus produire les protéines de défense anti-infectieuses. Pour compléter la caractérisation de la réponse du maïs sensible B73 à l'attaque par *F. graminearum*, nous avons établi le profil protéique global pour des soies et des grains infectés et nous l'avons comparé aux tissus témoins (avec inoculation simulée), en utilisant une électrophorèse bidimensionnelle sur gels de polyacrylamide. Les résultats préliminaires indiquent que seules quelques protéines détectées par coloration des gels au bleu de Coomassie sont induites dans les tissus infectés. Cependant, il faut recourir à plusieurs conditions expérimentales d'électrophorèse pour révéler le profil protéique complet d'un échantillon. Nous sommes en train d'approfondir nos analyses en augmentant la résolution des séparations protéiques au moyen d'écarts de pH plus restreints (par exemple 4 à 5, 5 à 6, etc.) pour la focalisation isoélectrique. De cette façon, nous espérons pouvoir augmenter notre capacité à détecter les différences entre les variétés résistantes et sensibles à l'infection par *Fusarium*, et comparer ces résultats

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

avec des observations réalisées dans d'autres systèmes, telle la pyriculariose du riz (Konishi *et al.*, 2001).

3.5. Validation fonctionnelle des gènes candidats

Pour caractériser la fonction d'un gène candidat, on cherchera généralement à inactiver le gène afin d'étudier les conséquences phénotypiques. On a recours à deux grandes stratégies : la mutagénèse ou l'inactivation transcriptionnelle (*RNA-interference* : RNAi).

Des collections de mutants ont été développées, soit par insertion d'un fragment d'ADN connu (ADN-T, transposon RescuMu) par transgénèse, soit par traitement chimique (le méthanesulfonate d'éthyle), chez plusieurs espèces dont *A. thaliana*, le riz et le maïs. Plusieurs de ces collections sont accessibles au public à peu de frais, telles celles concernant *A. thaliana* (par le *Arabidopsis Biological Resource Center*, http://www.arabidopsis.org/abrc/; et http://tilling.fhcrc.org: 9366/), ou le maïs (http://www.mutransposon.org/). Il est possible de cibler ces collections de mutants pour un phénotype particulier, ou par réaction d'amplification en chaîne (*polymerase chain reaction*, PCR) pour une mutation dans un gène particulier. Dans certaines de ces collections, les points d'insertion ont été séquencés pour un grand nombre de mutants et l'identification d'un gène muté d'intérêt se fait par interrogation d'une base de donnée de séquences (http://signal.salk.edu/cgi bin/tdnaexpress).

La RNAi représente l'autre voie privilégiée dans l'analyse fonctionnelle d'un gène. Cette technique repose sur la production de courts segments d'ARN bicaténaires provenant du gène ciblé. L'expression de tels ARN se traduit par la dégradation spécifique de l'ARN messager du gène ciblé ou encore par la méthylation du promoteur de ce même gène (Waterhouse et Helliwell, 2003). Une telle inactivation transcriptionnelle permet de vérifier les conséquences phénotypiques de l'absence d'expression du gène candidat.

Conclusion

Les études de génétique et génomique n'ont pas encore conduit à la production d'une variété commerciale résistante à un pathogène s'attaquant à une plante de grande culture. Cependant, ces études ont permis de mesurer la complexité des interactions plante/pathogènes et des composantes de la réaction de défense chez les plantes. À partir de ces observations, de nouvelles stratégies mieux ciblées sont mises en œuvre et discutées. Les applications biotechnologiques sont variées. Elles vont de la recherche d'une diversité naturelle chez des gènes de résistance connus et l'identification de nouveaux gènes de résistance, à l'exploitation de gènes régulateurs contrôlant des régulons et des pans de réseaux de signaux, ainsi qu'à la manipulation de protéines antimicrobiennes afin d'en augmenter l'efficacité. L'identification de gènes et de loci, associés à la résistance dans un pathosystème particulier, permet d'accélérer l'amélioration d'une culture par des approches clas-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

siques, en permettant de suivre avec des marqueurs moléculaires le locus ou les loci d'intérêt lors des croisements. Les connaissances acquises sur les mécanismes de défense de la plante permettent aussi de proposer des stratégies alternatives, telle la stimulation de défense naturelle (SDN) de la plante (*cf.* chapitres 30 et 41) par des méthodes biologiques ou chimiques.

Références bibliographiques

Arabidopsis Genome Initiative (2000). Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature*, **408** : 796-815.

Bowler C., Fluhr R. (2000). The role of calcium and activated oxygens as signals for controlling crosstolerance. *Trends Plant Sci*, **5** : 241-246.

CAST, Council For Agricultural Science And Technology (2003). *Mycotoxins: Risks in plant, animal, and human systems (Task force report # 139)*. CAST, Ames, Iowa.

Chen P., Liu D., Sun W. (1997). New countermeasures of breeding wheat for scab resistance. *In* Dubin H.J., Gilchrist L., Reeves J., McNab A., *Fusarium head scab: global status and future prospects*. CIMMYT International, Mexico, 59-65.

Cheong Y.H., Chang H-S., Gupta R., Wang X., Zhu T., Luan S. (2002). Transcriptional profiling reveals novel interactions between wounding, pathogen, abiotic stress, and hormonal responses in Arabidopsis. *Plant Physiol*, **129** : 661-677.

Delledonne M., Polverari A., Murgia I. (2003). The functions of nitric oxide-mediated signaling and changes in gene expression during the hypersensitive response. *Antioxid Redox Signal*, **5** : 33-41.

Diatchenko L., Chenchik A., Siebert P. (1998). Suppression subtractive hybridization: a method for generating subtracted cDNA libraries starting form poly (A+) or total RNA. *In* Seibert P., Larrick J., *RT-PCR methods for gene cloning and analysis*. BioTechniques Books, MA, 213-239.

Dong X. (1998). SA, JA, ethylene, and disease resistance in plants. *Curr Opin Plant Biol*, **4** : 316-323.

Gilbert J., Tekauz A. (2000). Recent developments in research on fusarium head blight of wheat in Canada. *Can J Plant Pathol*, **22** : 1-8.

Goff S.A., Ricke D. *et al.* (2002). A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa L.* ssp. *japonica*). *Science*, **296** : 92-100.

Gorg A., Obermaier C., Boguth G., Harder A., Scheibe B., Wildgruber R., Weiss W. (2000). The current state of two-dimensional electrophoresis with immobilized pH gradients. *Electrophoresis*, **21** : 1037-1053.

Gozzo F. (2003). Systemic acquired resistance in crop protection: from nature to a chemical approach. *J Agric Food Chem*, **51** : 4487-503.

Heath M.C. (2000). Hypersensitive response-related death. *Plant Mol Biol*, **44** : 321-34.

Jones R.K. (2000). Assessments of Fusarium Head Blight of Wheat and Barley in Response to Fungicide Treatment. *Plant Disease*, **84** : 1021-1030.

Konishi H., Ishiguro K., Komatsu S. (2001). A proteomics approach towards understanding blast fungus infection of rice grown under different levels of nitrogen fertilization. *Proteomics*, **1** : 1162-1171.

Lamb C., Dixon R.A. (1997). The oxidative burst in plant disease resistance. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, **48** : 251-275.

Lee Y., Sultana R., Pertea G., Cho J., Karamycheva S., Tsai J., Parvizi B., Cheung F., Antonescu V., White J., Holt I., Liang F., Quackenbush J. (2002). Cross-referencing eukaryotic genomes. *Genome Res*, **12** : 493-502.

McDowell J.M., Woffenden B.J. (2003). Plant disease resistance genes: recent insights and potential applications. *Trends in Biotech*, **21** : 178-183.

McMullen M., Jones R., Gallenberg D. (1997). Scab of wheat and barley: A re-emerging disease of devastating impact. *Plant Disease*, **81** : 1340-1348.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Munkvold G.P. (2003). Cultural and genetic approaches to managing mycotoxins in maize. *Annu Rev Phytopathol*, **41** : 99-116.

Nilmalgoda S.D., Cloutier S., Walichnowski A.Z. (2003). Construction and characterization of a bacterial artificial chromosome (BAC) library of hexaploid wheat (*Triticum aestivum L*) and validation of genome coverage using locus-specific primers. *Genome*, **46** : 870-878.

Pertea G., Huang X., Liang F., Antonescu V., Sultana R., Karamycheva S., Lee Y., White J., Cheung F., Parvizi B., Tsai J., Quackenbush J. (2003). TIGR Gene Indices clustering tools (TGICL): a software system for fast clustering of large EST datasets. *Bioinformatics*, **19** : 651-652.

Reid L.M., Hamilton R.I. (1997). Breeding for ear rot resistance in Canada. *Cereal Res Commun*, **25** : 639-642.

Romeis T. (2001). Protein kinases in the plant defence response. *Curr Opin Plant Biol*, **4** : 407-414.

Schenk P.M., Kazan K., Wilson I., Anderson J.P., Richmond T., Somerville S.C., Manners J.M. (2000). Coordinated plant defense responses in *Arabidopsis* revealed by microarray analysis. *Proc Natl Acad Sci USA*, **97** : 11655-11660.

Schenk P.M., Kazan K., Manners J.M., Anderson J.P., Simpson R.S., Wilson I.W., Somerville S.C., Maclean D.J. (2003). Systemic gene expression in Arabidopsis during an incompatible interaction with *Alternaria brassicicola*. *Plant Physiol*, **132** : 999-1010.

Snijders C. (1990). Genetic variation for resistance to Fusarium head blight in bread wheat. *Euphytica*, **50** : 171-179.

Thomma B.P., Penninckx I.A., Broekaert W.F., Cammue B.P. (2001). The complexity of disease signalling in *Arabidopsis*. *Curr Opin Immunol*, **13** : 63-68.

Thordal-Christensen H. (2003). Fresh insights into processes of nonhost résistance. *Curr Opin Plant Biol*, **6** : 351-357.

Tinker N.A., Robert L.S., Butler G., Harris L.J. (2003). Data processing issues in microarray analysis. *In* Berrar D.P., Dubitzky W., Granzow M. *A practical approach to microarray data analysis*. Kluwer Academic Publishers, Boston, MA, 47-64.

Waterhouse P.M., Helliwell C.A. (2003). Exploring plant genomes by RNA-induced gene silencing. *Nat Rev Genet*, **4** : 29-38.

Wheeler D.L., Church D.M., Federhen S., Lash A.E., Madden T.L., Pontius J.U., Schuler G.D., Schriml L.M., Sequeira E., Tatusova T.A., Wagner L. (2003). Database resources of the National Center for Biotechnology. *Nucleic Acids Res*, **31** : 28-33.

Xing T., Ouellet T., Miki B.L. (2002). Towards genemics and proteomics studies of protein phosphorylation in plant-pathogen interactions. *Trends Plant Sci*, **7** : 224-230.

Yim Y.S., Davis G.L., Duru N.A., Musket T.A., Linton E.W., Messing J.W., McMullen M.D., Soderlund C.A., Polacco M.L., Gardiner J.M., Coe E.H. Jr. (2002). Characterization of three maize bacterial artificial chromosome libraries toward anchoring of the physical map to the genetic map using high-density bacterial artificial chromosome filter hybridization. *Plant Physiol*, **130** : 1686-96.

Yu J., Hu S., Yu J., Hu S., Wang J., Wong G.K., Li S., Liu B., Deng Y., Dai L., Zhou Y., Zhang X., Cao M., Liu J., Sun J., Tang J., Chen Y., Huang X., Lin W., Ye C., Tong W., Cong L.,Geng J., Han Y., Li L., Li W., Hu G., Huang X., Li W,. Li J., Liu Z., Li L., Liu J., Qi Q., Liu J., Li L., Li T., Wang X., Lu H., Wu T., Zhu M., Ni P., Han H., Dong W., Ren X., Feng X., Cui P., Li X., Wang H., Xu X., Zhai W., Xu Z., Zhang J., He S., Zhang J., Xu J., Zhang K., Zheng X., Dong J., Zeng W., Tao L., Ye J., Tan J., Ren X., Chen X., He J., Liu D., Tian W., Tian C., Xia H., Bao Q., Li G., Gao H., Cao T., Wang J., Zhao W., Li P., Chen W., Wang X., Zhang Y., Hu J., Wang J., Liu S., Yang J., Zhang G., Xiong Y., Li Z., Mao L., Zhou C., Zhu Z., Chen R., Hao B., Zheng W., Chen S., Guo W., Li G., Liu S., Tao M., Wang J., Zhu L., Yuan L., Yang H. (2002). A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. *ssp indica*). *Science*, **296** : 79-92

Yu Y., Tomkins J.P., Waugh R., Frisch D.A., Kudrna D., Kleinhofs A., Brueggeman R., Muehlbauer G.J., Wing R.A. (2000). A bacterial artificial chromosome library for barley (*Hordeum vulgare* L.) and the identification of clones containing putative resistance genes. *Theor Appl Genet*, **101** : 1093-1099.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

36

Effets non intentionnels des cultures transgéniques

Henri Darmency

Le développement de la biologie moléculaire a ouvert un champ d'intervention sur le vivant qui promet, potentiellement, de transférer aux organismes utiles toutes sortes de caractéristiques intéressantes en puisant dans le réservoir de gènes de l'ensemble des organismes vivants, voire des gènes synthétiques. C'est un véritable renouvellement des processus de domestication des plantes et des animaux, fondés non plus sur la sélection de types existant à l'intérieur de communautés de reproduction, mais sur la création de nouveaux types en transgressant les frontières des groupes d'apparentés. On peut en attendre, en terme d'innovation variétale ou d'amélioration des organismes auxiliaires, des réponses à la hauteur des enjeux de la lutte phytosanitaire. Lutte contre les maladies, protection contre les insectes, accès à des désherbages auparavant impossibles semblent maintenant à portée de main tout en réduisant les intrants pesticides. Ces avantages ont été largement décrits dans des documents de vulgarisation des acteurs économiques promouvant ces innovations (anonyme, 1997a, b) et des mises au point sur les potentialités du génie génétique (Kahn, 1999 ; Douce, 2002).

Du fait de ces potentialités énormes, le génie génétique pourrait devenir un outil incontournable, voire une panacée, dans la lutte contre les bio-agresseurs. Cette domination annoncée ou prévisible parmi les moyens de lutte ne doit pas pour autant nous priver d'un esprit critique sur les conséquences de l'utilisation des organismes génétiquement modifiés (OGM) sur l'environnement, la biodiversité et les agrosystèmes. En effet, si le spécialiste peut rester focalisé sur l'efficacité de la méthode ou de l'outil qu'il développe, son innovation est au contact d'un ensemble extraordinairement complexe d'entités diverses et de phénomènes plus ou moins bien connus dans et autour des champs. À côté des effets bénéfiques attendus des OGM, il y a donc place pour des effets non intentionnels qu'il est légitime d'anticiper et

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

d'étudier (Rissler et Mellon, 1993). L'annexe II de la directive européenne 2001/18 sur les OGM (anonyme, 2001) décrit les principes applicables à l'évaluation des risques pour l'environnement, mais peu de travaux permettent actuellement d'avoir des données même partielles sur les phénomènes en jeu et encore moins sur le résultat de leur enchaînement dans le temps et l'espace. L'identification des différences potentielles avec les organismes et les pratiques actuelles semble le plus approprié pour anticiper des connaissances manquantes sur la base de similitudes approximatives avec des phénomènes déjà étudiés.

Afin de souligner l'importance de ce questionnement et de la possibilité de prévoir des méthodes de prévention ou de gestion adaptées aux conséquences dommageables, s'il en existe, ce chapitre offre quelques réflexions et exemples pris dans le cas des plantes cultivées transgéniques. Contrairement aux auxiliaires (insectes et micro-organismes) qui sont développés encore aujourd'hui dans des conditions de confinement, et qui ne seront pas traités ici, les cultures transgéniques sont déjà cultivées sur près de 68 millions d'hectares dans le monde entier et rentrent ainsi étroitement en interaction avec le milieu où nous vivons. Elles concernent quasiment toutes des aspects de la protection des plantes : résistance à un herbicide, résistance à un insecte, résistance à un virus, pour celles actuellement cultivées (http://www.isaaa.org/), résistance aux nématodes et aux champignons pathogènes pour d'autres en développement. Les conséquences de leur utilisation sont déclinées ci-dessous selon différentes échelles.

L'origine de ces phénomènes éventuels doit être recherchée en premier lieu à l'échelle du gène, dans la différence entre un transgène et un gène natif manipulé par des méthodes d'amélioration des plantes classiques. Il faut aussi s'interroger sur les conséquences liées directement aux procédés de la transgénèse. Il convient ensuite d'examiner le devenir du produit direct du gène qui est le premier maillon des chaînes de conséquences attendues ou non. Puis, ce sont les caractéristiques des plantes modifiées, à l'échelle des organismes, qui doivent être analysées tout en essayant de dégager ce qui est nouveau par rapport à l'amélioration conventionnelle des plantes. L'existence de flux de gènes étend la notion de plante transgénique à potentiellement tous les apparentés sauvages des cultures. L'effet de l'intrusion de ces gènes et de ces plantes dans les communautés végétales spontanées doit donc être soigneusement évalué. Enfin, l'impact au niveau de la société et de son organisation doit être abordé.

1. À l'échelle du gène

L'effet de la transgénèse est le premier point qui doit être examiné car c'est effectivement la méthode d'obtention qui caractérise les OGM par opposition aux croisements variétaux, cultures de cellules, mutagénèse et autres biotechnologies dites conventionnelles. Or, les concepts américains de l'équivalence en substance (surtout utilisé dans le cadre de la réglementation alimentaire), et de familiarité, conduisent à baser les évaluations sur les caractéristiques des produits plutôt que

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

sur les procédés utilisés dans leur développement (*cf.* chapitre 44). L'analyse des transformants non conformes aux attentes a pourtant été à l'origine de connaissances nouvelles sur l'expression des gènes et ses applications (Kooter *et al.*, 1999).

Pour transférer les gènes d'intérêt, on les ligature sur l'ADN de transfert (ADN-T) de plasmides. L'ADN-T est contenu entre deux petites zones d'ADN appelées séquences de bordure qui vont permettre son insertion sur un chromosome de plante lorsqu'un plasmide a pénétré dans le noyau d'une cellule de la plante. Cependant, seul un petit nombre de transformations se déroule de façon aussi simple. Ainsi, la séquence d'ADN réellement transférée peut ne pas correspondre à la séquence prévue sans pour autant modifier l'expression du gène d'intérêt. C'est le cas du soja Roundup Ready®, largement cultivé depuis 1996 et dépassant 41 millions d'ha en 2003, soit plus de 55 % du soja mondial. Une séquence de 0,54 kb et un morceau tronqué du gène de résistance à l'herbicide de 0,25 kb sont collés à l'insert théorique, soit 30 % de séquence d'ADN en plus, d'origine incertaine mais qui n'a probablement pas de rôle (Windels *et al.*, 2001).

Dans d'autres cas, l'insert se retrouve modifié de telle manière qu'il est exprimé différemment, voire de manière totalement imprévisible. Par exemple, une betterave résistante au Roundup® déréglementée aux États-Unis présente trois insertions dont l'une associe une séquence tronquée du gène d'intérêt fusionnée avec un morceau de gène de la plante. Le tout est exprimé pour donner une protéine chimérique de 35 000 daltons, produite à quelques nanogrammes par milligramme de tissus frais. La séquence tronquée faisant partie d'une construction déjà agréée et l'autre partie étant celle d'une protéine naturelle du végétal, il n'a pas été demandé d'études plus poussées sur leur effet néfaste (Aphis, 1998). On peut regretter que celui qui a mis au point cette betterave, et qui dépend pourtant d'une puissante société, n'ait pas persévéré dans ses efforts pour fournir une variété ne possédant que les deux inserts nécessaires, ce qui aurait évité d'avoir à se poser des questions sur l'éventuel impact d'une protéine qui n'existait pas auparavant.

Il est à craindre qu'après une phase de banalisation des cultures transgéniques qui entraînerait un relâchement des processus d'agrément, l'apparition de concepteurs moins soigneux et moins scrupuleux n'ouvre la porte à la commercialisation de « variétés poubelles » dont le comportement serait complètement erratique. L'accumulation dans les variétés de différents transgènes au cours des améliorations successives par les semenciers est déjà un tel souci majeur quant aux possibilités d'interaction génique qu'il est impératif d'éviter une telle dérive. Sont déjà commercialisées des variétés associant plusieurs caractéristiques nouvelles concernant la protection des cultures, par exemple une pomme de terre aux États-Unis et au Canada avec une résistance à des insectes (gène *cry3A*), une résistance à un virus (gènes *orf1*/*orf2*), et une résistance à un herbicide (gène *CP4 EPSPS* utilisé comme marqueur) (Aphis, 1999).

Les procédés utilisés par le génie génétique sont souvent violents à l'échelle de la cellule : infection parasitaire, choc osmotique, décharge électrique, dépression, bombardement de particules. Il n'est donc pas étonnant de constater une très forte fréquence d'anomalies chromosomiques chez les plantes transformées, contraire-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

ment aux croisements entre variétés où seuls des blocs de gènes similaires sont échangés, et même aux cultures de cellules (Choi *et al.*, 2000). Ces procédés ne permettent pas actuellement de diriger l'insertion du nouvel ADN sur un endroit précis d'un chromosome donné. D'une part l'insertion, aléatoire, peut « casser » un gène de la plante en interrompant une séquence d'ADN, et d'autre part la localisation chromosomique du transgène peut fortement altérer son expression. Ceci conduit l'obtenteur à ne conserver que très peu d'événements de transformation, moins de 1 %, sur la base de tests préliminaires en serre, puis au champ. Mais seulement un petit nombre de conditions environnementales et de contextes génétiques variétaux sont testés, et des comportements inattendus pourraient se déclarer ultérieurement, en particulier dans des contextes climatiques et culturaux différents.

Cette caractéristique d'insertion aléatoire est bien connue et même utilisée dans un but de connaissance du génome végétal. La mutagénèse d'insertion consiste à implanter aléatoirement un transgène chez une plante dont le génome est complètement séquencé (comme *Arabidopsis thaliana*), et de faire correspondre tout changement du phénotype de la plante à la perte d'activité de la séquence codante affectée par l'implantation du transgène (Walden, 2002). Des conditions d'environnement variées permettent de révéler ces différents phénotypes issus des perturbations créées sur le génome receveur. Ces conditions culturales peuvent aussi influer sur l'expression même du gène transféré, en particulier des conditions de stress : forte lumière ou température (Meyer *et al.*, 1992), attaque parasitaire, voire simple opération de repiquage des plantes déclenchant une réaction de co-suppression (par exemple pour les gènes de résistance aux sulfonylurées : Brandle *et al.*, 1995).

La stabilité et l'évolution des constructions transgéniques sont des notions peu discutées. Si on peut attendre des professionnels de surveiller et de garantir l'expression des transgènes promis dans les semences certifiées livrées aux agriculteurs, qu'en est-il pour les repousses, les semences de ferme obtenues ultérieurement et les croisements avec des espèces sauvages où aucun contrôle par l'Homme n'est plus exercé ? De même, quand tel herbicide ne sera plus utilisé, ou telle résistance à telle maladie sera devenue inopérante, les transgènes correspondants resteront, malgré cela, commercialisés, car partagés par les meilleures ressources variétales ; et ils évolueront sans contrôle. Il est difficile d'imaginer le devenir des séquences d'ADN après délétion partielle de la construction, recombinaison, ou seulement une mutation.

La présence de gènes marqueurs permettant de repérer les plantes transformées dans les premiers stades de l'opération est par ailleurs préoccupante, car le plus souvent non exprimés dans la plante, ils sont néanmoins présents, donc soumis à l'évolution dès la première génération de descendants. Ce sont souvent des gènes de résistance à des antibiotiques (ampicilline, kanamycine, gentamycine, et phosphinotricine qui est aussi l'herbicide glufosinate). Un transfert à des bactéries pathogènes des animaux ou de l'homme accroîtrait le poids des résistances aux antibiotiques disponibles, mais ce devrait être un phénomène rare (Bertolla *et al.*, 2000), sans grand effet sur l'épidémiologie de ces maladies. De plus, les variétés avec de tels gènes ne sont plus agréées depuis 2004 en Europe. En revanche, des recombinaisons durant la replication des virus à ARN qui affecteraient des plantes trans-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

géniques résistantes à d'autres virus pourraient accélérer l'évolution des maladies virales en affectant spécificité et gamme d'hôtes (Greene et Allison, 1994).

2. *Les produits des transgènes*

Le produit direct, primaire, des transgènes représente la première étape dans le mécanisme mis en œuvre pour aboutir aux améliorations désirées. Il s'agit le plus souvent de produits nouveaux pour une famille botanique, et aussi pour les tissus, les organes et le milieu où ils vont se trouver. Les flux de matières sont la base de l'écologie des milieux. Tel enzyme bactérien de détoxication d'un herbicide, ou telle toxine servant à résister à un insecte, ne se sont jamais trouvés auparavant dans les couches de litière en décomposition. Dans le cas de la protéine *Bt* (la toxine extraite de *Bacillus thuringiensis*) pulvérisée sur les cultures, il n'y avait pas de pénétration foliaire et la dégradation à la surface du sol était quasi-immédiate. La détention dans des tissus végétaux enfouis dans le sol d'une plante transgénique est plutôt favorable à une dégradation microbienne, mais la faible fraction qui persiste à long terme peut représenter un risque d'exposition répétée pour des organismes non-cibles ou être véhiculée dans les eaux de surface (Palm *et al.*, 1996).

Les exudats racinaires sont bien connus pour influencer la microflore du sol : la production de composés et de protéines intermédiaires liés à des transgènes n'échappe pas à la règle (Oger *et al.*, 2000). Ce phénomène pourrait être utilisé pour activer le développement d'une rhizosphère favorable à la croissance des plantes et protectrice à l'encontre des agresseurs. Les transgènes utilisés actuellement en protection des cultures ne semblent pas développer ce type de réaction. Ainsi, la rhizosphère d'un maïs résistant à l'herbicide glufosinate n'est pas différente, sur la base des signatures moléculaires des micro-organismes, de celle de la variété isogénique non transgénique dans le même champ, alors que celle de betteraves cultivées dans la même expérimentation est clairement différente (Schmalengerger et Tebbe, 2002). Il ne s'agirait donc pas, dans le court terme, d'un bouleversement notable au regard des pratiques agricoles habituelles. Dans le cas de la toxine *Bt*, son accumulation dans le sol par exudat racinaire s'ajoute aux résidus des plantes, mais elle peut se conserver beaucoup plus longtemps active en se liant à des particules d'argile ou de l'humus (Saxena *et al.*, 1999).

L'exemple le plus simple de l'effet « substrat nouveau » est l'hétéro-encapsidation. La résistance à un premier virus est obtenue chez une plante par production de protéines capsides qui perturbe la multiplication de ce virus. Si un second virus infecte la plante, il peut s'encapsider avec les molécules correspondant au premier virus et produites en grande quantité par la plante résistante. L'aptitude à être transmis par un vecteur comme les insectes dépendant de la protéine capside, l'hétéro-encapsidation permet alors de changer localement et temporairement (il n'y a pas de modification des génomes) l'épidémiologie de la maladie qui trouve ici un nouveau moyen de dispersion (Bourdin et Lecoq, 1991). Dans certains cas, un tel risque peut être éliminé en modifiant le gène de protéine capside de telle manière

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

qu'il ne soit plus reconnu par le second virus, mais ceci suppose de connaître toutes les interactions potentielles au sein d'une plante.

Lorsqu'ils sont toxiques, il faut prendre en compte les effets directs de ces produits sur des organismes sauvages non-cibles, par exemple les abeilles qui pourraient prélever du nectar et du pollen contenant des molécules toxiques. Les produits sont à considérer au cas par cas, les études en montrant certains comme complètement inoffensifs et d'autres, comme les inhibiteurs trypsiques (*CpTI* : résistance aux insectes), pouvant altérer le comportement d'apprentissage dans la ruche (Picard-Nizou *et al.*, 1997). De même, quand le monarque (*Danaus plexippus*), ce beau papillon migrateur, consomme du pollen de maïs contenant la toxine *Bt*, sa mortalité est très importante. Cette constatation expérimentale doit cependant être composée avec les chances d'accès des chenilles à ce type de pollen dont l'abondance diminue rapidement dès que l'on s'écarte de la bordure des champs de maïs. Le danger doit aussi être évalué par comparaison à l'effet des embruns d'insecticides sur la même population de chenilles dans les marges des champs. De plus, la controverse disparaît si la toxine *Bt* n'est produite que dans les organes végétatifs et est absente du pollen, ce qui est obtenu par certains types de constructions géniques appropriées (Gatehouse *et al.*, 2002).

3. *Les organismes transgéniques*

Les plantes rendues transgéniques pour leur protection possèdent à l'évidence des avantages pour la croissance et la reproduction dans les milieux où les herbicides, les ravageurs et les maladies concernées sont présents. Si l'action de ces bioagresseurs est bien connue dans les champs, ce n'est pas le cas dans les milieux marginaux et naturels où les communautés sont plus complexes et des équilibres s'établissent. Ainsi, sur dix ans, l'implantation de colza, maïs, betterave et pomme de terre transgéniques résistants à des herbicides ou des insectes dans des milieux variés, n'a pas montré de différence du taux de renouvellement de ces plantes par rapport à leurs homologues non transgéniques (Crawley *et al.*, 2001). Elles ne sont donc ni plus ni moins invasives que des variétés classiques. De plus, les processus de domestication ont rendu de nombreuses cultures très dépendantes des conditions du champ offertes par l'homme et les ont aussi privé de caractéristiques importantes, quoique pas obligatoires, pour perdurer dans des habitats naturels, comme l'absence de contrôle de la dormance et de la caducité des graines.

En revanche, la perte par égrainage d'une partie de la récolte peut poser dans les champs des problèmes, des repousses se comportant comme des mauvaises herbes et pouvant éventuellement évoluer vers des types adventices. C'est un problème majeur d'infestation, difficile à contrôler dans le cas des résistances à des herbicides, d'autant plus important que l'herbicide auquel elles sont résistantes est aussi utilisé dans d'autres cultures de la rotation. Dans le cas du colza, une approche par modélisation permet d'identifier les pratiques culturales et les rotations à risques (Colbach et *al.*, 2001). En outre, en se croisant entre elles ou avec des congénères

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

des champs voisins, les repousses peuvent accumuler des gènes de résistance différents et compliquer énormément la tâche de l'agriculteur qui n'a pas les moyens de les identifier et qui peut être tenté d'augmenter les doses et de mélanger les herbicides. Un premier exemple a déjà été rapporté au Canada où des repousses de colza résistantes à trois herbicides sont apparues en deux ans à la suite de la culture locale des trois variétés transgéniques correspondantes (Hall *et al.*, 2000).

L'un des risques le plus souvent évoqué est la possibilité de dissémination des transgènes aux plantes apparentées. Des plantes sauvages deviendraient alors des organismes transgéniques. Les croisements interspécifiques faisant intervenir cultures et espèces sauvages sont connus pour la plupart des cultures, mais ils supposent que ces plantes fleurissent à proximité les unes des autres et que les hybrides soient fertiles. Ils ont été mis en évidence dans les couples riz/riz rouge, blé/égilope, colza/navette-roquette-ravenelle, betterave/betteraves adventices, et aussi chez le sorgho, le tournesol, les millets, les avoines, les luzernes, les carottes, les laitues, les fraises, etc. (Ellstrand *et al.*, 1999 ; Stewart *et al.*, 2003). Dans le passé, les hybrides interspécifiques ne bénéficiaient d'aucun avantage adaptatif nouveau car les résistances aux herbicides et aux pathogènes étaient semblables chez la plupart des espèces d'un même sous-groupe botanique. La résistance d'origine transgénique apporte maintenant un facteur de survie nouveau et très efficace qui va maintenir ces hybrides et favoriser leurs descendants.

Avec le transfert sexué de ces gènes avantageux pour la santé des végétaux, on peut craindre l'adaptation de « super » mauvaises herbes, résistantes à de nouveaux herbicides et moins pénalisées par les attaques des insectes et des maladies (Darmency, 1994). Le flux de transgène et sa fixation seront d'autant plus rapides que la valeur adaptative qu'il confère est forte. C'est le cas pour la résistance aux herbicides dans les champs qui permet même de contrebalancer les troubles très forts de développement dus à l'hybridation chez certaines espèces (Guéritaine *et al.*, 2002). L'expression de la toxine *Bt* se révèle aussi comme un avantage qui conduit à l'augmentation de la taille des populations d'adventices apparentées, et qui a aussi un impact secondaire sur le cortège habituel de Lépidoptères sur ces plantes sauvages (Pilson *et al.*, 2002). Le bénéfice d'une caractéristique de résistance observé au niveau individuel n'est cependant pas toujours répercuté au niveau des peuplements, ou sur les paramètres démographiques, car les interactions trophiques sont complexes dès que l'on s'engage dans des expérimentations en conditions naturelles (Friess et Maillet, 1997 ; Burke et Rieseberg, 2003).

Enfin, l'utilisation d'un herbicide nouveau sur une culture transgénique, ou la présence d'une toxine anti-insecte, conduit à exercer une pression de sélection qui n'existait pas auparavant et peut faire émerger des populations résistantes, ce qui annule à terme l'efficacité de l'herbicide ou de la toxine. Si en vingt ans d'utilisation massive, le glyphosate, qui représentait 11 % du marché mondial des herbicides avant les plantes transgéniques, n'a fait apparaître que deux espèces d'adventices résistantes, quelques années de culture de coton transgénique résistant au glyphosate ont suffi pour en faire surgir une nouvelle (Van Gessel, 2001) qui s'étend déjà en 2003 sur dix états des États-Unis. De même, on s'est rapidement

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

inquiété de la sélection d'insectes observés initialement au laboratoire, résistants aux diverses formes de la toxine *Bt*, (Ferré et Van Rie, 2002). Il faut aussi envisager la possibilité de colonisation des cultures par d'autres bio-agresseurs, auparavant absents ou non considérés comme tels, dans des systèmes de cultures qui leur étaient défavorables, et qui peuvent être naturellement peu sensibles aux nouveaux herbicides ou à la toxine *Bt* dans un système de culture simplifié.

Afin d'éviter ce phénomène au champ, des stratégies de prévention et de gestion sont recommandées, voire appliquées sur de vastes territoires (États-Unis), comme la stratégie des refuges pour éviter l'apparition d'insectes résistants à la toxine *Bt*. Cette stratégie est fondée sur le fait que toutes les résistances à cette toxine observées jusqu'à présent sont récessives ou codominantes. Il s'agit de préserver une partie des populations sensibles dans des zones refuges afin qu'elles puissent se reproduire avec les rares individus résistants survivant dans les champs de plantes *Bt*, ce qui donne des descendants hétérozygotes dont le niveau de résistance intermédiaire est insuffisant. Son application est cependant soumise à des inconnues : absence de résistance dominante, toxine toujours fortement exprimée dans la plante, mobilité et accouplement aléatoire des insectes, absence de décalage dans l'époque d'accouplement des résistants et des sensibles (Andow, 2002). L'addition d'autres gènes de résistance ayant un mode d'action différent est aussi suggérée afin de « protéger » réciproquement chaque résistance, mais ce système pourrait aussi être contourné par les mécanismes de résistance propres aux insectes, en particulier les résistances croisées (Roush, 1998).

4. *À l'échelle des communautés*

Mis à part la résistance à un herbicide qui n'est avantageuse pour les plantes que dans les terrains désherbés, les caractéristiques modifiées pour la protection des plantes sont susceptibles de conférer un avantage aussi bien dans les agrosystèmes que dans les milieux naturels, aux plantes transgéniques et aussi aux plantes sauvages, si des transgènes leur sont accidentellement transférés. De tels avantages suffisent à déplacer des équilibres fragiles dans des communautés végétales où des espèces en limite d'adaptation supportent peu la pression de compétition des plantes voisines. Ce faisant, la chaîne alimentaire dans ces habitats peut s'en trouver bouleversée. On doit donc s'attendre à rencontrer des scénarios accélérant ou entraînant la création de nouvelles entités invasives, des dommages aux espèces non concernées, la désagrégation de communautés végétales et animales, la modification de processus écologiques, l'altération des taux de régénération des milieux naturels, l'introduction de composés toxiques, etc.

Le premier exemple concerne la lutte biologique et les équilibres des peuplements de bio-agresseurs. Des effets négatifs sur la reproduction des auxiliaires des cultures ont été démontrés dans la simple chaîne « plante-ravageur-prédateur » où l'effet de la plante sur le ravageur est suivi d'une disparition des prédateurs et des parasites du ravageur (Birch *et al.*, 1999). Cependant, réunir des données sur les

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

effets indirects n'est pas facile, et les techniques sont souvent peu adaptées ou pas cohérentes avec les conditions réelles de l'écosystème concerné (Hilbeck et Andow, 2002). Il faut donc rester vigilant, d'autant plus que les modifications des systèmes complexes qui forment l'écologie de notre habitat ne seront perceptibles qu'à long terme, mais peut-être pas rattrapables : les pesticides ont une demi-vie, pas les gènes !

Si aucune méthodologie ne permet actuellement d'évaluer des effets chroniques et à long terme sur notre environnement et son évolution, l'équation galvaudée « risque = probabilité × impact négatif d'un événement » doit être évaluée au regard des situations prévalant actuellement. Par exemple, les dommages collatéraux des plantes *Bt* résistantes aux insectes, dont ceux sur le monarque, doivent être comparés à ceux dus à l'utilisation d'insecticides. De même, la réduction des insectes bénéfiques parasitant les ravageurs des cultures, qui ne peuvent plus se développer car la mort de l'hôte ayant ingéré la toxine *Bt* est trop précoce, et des prédateurs, dont la quantité de proies diminue, n'est pas unique à la stratégie OGM. Enfin, la conséquence d'un désherbage est logiquement la raréfaction des mauvaises herbes, ce qui entraîne la réduction de l'habitat hébergeant l'entomofaune et la chute de la production de petites graines, et donc la raréfaction des animaux des champs qui en étaient consommateurs : il n'est donc pas étonnant que l'utilisation des cultures transgéniques résistantes aux herbicides s'inscrive aussi, mais pas plus, dans ce processus (Hawes *et al.*, 2003).

Il est un autre domaine, entre agrosystèmes et société où on doit rester vigilant : c'est le risque de perdre des moyens de lutte phytosanitaires. Mettre au point des pesticides revient cher et doit parfois être rentabilisé en quelques années seulement, donc avec des prix élevés sur le marché. Face à cela, l'avancée des biotechnologies et des connaissances aidant, le coût d'une lutte phytosanitaire équivalente *via* une culture transgénique deviendra de plus en plus attrayant. Les investissements dans l'agrochimie se raréfieront, des compétences disparaîtront, les infrastructures de production deviendront obsolètes, les réseaux commerciaux se déplaceront, ce qui pourrait priver l'agriculture de moyens de fournir de nouvelles réponses de lutte chimique dans le cas où les défenses de type OGM seraient contournées.

De même, le faible coût, la simplicité d'emploi, et l'efficacité des stratégies OGM sont un frein à la recherche, le développement et l'adoption de méthodes de lutte biologiques ou culturales souvent lourdes et apportant des solutions moins radicales. Dans le cas de la résistance aux herbicides, leur efficacité sur les cultures transgéniques actuellement développées risque de faire perdre la notion du désherbage optimum, raisonné dans la rotation, au profit d'un désherbage total systématique et conduisant finalement à l'emploi abusif des mêmes molécules qui finiront par se retrouver en excès dans les rivières et les nappes. De plus, selon les différents modes d'action des herbicides et les différents mécanismes de résistance (de cible ou par détoxication) des résidus d'herbicides ou leurs métabolites pourraient se retrouver dans les produits alimentaires et avoir des effets toxiques à long terme, ce qui nécessite aussi un processus d'homologation rigoureux et spécifique pour chaque culture.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

5. *À l'échelle de la société*

Il existe en Europe un grand débat public sur l'acceptabilité des OGM et de leurs produits (Marris, 2001). Les avantages agronomiques à l'usage des producteurs ne concernant pas les consommateurs, les premières cultures transgéniques se sont heurtées à une incompréhension, voire une hostilité générale. Le poids des associations de consommateurs a conduit à la notion de traçabilité et d'étiquetage des produits selon leur origine et leur qualité, afin de respecter le libre choix des acheteurs. Une caractéristique importante est devenue le taux maximal de matériel OGM admissible dans un lot réputé sans OGM : 0,9 % du fait d'une présence fortuite (anonyme, 2003), voire 0 % dans des cultures biologiques. En conséquence, il revient aux autorités nationales d'établir les meilleures stratégies et pratiques afin d'assurer la coexistence des cultures transgéniques, conventionnelles et biologiques. Les études et les simulations réalisées (Colbach *et al.*, 2004) montrent les contraintes nécessaires à imposer au mode d'organisation et de fonctionnement actuel du monde agricole, notamment au niveau de la distribution spatiale des cultures dans le paysage et entre les régions.

La chasse aux contaminations est ouverte sans que, pour autant, on en connaisse la dangerosité. Les contaminations proviennent des flux de pollen entre variétés qui poussent à des distances insuffisamment éloignées les unes des autres, mais aussi de la pureté des semences certifiées vendues par les producteurs de semences, des transports de graines par les engins agricoles, des filières de récolte qui doivent être séparées et des processus de transformation agroalimentaire. Il s'agit bien d'une conséquence sociétale qui risque d'être importante en Europe où la coexistence devra être gérée par décrets alors que l'espace rural est encore considéré comme un espace de liberté, en particulier par les agriculteurs. Cette question n'existe pas aux États-Unis où les cultures transgéniques agréées par les différentes administrations ne sont pas réglementées. Cependant, dans ce pays, le mode de gestion contractuel de la culture des OGM, de l'achat de la semence à la livraison de la récolte, entraîne des contestations et des litiges qui se traitent déjà devant les tribunaux (voir le mot-clé « *court* » dans http://www.cropchoice.com). L'intégration plus poussée de l'agriculteur, dominé par les grandes sociétés de phytopharmacie et les producteurs de semences, est la contrepartie d'une offre de travail simplifié et plus rémunérateur qu'apportent actuellement les OGM en protection des cultures.

Enfin, l'étiquetage des produits créant un marché séparé, au même titre que l'agriculture biologique, permet au consommateur d'influer sur le type de production agricole qu'il entend plébisciter pour des critères de qualité ou de protection de l'environnement. Il a donc un effet direct sur la vitesse d'adoption des variétés transgéniques au travers de l'anticipation des possibilités d'écoulement sur le marché national ou international et sur l'organisation des filières (http://www.isaaa.org/). La mise en place des expériences au champ est également prise en compte dans ce questionnement, et les instituts de recherches sont tenus à la négociation pour dégager un consensus entre les différents acteurs, par exemple en France dans le cas de la recherche de porte-greffe de vigne résistant au « court-noué »

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

(http://www.inra.fr/genomique/ogm-vigne-declaration-dg.html). L'interrogation sur les bénéfices attendus et les conséquences envisageables est alors beaucoup plus riche : on remarquera que c'est grâce à ces questionnements sur la distance de diffusion des transgènes dans la nature et les croisements entre variétés que d'importants progrès ont été réalisés dans la modélisation des flux de pollen (Klein *et al.*, 2003).

Conclusion

Nous avons essayé dans ce chapitre de dégager des origines et des mécanismes possibles pouvant conduire à des effets non intentionnels de l'utilisation des OGM dans la lutte phytosanitaire. Ces phénomènes ne présentent pas systématiquement des conséquences néfastes. Ils sont souvent de même ordre ou de même nature que ceux liés aux variétés cultivées conventionnelles, mais certains sont spécifiques aux plantes transgéniques (Darmency, 2003). Des programmes d'évaluation à moyen terme ont été mis en place afin de les étudier : plateforme OGM inter-instituts en France (Champolivier *et al.*, 1999), *Farm Scale Evaluation* au Royaume-Uni (Hawes *et al.*, 2003). Des mesures de biovigilance (*cf.* chapitre 45) devraient être associées aux commercialisations des cultures transgéniques en Europe afin de pouvoir détecter des évolutions dommageables. Cependant, quel point de référence de départ adopter, dans quel pays et dans quelles conditions, comment être sûr de l'interaction avec d'autres facteurs, quel temps de réponse ? La complexité des systèmes écologiques, agrosystèmes inclus, rend difficile l'évaluation des risques et des bénéfices, et peu d'études sont disponibles.

Notre capacité à prédire les impacts écologiques et sociétaux d'une innovation agricole doit pouvoir prendre en compte les transgènes considérés au cas par cas, les conditions géographiques et agricoles où ils se déroulent, les systèmes que les cultures transgéniques viennent concurrencer, et les mesures de prévention et de gestion qui auront été adoptées par les obtenteurs et les agronomes. Ainsi, différentes propositions sont apparues au niveau moléculaire pour la contention des transgènes (Daniell, 2002), et des modèles comme « GeneSys » peuvent aider à hiérarchiser l'effet des systèmes de culture (Colbach et *al.*, 2001). Le débat sur l'économie de pesticides que les plantes transgéniques devraient permettre est loin d'être clos (Benbrook : http://www.biotech-info.net/technicalpaper6.html) car il est difficile d'obtenir des statistiques éprouvées, l'évolution des techniques est constante et de nombreux biais empêchent les comparaisons « toutes choses égales par ailleurs » (Bonny et Sausse, 2004). Il semble néanmoins possible d'obtenir une efficacité durable de la lutte phytosanitaire (Carrière *et al.*, 2003). C'est au prix d'une réflexion dépassant le réductionnisme scientifique et la recherche de bénéfice à court terme que les plantes transgéniques pourront s'insérer dans des systèmes d'agriculture durable.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Références bibliographiques

Andow D.A. (2002). Resisting resistance to *Bt*-corn. *In*: Letourneau D.K., Burrows B.E. *Genetically engineered organisms: assessing environmental and human health effects.* CRC Press, Boca Raton, 99-124.

Anonyme (1997a). *Les plantes génétiquement modifiées : une clef pour l'avenir.* Livre blanc CFS-GNIS-UIPP, Paris.

Anonyme (1997b). *Le livre vert du maïs Ch.* Novartis Seeds, Bâle.

Anonyme (2001). *Journal Officiel des Communautés européennes.* 17 avril 2001 : L 106/1-38.

Anonyme (2003). *Journal Officiel de l'Union Européenne.* 18 avril 2003 : L 268/24-28.

Aphis (1998). http://www.aphis.usda.gov/brs/aphisdocs/98_17301p.pdf

Aphis (1999). http://www.aphis.usda.gov/brs/aphisdocs/99_17301p.pdf

Bertolla F., Pépin R., Passelegue-Robe E., Paget E., Simkin A., Nesme X., Simonet P. (2000). Plant genome complexity may be a factor limiting in situ the transfer of transgenic plant genes to the phytopathogen *Ralstonia solanacearum. Appl Environ Microbiol*, **66** : 4161-4167.

Birch A.N.E., Geoghegan I.E., Majerus M.E.N., McNicol J.W., Hackett C.A., Gatehouse A.M.R., Gatehouse J.A. (1999). Tri-trophic interactions involving pest aphids, predatory 2-spot ladybirds and transgenic potatoes expressing snowdrop lectin for aphid resistance. *Mol Breeding*, **5** : 75-83.

Bonny S., Sausse C. (2004). Les cultures transgéniques permettent-elles de réduire l'usage des produits phytosanitaires ? Considérations à partir du cas du soja tolérant au glyphosate. *OCL-OL Corps Gras Li*, **11** : 85-91.

Bourdin D., Lecoq H. (1991). Evidence that heteroencapsidation between two potyvirus is involved in aphid transmission of a non-aphid-transmissible isolate from mixed infections. *Phytopathology*, **81** : 1459-1464.

Brandle J.E., McHugh S.G., James L., Labbe H., Miki B.L. (1995). Instability of transgene expression in field grown tobacco carrying the csr1-1 gene for sulfonylurea herbicide resistance. *Bio/Technology*, **13** : 994-998.

Burke J.M., Rieseberg L.H. (2003). Fitness effects of transgenic disease resistance in sunflowers. *Science*, **300** : 1250.

Carrière Y., Ellers-Kirk C., Sisterson M., Antilla L., Whitlow M., Dennehy T.J., Tabashnik B.E. (2003). Long-term regional suppression of pink bollworm by *Bacillus thuringiensis* cotton. *Proc Natl Acad Sci USA*, **100** : 1519-1523.

Champolivier J., Gasquez J., Messéan A., Richard-Molard M. (1999). Management of transgenic crops within the cropping system. *In* Lutman P.J.W., *Gene flow and agriculture: relevance for transgenic crops.* BCPC Symposium Proceedings No 72, Keele, 233-240.

Choi H.W., Lemaux P.G., Cho M.J. (2000). High frequency of cytogenetics aberration in transgenic oat (*Avena sativa* L.) plants. *Plant Sci*, **156** : 85-94.

Colbach N., Angevin F., Meynard J.-M., Messéan A. (2004). Using the GeneSys model quantifying the effect of cropping systems on gene escape from GM rape varieties to evaluate and design cropping systems. *OCL-OL Corps Gras Li*, **11** : 11-40.

Colbach N., Clermont-Dauphin C., Meynard J.-M. (2001). GeneSys: A model of the influence of cropping system on gene escape from herbicide tolerant rapeseed crops to rape volunteers. I. Temporal evolution of a population of rapeseed volunteers in a field. *Agr Ecosyst Environ*, **83** : 235-253.

Crawley M.J., Brown S.L., Hails R.S., Kohn D.D,. Rees M. (2001). Transgenic crops in natural habitats. *Nature*, **409** : 682-683.

Daniell H. (2002). Molecular strategies for gene containment in transgenic crops. *Nat biotechnol*, **20** : 581-586.

Darmency H. (1994). The impact of hybrids between genetically modified crop plants and their related species: introgression and weediness. *Mol Ecol*, **3** : 37-40.

Darmency H. (2003). Transgenic herbicide-resistant crops: what makes the difference? *In* Lelley T., Balazs E., Tepfer M., *Ecological impact of GMO dissemination in Agro-Ecosystems.* OECD, Grossrussbach, 77-88.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Douce R. (2002). *Les plantes génétiquement modifiées : rapport n° 13 de l'Académie des Sciences.* Lavoisier Tec & Doc, Paris.

Ellstrand N.C., Prentice H.C., Hancock J.F. (1999). Gene flow and introgression from domesticated plants into their wild relatives. *Annu Rev Ecol Syst*, **30** : 539-563.

Ferré J., Van Rie J. (2002). Biochemistry and genetics of insect resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annu Rev Entomol*, **47** : 501-533.

Friess N., Maillet J. (1997). Influence of cucumber mosaic virus infection on the competitive ability and reproduction of chickweed (*Stellaria media*). *New Phytol*, **135** : 667-674.

Gatehouse A.M.R, Ferry N., Raemaekers R.J.M. (2002). The case of the monarch butterfly: a verdict is returned. *Trends Genet*, **18** : 249-251.

Greene A.E., Allison R.F. (1994). Recombination between viral RNA and transgenic plant transcripts. *Science*, **263** : 1423-1425.

Guéritaine G., Sester M., Eber F., Chèvre A.M., Darmency H. (2002). Fitnes of backcross six of hybrids between transgenic oilseed rape (*Brassica napus*) and wild radish (*Raphanus raphanistrum*). *Mol Ecol*, **11** : 1419-1426.

Hall L., Topinka K., Huffman J., Davis L., Good A. (2000). Pollen flow between herbicide-resistant *Brassica napus* is the cause of multiple-resistant *B napus* volunteers. *Weed Sci*, **48** : 688-694.

Hawes C., Haughton A.J., Osborne J.L., Roy D.B., Clark S.J., Perry J.N., Rothery P., Bohan D.A., Brooks D.R., Champion G.T., Dewar A.M., Heard M.S., Woiwod I.P., Daniels R.E., Young M.W., Parish A.M., Scott R.J., Firbank L.G., Squire G.R. (2003). Responses of plants and invertebrate trophic groups to contrasting herbicide regimes in the Farm Scale Evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. *Phil Trans R Soc Lond*, **358** : 1899-1913.

Hilbeck A., Andow D. (2002). Data requirement for ecological risk assessment of transgenic plants. *In* Lelley T., Balazs E., Tepfer M. *Ecological impact of GMO dissemination in Agro-Ecosystems.* OECD, Grossrussbach, 193-211.

Kahn A. (1999). *Ten years experience of the French Biomolecular Engineering Commission.* John Libbey, Eurotext, Paris, 148.

Klein E., Lavigne C., Foueillassar X., Gouyon P.H., Laredo C. (2003). Corn pollen dispersal: quasi-mechanistic models and field experiments. *Ecol Monographs*, **73** : 131-150.

Kooter J.M., Matzke M.A., Meyer P. (1999). Listening to the silent genes: transgenes silencing, gene regulation and pathogen control. *Trends Plant Sci*, **4** : 340-347.

Marris C. (2001). La perception des OGM par le public : remise en cause de quelques idées reçues. *Économie Rurale*, **266** : 58-79.

Meyer P., Linn F., Heidmann I., Meyer H.Z.A., Niedenhof I., Saedler H. (1992). Endogenous and environmental factors influence 35S promoter methylation of a maize A1 gene construct in transgenic petunia and its colour phenotype. *Mol Gen Genet*, **231** : 345-352.

Oger P., Mansouri H., Dessaux Y. (2000). Effect of crop rotation and soil cover on alteration of the soil microflora generated by the culture of transgenic plants producing opines. *Mol Ecol*, **9** : 881-890.

Palm C.J., Schaller D.L., Donegan K.K., Seidler R.J. (1996). Persistence in soil of transgenic plant produced *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* δ-endotoxin. *Can J Microbiol*, **42** : 1258-1262.

Picard-Nizou A.L., Grison R., Olsen L., Pioche C., Arnold G., Pham-Delègue M.H. (1997). Impact of proteins used in plant genetic engineering: toxicity and behavioral study in the honeybee. *J Econ Entomol*, **90** : 1710-1716.

Pilson D., Snow A.A., Rieseberg L.H., Alexander H.M. (2002). Effects of a *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) transgene on the fecundity and abundance of weeds: a case study of sunflower. *In* Lelley T., Balazs E., Tepfer M., *Ecological impact of GMO dissemination in Agro-Ecosystems.* OECD, Grossrussbach, 173-189.

Rissler J., Mellon M. (1993). *Perils admists the promise: ecological risks of transgenic crops in a global market.* Union of Concerned Scientists, Cambridge, USA.

Roush R.T. (1998). Two-toxin strategies for management of insecticidal transgenic crops: can pyramiding succeed where pesticide mixture have not? *Phil Trans R Soc Lond*, **353** : 1777-1786.

Saxena D., Flores S., Stotzky G. (1999). Insectidal toxin in root exudates from *Bt* corn. *Nature*, **402** : 480.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Schmalenberger A., Tebbe C.C. (2002). Bacterial community composition in the rhizosphère of a transgenic, herbicide-resistant maize (*Zea mays*) and comparison to its non-transgenic cultivar Bosphore. *FEMS Microbiol Ecol*, **40** : 29-37.

Stewart C.N., Halfhill M.D., Warwick S.I. (2003). Transgene introgression from genetically modified crops to their wild relatives. *Nature Rev Genet*, **4** : 806-817.

Van Gessel M.J. (2001) Glyphosate-resistant horseweed from Delaware. *Weed Sci*, **49** : 703-705.

Walden R. (2002). T-DNA tagging in a genomics era. *Crit Rev Plant Sci*, **21** : 143-165.

Windels P., Taverniers I., Depicker A., Van Bockstaele E., De Loose M. (2001). Characterization of the Rounup Ready soybean insert. *Eur Food Res Technol*, **213** : 107-112.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

37

Effets non intentionnels des plantes transgéniques sur les insectes non-cibles

Aude Couty, Jacqueline Pierre,
Minh-Hà Pham-Delègue

La lutte phytosanitaire contre les insectes et les mauvaises herbes a principalement recours à l'utilisation de produits chimiques qui sont souvent polluants pour l'environnement et susceptibles d'induire des phénomènes de résistance chez les organismes cibles. Depuis 1995, des plantes résistantes aux insectes ravageurs sont commercialisées par quelques semenciers et agrochimistes. Ces plantes (maïs, cotonnier, colza, pomme de terre) expriment un gène codant pour une delta-endotoxine de la bactérie *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), contre les Lépidoptères (CryI) et les Coléoptères (CryIII) essentiellement (pour revues : Jouanin *et al.*, 1998a ; Schuler *et al.*, 1998). D'autres gènes sont aussi soupçonnés de donner aux plantes des propriétés entomotoxiques : inhibiteurs de protéases, lectines, chitinases, phénol oxydase, avidine du blanc d'œuf, etc. Ces plantes transgéniques représentent une alternative, apparemment séduisante, à la lutte chimique, car elles seraient moins polluantes pour l'environnement et permettraient de réduire les phénomènes de résistance chez les insectes cibles, tout en permettant une amélioration des rendements. De la même manière, les plantes génétiquement modifiées pour leur résistance aux herbicides, ont pour but de réduire la durée et l'intensité des traitements herbicides dans les cultures. Malgré les bénéfices potentiels apportés par les plantes génétiquement modifiées, des questions se posent, en terme d'impact écologique, sur leur introduction dans les systèmes de culture (Wolfenbarger et Phifer, 2000 ; CETIOM, 2000 ; *cf.* chapitre 36). Ces risques écologiques concernent les flux de gènes c'est-à-dire le transfert de gènes d'intérêt vers d'autres organismes. Ce type de risque a été principalement étudié dans le cas de plantes exprimant une tolérance à un herbicide. Ainsi, des travaux ont montré la possibilité de transfert de gènes de colzas génétiquement modifiés vers des plantes de la même espèce (Lavigne *et al.*, 1998) ou d'espèces voisines (Chèvre *et al.*, 1997). Le risque concerne alors le contrôle

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

de filières avec ou sans organismes génétiquement modifiés (OGM), ainsi que la gestion des repousses et des mauvaises herbes. On peut même craindre les transferts de gènes vers d'autres types d'organismes, tels que les micro-organismes du sol (Bertolla et Simonet, 1999), ou du tube digestif des abeilles, comme le suggèrent les travaux de Kaatz, non publiés, mais rapportés en mai 2000 dans *The Observer*. Cette possibilité de transfert intra/interspécifique a été démontrée par des modèles mathématiques et des expérimentations, mais il s'agit d'événements rares, dont les conséquences à long terme restent à établir. Toutefois, se posent les questions des effets sur les organismes (insectes) non-cibles. Le risque porte sur une réduction de la biodiversité en général, et plus particulièrement sur la réduction de populations d'insectes utiles. Ces effets ont été envisagés essentiellement dans le cas du maïs *Bt* résistant à la pyrale du maïs (*Ostrinia nubilalis*). La plupart des études ne mentionne pas d'effets négatifs sur l'entomofaune non-cible potentiellement exposée à la culture (Neuhaus, 1999), à l'exception notable de deux études spécifiques, qui indiquent une toxicité du pollen de maïs *Bt* sur des larves de chrysope (*Chrysoperla carnea*), prédateur de pucerons (Hilbeck *et al.*, 1998), et sur des larves du papillon monarque (*Danaus plexippus*) (Losey *et al.*, 1999). Toutefois, ces études ont été critiquées notamment en raison de conditions expérimentales très éloignées des conditions naturelles.

Dans ce contexte, nous avons développé des études visant à évaluer les effets de plantes d'intérêt agronomique, résistantes à des insectes ravageurs et résistantes à un herbicide, sur la biodiversité de l'entomofaune en général et plus particulièrement sur des insectes auxiliaires de l'agriculture. En effet, on trouve, associés aux plantes non seulement les insectes phytophages mais aussi les insectes pollinisateurs, indispensables à la reproduction de la plante, et les insectes parasitoïdes et prédateurs, importants régulateurs naturels des populations d'insectes ravageurs. L'ensemble de ces insectes utiles peut être également exposé aux protéines insecticides, soit directement en consommant des produits des plantes (pollen, nectar) ou des dérivés (miellat d'Homoptères), soit indirectement par le biais de l'insecte phytophage (hôte pour le développement larvaire des parasitoïdes, proie des prédateurs). La transformation génétique des plantes peut aussi entraîner des effets indirects sur les insectes utiles à la suite de modifications inattendues du phénotype de la plante (Malone et Pham-Delègue, 2002). Ainsi, l'insertion aléatoire du transgène dans le génome de la plante peut interférer avec les gènes constitutifs (mutagénèse insertionnelle). Un autre type d'effet indirect peut être également engendré par l'interaction de la protéine issue du transgène avec le métabolisme de la plante (effet pléiotropique).

Dans ce chapitre, nous présenterons les travaux que nous avons réalisés sur les effets de plantes exprimant des gènes de résistance aux insectes (inhibiteurs de protéases, lectines), et de plantes exprimant un gène de résistance aux herbicides (PAT : *phosphinothricine amino transferase*) sur l'entomofaune, principalement l'abeille domestique et des insectes parasitoïdes de pucerons.

Dans une première partie, nous traiterons des effets potentiels directs des protéines exprimés dans les plantes transgéniques : en premier lieu des études réalisées

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

en conditions de laboratoire puis en conditions semi-naturelles (cage, tunnels de vol). Dans une deuxième partie, nous aborderons les effets indirects (effets pléïotropiques ou dus à la mutagénèse insertionnelle) tels que la modification de la qualité des nectars ou des arômes floraux dans le cadre d'expérimentations au laboratoire et au champ. Enfin, nous terminerons l'exposé par une discussion sur la nécessité d'instaurer des procédures spécifiques à l'évaluation des risques posés par la dissémination volontaire d'OGM dans l'environnement.

1. *Effets directs des protéines exprimées dans les plantes transgéniques*

Une partie des travaux que nous présentons ici, ayant trait à l'effet de protéines entomotoxiques d'origine végétale (inhibiteurs de protéase, lectine), a déjà fait l'objet d'un chapitre de synthèse (Couty *et al.*, 2002) dont nous présenterons uniquement les résultats les plus marquants. Les résultats des études portant sur l'effet d'autres protéines entomotoxiques (*Bt*) et herbicides (PAT) seront développés de manière plus approfondie.

1.1. Études en laboratoire

1.1.1. Effets sur l'abeille

L'abeille domestique, *Apis mellifera*, est un agent biologique d'importance écologique (pollinisation de plantes sauvages), mais aussi économique (production de miel, pollinisation et amélioration du rendement de plantes d'intérêt agronomique). Les abeilles butineuses qui consomment le pollen et le nectar, mais aussi les abeilles au sein de la ruche, peuvent être directement affectées par les produits de gènes exprimés par les plantes : en effet, ces protéines, si elles sont présentes dans le nectar et le pollen, seront consommées par les butineuses et elles seront aussi ramenées à la ruche, puis stockées dans le pollen et le miel qui servent à nourrir les larves et les autres ouvrières de la ruche.

Dans une perspective d'évaluation des risques de produits de gènes sur l'abeille, il est donc important dans un premier temps de quantifier la présence du produit de gène dans le nectar et le pollen des plantes transformées. De manière générale, les niveaux d'expression des transgènes dans les parties vertes des plantes (parties généralement consommées par les ravageurs) sont de l'ordre de 1 à 2 % des protéines solubles totales (Hilder *et al.*, 1987). Cependant, très peu de travaux font état de l'expression de produit de gène dans le nectar et le pollen de plantes transformées. La présence de la protéine recombinante dans le nectar est très peu probable dans la mesure où les nectars contiennent majoritairement des sucres, et seulement des quantités très faibles de protéines (Baker et Baker, 1975). Par contre, on peut s'attendre à trouver la protéine recombinante à des niveaux plus élevés dans le pollen, dans la mesure où on estime la quantité de protéines à 20 % du poids de pollen frais

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

(Herbert et Shimanuki, 1978). Cependant, de nouveaux travaux indiquent que moins de 5 % des protéines nécessaires à la croissance d'une larve d'abeille proviennent du pollen (Babendreier *et al.*, 2004). Il est donc important de tenir compte de cette estimation dans l'établissement des protocoles d'évaluation de l'effet direct des entomotoxines sur l'abeille.

En ce qui concerne les inhibiteurs de protéase (IP), des dosages de protéine recombinante ont été effectués chez des colzas transgéniques exprimant de manière constitutive (promoteur CaMV 35S) les IP OCI (*Oryza cystatin I*) et BBI (*Bowman-Birk soybean inhibitor*). Jusqu'à présent aucune trace de ces inhibiteurs de protéase n'a pu être détectée dans le nectar ou le pollen (Bonadé-Bottino *et al.*, 1998 ; Jouanin *et al.*, 1998b). Des études ont aussi été initiées afin de voir si des résidus de produits de transgène pouvaient être détectés dans le nectar et le pollen de colzas transgéniques résistants aux herbicides (Châline *et al.*, 1999). D'autres études ont montré que du maïs exprimant un gène de *Bt* sous le contrôle d'un promoteur pollen-spécifique pouvait en effet exprimer la toxine *Bt* dans le pollen, alors que du maïs exprimant le même gène *Bt*, contrôlé par le promoteur constitutif CaMV 35S, ne l'exprimait pas dans le pollen (Koziel *et al.*, 1993). Cette constatation démontre que le choix du promoteur influe sur le niveau d'expression, et que, sous le contrôle du promoteur CaMV 35S, la protéine recombinante n'est généralement pas exprimée dans le pollen, au moins dans le cas du cotonnier, du colza et du maïs (Schuler *et al.*, 1998). Toutefois, des travaux montrent un niveau d'expression détectable dans le pollen de tabac transformé sous le contrôle de ce même promoteur (Wilkinson *et al.*, 1997). Sur la base de ces différents travaux, il est donc difficile de tirer des conclusions générales quant au niveau d'expression de protéines recombinantes dans le pollen et le nectar des plantes transgéniques ainsi que sur les risques encourus par les insectes non-cibles se nourrissant de ces produits végétaux. Dans l'attente de données complémentaires sur les doses exprimées réellement dans le pollen et le nectar, la plupart des auteurs ont eu recours à des protéines recombinantes (extraites des plantes transformées ou produites par des bactéries), purifiées à partir de la plante native, ou même des protéines de synthèse, analogues à celles exprimées dans les plantes, en utilisant des gammes de concentrations englobant les niveaux d'expression réalistes.

1.1.1.1. Effets sur la mortalité (toxicité aiguë) et la longévité (toxicité chronique)

Les études, conduites en conditions contrôlées, ont consisté à nourrir les abeilles avec des solutions sucrées additionnées de protéines recombinantes purifiées à différentes concentrations, variant de 1 à 1 000 $\mu g.mL^{-1}$. Le choix de ces concentrations n'est pas toujours fondé sur les valeurs potentiellement rencontrées dans le nectar ou le pollen des plantes étudiées mais sur les quantités des produits des gènes (pourcentage des protéines solubles) mesurées dans les tissus végétaux où le gène s'exprime. En effet, nous avons précisé plus haut que les protéines n'ont pas toujours été détectées dans les productions de nectar ou pollen des variétés de colza étudiées. Par conséquent, on peut considérer que des concentrations de 10 à

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

100 µg.mL^{-1} correspondent à des valeurs potentiellement exprimées dans des tissus végétaux. Les abeilles ont donc été testées principalement avec des quantités de protéines égales ou supérieures à ces valeurs.

L'effet « inhibiteur de protéase » : CpTI (*cowpea trypsin inhibitor*), BBI, OCI et SBTI (*soybean trypsin inhibitor*) et celui de la lectine du perce-neige (GNA : *Galanthus nivalis agglutinin*), a été testé sur la longévité ou la survie des abeilles. Les résultats sont regroupés dans le tableau 1. En ce qui concerne les inhibiteurs de protéase, seuls SBTI et BBI à la plus forte concentration (1 000 µg.mL^{-1}) ont engendré une diminution significative de la longévité des abeilles. Cette lectine n'a pas montré d'effet significatif sur la survie ni sur la longévité des abeilles, sur une période de deux mois (Picard-Nizou et Pham Delègue, 2000).

Tableau 1 ■ Toxicité aiguë et chronique de différentes protéines entomotoxiques sur l'abeille.

Traitement	Test	Protéine	Concentration (µg/mL)	Effet
Ingestion, toxicité aiguë Ouvrières âgées de 15 jours Nourries pendant 24 h	Survie à 24 h et 48 h	CpTI[1] BBI[2] OCI[2] GNA GNA GNA	330 330 330 500 800 1 000	NS NS NS NS NS NS
Ingestion, toxicité chronique Abeilles nourries avec solution témoin 48 h après émergence, puis solutions testées jusqu'à la mort de tous les individus	Longévité	SBTI[3], BBI[3], OCI[4] SBTI[3], BBI[3], OCI[4] OCI[4] SBTI[3], BBI[3] GNA GNA GNA	10 100 1 000 1 000 10 100 1 000	NS NS NS Longévité ↓ NS NS NS

BBI : *Bowman-Birk soybean inhibitor* ; SBTI : *soybean trypsin inhibitor* ; OCI : *Oryza cystatin I* ; CpTI : *cowpea trypsin inhibitor* ; GNA : *Galanthus nivalis agglutinin* ; NS : non significatif ; ECP : extension conditionnée du proboscis ; ↓ : diminution.
[1] : Picard-Nizou *et al.*, 1997 ; [2] : Girard *et al.*, 1998 ; [3] : Pham-Delègue *et al.*, 2000 ; [4] : Jouanin *et al.*, 1998 ; [5] : Picard-Nizou et Pham-Delègue, 2000.

1.1.1.2. Effets sur les performances d'apprentissage

L'absence d'effets létaux marqués n'exclut pas l'apparition d'effets sub-létaux, pouvant s'exprimer notamment sur le comportement de butinage des abeilles. Or, le comportement de butinage met en jeu des capacités d'apprentissage, en particulier le comportement olfactif (Menzel, 1984), qui peuvent être étudiées grâce à l'uti-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

lisation d'un essai biologique reposant sur le conditionnement olfactif de l'extension du proboscis (langue de l'abeille) (Bitterman *et al.*, 1983 ; Couty *et al.*, 2002). Ce test a été fréquemment utilisé pour étudier les bases temporelles, neurobiologiques ou génétiques de la mémoire (Erber, 1981 ; Brandes, 1991 ; Sandoz *et al.*, 1995), ou pour élucider les mécanismes de la reconnaissance d'odeurs complexes par les abeilles (Pham-Delègue *et al.*, 1997 ; Laloi *et al.*, 1999). Sur le plan écotoxicologique, ce test a aussi prouvé son intérêt pour mettre en évidence des perturbations des performances d'apprentissage des abeilles à la suite de traitements avec des produits phytosanitaires (Stevenson, 1978 ; Decourtye *et al.*, 2000 ; Decourtye et Pham-Delègue, 2002). Cet essai biologique est donc apparu comme approprié à l'évaluation des effets de produits de gènes tels que les inhibiteurs de protéases ou les lectines. Les tests ont été appliqués à des ouvrières de 15 jours, âge auquel elles deviennent butineuses. Elles ont été préalablement soumises à des expositions de durées variables aux inhibiteurs de protéase :

– soit lors de la présentation de la récompense sucrée au cours de la procédure de conditionnement associatif. Ce test simule la situation d'une butineuse visitant une fleur exprimant un IP dans son nectar, et dont l'ingestion pourrait perturber la mémoire à court terme ;

– soit pendant une période de 12 à 15 jours précédant le test, afin de simuler le cas d'ouvrières nourries à l'intérieur de la ruche avec une nourriture contaminée avec la protéine, et pouvant manifester des troubles du comportement en devenant butineuses.

Les effets des inhibiteurs de protéase (SBTI, BBI, OCI) et de la GNA sur les performances d'apprentissage à l'échelle individuelle sont regroupés dans le tableau 2.

Dans le premier cas (exposition courte), pour des concentrations de 1 à 10 $\mu g.mL^{-1}$, aucun effet notable n'est apparu avec l'IP à sérine BBI (Girard *et al.*, 1998). En revanche, une diminution significative des performances est notée pour un autre IP à sérine, CpTI, aux concentrations de 5 et 10 $\mu g.mL^{-1}$ (Picard-Nizou *et al.*, 1997). L'effet immédiat provoqué par CpTI à faible concentration, dans la solution de récompense, pourrait traduire un effet anti-appétant de cet inhibiteur de protéase, entraînant un conditionnement associatif moins efficace. Toutefois, ces résultats peuvent sembler contradictoires avec ceux obtenus à la suite d'expositions prolongées, et à des concentrations d'inhibiteurs de protéase plus élevées (10 à 1 000 $\mu g.mL^{-1}$), qui n'indiquent aucun effet de SBTI, ni de BBI sauf à la concentration la plus forte de 1 000 $\mu g.mL^{-1}$ (Pham-Delègue *et al.*, 2000). Cette absence d'effet pourrait s'expliquer par une adaptation des abeilles à un régime alimentaire contenant des inhibiteurs de protéase pendant une période relativement longue (*cf.* 1.1.1.2.), les abeilles survivantes n'ayant pas de perturbations de leurs capacités mnésiques, sauf pour des concentrations très élevées.

En ce qui concerne la GNA, les performances d'apprentissage olfactif d'abeilles exposées aux trois doses de GNA (10, 100 et 1 000 $\mu g.mL^{-1}$) n'ont pas été affectées (Picard-Nizou et Pham-Delègue, 2000).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau 2 ■ Effets de différentes protéines entomotoxiques sur les capacités d'apprentissage d'abeilles en conditions de laboratoire.

Traitement	Test	Protéine	Concentration ($\mu g.mL^{-1}$)	Effet
Ingestion, toxicité chronique Abeilles nourries avec solution témoin 48 h après émergence puis solutions testées jusqu'à J 14	ECP	BBI[1], GNA[2]	10 100 1 000	NS NS Apprentissage ↓
Ingestion, toxicité chronique Abeilles nourries avec solution témoin 48 h après émergence puis solutions testées jusqu'à J 14	ECP	SBTI[3]	10 100 1 000	NS NS NS
Ingestion dans la solution de récompense (exposition 3x3s)	ECP sur abeilles âgées de 15 jours	CpTI[4]	1 5 10	NS Apprentissage ↓ Apprentissage ↓

BBI : *Bowman-Birk soybean inhibitor* ; SBTI : *soybean trypsin inhibitor* ; OCI : *Oryza cystatin I* ; CpTI : *cowpea trypsin inhibitor* ; GNA : *Galanthus nivalis agglutinin* ; NS : non significatif ; ECP : extension conditionnée du proboscis ; ↓ : diminution.
[1] : Girard *et al.*, 1998 ; [2] : Picard-Nizou et Pham-Delègue, 2000 ; [3] : Pham-Delègue *et al.*, 2000 ; [4] : Picard-Nizou *et al.*, 1997 ;

1.1.1.3. Physiologie digestive

Afin de comprendre les mécanismes physiologiques pouvant être responsables des effets observés sur la survie et le comportement des abeilles, des études ont été réalisées afin d'évaluer l'activité protéasique digestive d'abeilles soumises à des régimes alimentaires contenant des inhibiteurs de protéase.

Chez des abeilles nourries pendant 15 jours avec BBI ou OCI à la concentration de 26 $\mu g.mL^{-1}$, il n'y a pas de modification de l'intensité de l'activité protéasique globale. Mais, avec l'apparition d'une nouvelle forme protéasique, une modification qualitative a pu être détectée après intoxication par BBI. Cette observation suggère la mise en place d'un mécanisme de régulation des protéases à sérine initialement présentes, par production de nouvelles protéases qui permettent de compenser l'inhibition par l'ingestion à long terme d'un IP à sérine (Girard *et al.*, 1998). Un tel mécanisme a également été montré par Burgess *et al.* (1996) : chez des abeilles nourries avec des faibles doses de SBTI, une surproduction d'exopeptidase LAP (*leucine aminopeptidase*) apparaît, alors que l'activité protéasique globale reste constante.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Dans les travaux mentionnés précédemment, conduits sur des abeilles nourries pendant 15 jours avec des inhibiteurs de protéase à plus fortes concentrations (BBI et SBTI, 10 à 1 000 $\mu g.mL^{-1}$), on observe aussi une augmentation de l'activité protéasique à trypsine, à chymotrypsine et à SAAPLpNa (N-Succinyl-Ala-Ala-Pro-Leu-p-nitroanilide), ainsi que de l'activité d'une exopeptidase à leucine (LAP) (Pham-Delègue *et al.*, 2000). De nouvelles formes protéasiques sont de plus induites mais elles sont toujours sensibles aux IP à sérine. Ainsi, à la suite de l'ingestion d'IP à sérine, plusieurs mécanismes de régulation ont pu être mis en évidence : à faibles concentrations d'inhibiteurs de protéase dans le régime alimentaire, on observe une augmentation de l'activité des protéases digestives endogènes, et à plus fortes concentrations, une apparition de nouvelles formes protéasiques, toujours sensibles aux IP à sérine. La production de nouvelles protéases non sensibles à ces inhibiteurs de protéase est toutefois également possible. Une telle surproduction d'enzymes digestives nécessite une grande quantité d'acides aminés, et la forte mobilisation des réserves protéiques des abeilles pourrait expliquer l'effet observé sur la longévité et les performances d'apprentissage après l'ingestion de fortes doses de BBI et SBTI.

D'autre part, nous avons aussi recherché si les abeilles possédaient des récepteurs endogènes leur permettant de fixer la GNA. Celle-ci n'a pas été détectée (donc n'a pas été fixée) dans les intestins d'abeilles exposées à la lectine. On peut donc supposer que l'abeille ne dispose pas de récepteurs spécifiques de cette protéine, et ne serait donc pas affectée par celle-ci ; ce qui confirmerait l'absence d'effets observés sur la mortalité et les performances d'apprentissage d'abeilles nourries avec de la GNA.

1.1.2. Effets sur les parasitoïdes

Les parasitoïdes et les prédateurs de pucerons sont des agents naturels de régulation des populations de ces insectes et sont utilisés avec succès dans plusieurs programmes de lutte biologique (*cf.* chapitres 22, 23 et 28). Il est donc important d'évaluer l'effet de nouvelles stratégies de plantes transgéniques résistantes aux pucerons sur ces insectes auxiliaires, non seulement dans une optique de conservation de la biodiversité, mais aussi dans l'optique de leur utilisation combinée avec la lutte biologique. Dans l'idéal, l'action des plantes résistantes combinée à l'action des parasitoïdes et prédateurs devrait être synergique.

Les travaux ont porté principalement sur l'étude de l'impact de pommes de terre transgéniques exprimant la GNA sur deux espèces de parasitoïdes, l'*Aphidiidae Aphidius ervi* et l'*Aphelinidae Aphelinus abdominalis*. Ces deux espèces ont été choisies car elles sont toutes deux très répandues en Europe, disponibles dans le commerce et recommandées, entre autres, pour lutter contre des pucerons inféodés aux pommes de terre (*Myzus persicae* et *Macrosiphum euphorbiae*) (Copping, 1998). Des expérimentations sont aussi en cours afin de déterminer l'impact potentiel de plantes transgéniques exprimant des inhibiteurs de protéase à sérine (BBI) et à cystéine (OCI) sur les parasitoïdes *A. ervi* et *A. abdominalis*.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1.1.2.1. Effet sur le développement larvaire

Les parasitoïdes de pucerons sont des insectes dont le développement larvaire s'effectue à l'intérieur de l'hôte (endoparasitoïdes). Cette caractéristique a deux conséquences importantes sur les types de risques encourus par des parasitoïdes dont le développement s'effectue dans des hôtes intoxiqués :

– d'une part l'entomotoxine peut induire un effet direct en étant ingérée par les larves de parasitoïdes, si elles possèdent des récepteurs spécifiques pour la protéine. Les effets toxiques potentiels sur les larves elles-mêmes, peuvent être évalués par des mesures du succès parasitaire (c'est-à-dire nombre de momies formées), et du succès d'émergence des adultes. Cependant, l'entomotoxine peut aussi avoir des effets sublétaux non détectables au stade larvaire mais que l'on peut évaluer chez les adultes en mesurant leur fécondité et/ou leur longévité ;

– d'autre part, la modification des traits biologiques (croissance, taille, fécondité) des hôtes se nourrissant sur plantes transgéniques peut affecter de manière importante le développement larvaire des parasitoïdes. Ce type d'effet est qualifié d'effet indirect *via* la qualité de l'hôte (*host-quality mediated effect*).

Les recherches ont porté sur les conséquences du développement des parasitoïdes dans des pucerons intoxiqués par la GNA et par les inhibiteurs de protéase BBI et OCI. La GNA, incorporée en milieu artificiel ou exprimée dans des pommes de terre transgéniques, induit une diminution de la croissance et/ou un retard de la période reproductive des pucerons *M. persicae* (Sauvion, 1995 ; Sauvion *et al.*, 1996 ; Gatehouse *et al.*, 1996), *Aulacorthum solani* (Down *et al.*, 1996) et *Macrosiphum euphorbiae* (Couty *et al.*, 2001b). Cette dernière agit en se liant à des récepteurs endogènes de la membrane épithéliale de l'intestin des pucerons et perturbe ainsi l'assimilation des nutriments. Les pucerons intoxiqués par la GNA sont donc plus petits, au même âge, que les pucerons témoins. Ils représentent donc potentiellement des hôtes offrant moins de nutriments et de qualité appauvrie car la GNA modifie le profil en acides aminés de l'hémolymphe des pucerons. Le développement des larves de parasitoïdes dans des pucerons intoxiqués est donc susceptible d'être perturbé soit par les effets directs de la GNA (ingestion par les larves de celle-ci fixée aux tissus du puceron), soit par des effets indirects agissant sur la qualité et la quantité des nutriments (Couty *et al.*, 2001b).

Il apparaît que les larves d'*A. abdominalis* ingèrent bien la lectine (détection de la GNA par *Western-blot* et immuno-marquage chez les parasitoïdes adultes). Cependant, la majorité de la GNA ingérée par les larves de parasitoïdes est éliminée, probablement par excrétion dans le méconium avant la mue nymphale. Aucun effet direct de la GNA n'a pu être mis en évidence sur les paramètres du développement étudiés. Cependant, un effet indirect de la GNA lié à la réduction de la taille de l'hôte, s'est traduit chez *A. abdominalis* par une modification de la sex-ratio (augmentation du nombre de mâles), et du développement larvaire (diminution du poids des adultes).

Un effet direct a néanmoins pu être mis en évidence sur les fonctions reproductrices des adultes de la F_1, puisque leur fécondité est diminuée lorsqu'ils sont issus

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

de pucerons hôtes intoxiqués, qu'ils soient de même taille ou non que les témoins. En revanche, seule la longévité des adultes de la F_1 issus de pucerons intoxiqués plus petits est significativement diminuée.

On peut interpréter ces résultats comme une adaptation des parasitoïdes à une diminution de la qualité de l'hôte. Les parasitoïdes privilégieraient un investissement des ressources pour les fonctions d'entretien (ce qui se traduit par une longévité non affectée), plutôt que pour les fonctions reproductrices (puisqu'on observe une baisse de fécondité des adultes F1). Ceci peut être avantageux pour une espèce synovigénique comme *A. abdominalis*, qui investit beaucoup dans la maturation de ses œufs, et qui a une fécondité journalière faible associée à une longévité élevée.

D'autre part, l'effet de plusieurs concentrations de GNA (200 $\mu g.mL^{-1}$, 450 et 1 000 $\mu g.mL^{-1}$) administrées à *M. persicae, via* un milieu artificiel, sur le développement larvaire de *A. ervi,* a été étudié (Couty *et al.*, 2001a).

Les parasitoïdes se développant dans des pucerons sur milieu artificiel à 1 000 $\mu g.mL^{-1}$ de GNA sont incapables de terminer leur développement et aucun adulte n'a pu émerger des quelques momies formées. Lorsque les pucerons sont élevés sur des concentrations inférieures en GNA (200 et 450 $\mu g.mL^{-1}$), les parasitoïdes peuvent achever leur développement, mais quelques effets sublétaux sont observés sur les adultes de la génération F_1 (augmentation de la durée de développement, réduction du poids des adultes).

Cet ensemble de travaux montre que la GNA a essentiellement un effet indirect sur le développement des parasitoïdes de pucerons. Cet effet est dû à la réduction de taille et/ou à la mortalité précoce des pucerons. Il est intéressant de noter que *M. persicae* a été plus affecté par la concentration de 1 000 $\mu g.mL^{-1}$ de GNA que *M. euphorbiae*, avec pour conséquence une inhibition du développement de *A. ervi*. L'étendue et l'intensité des effets indirects de la GNA sur les parasitoïdes dépendent donc en grande partie de la sensibilité de leurs hôtes. En revanche, l'effet direct de cette lectine sur la fécondité des femelles *A. abdominalis* s'étant développées dans des pucerons contaminés par celle-ci, n'est pas dépendant de la sensibilité de l'hôte mais de celle du parasitoïde. Le mode d'action de la GNA sur les larves de parasitoïdes reste à élucider, et ces observations doivent être validées par des bioessais sur plantes transgéniques.

Les pucerons ne possèdent pas *a priori* d'arsenal endoprotéasique important car ils consomment un aliment très riche en acides aminés libres : la sève phloémienne. Cependant, plusieurs inhibiteurs de protéases ont montré des toxicités contre les pucerons (Rahbé *et al.*, 1995 ; Deraison, 2002 ; Rahbé *et al.*, 2003). Deraison a montré que les pucerons *Acyrthosiphon pisum*, *Aphis gossypii* et *M. persicae* possédaient principalement une activité protéase à cystéine. L'inhibiteur de protéases OCI, en milieu artificiel ou produit par des colzas transgéniques, ralentit le développement larvaire de *M. persicae* et diminue sa fécondité (Rahbé *et al.*, 2003). Des recherches ont été conduites sur l'effet d'un inhibiteur de protéase à sérine (BBI) et d'un IP à cystéine (OCI) sur le puceron *Macrosiphum euphorbiae* ainsi que sur les parasitoïdes *A. ervi* et *A. abdominalis* associés (Azzouz, communication person-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

nelle). Dans un premier temps, les profils protéasiques des parasitoïdes adultes et larvaires ont été recherchés. *A. ervi* comme *A. abdominalis* possèdent majoritairement des protéases digestives à sérine. Ceci implique qu'un inhibiteur de protéase tel que BBI pourrait avoir un effet direct sur ces parasitoïdes. L'OCI délivré aux pucerons, par milieu artificiel, à différentes concentrations (50, 10 et 500 $\mu g.mL^{-1}$) induit une forte mortalité larvaire et des retards de croissance tels que les pucerons n'atteignent pas le stade adulte et ne se reproduisent pas. Le BBI, aux mêmes concentrations, n'induit pas de mortalité larvaire significative chez *M. euphorbiae*. Par contre, il induit une baisse de la fécondité et du taux d'accroissement, d'autant plus grande que la concentration est élevée. Les effets du BBI et de l'OCI, à la concentration de 100 $\mu g.mL^{-1}$, ont également été étudiés sur le développement de *A. abdominalis*. On n'observe pas de modifications majeures des paramètres de développement chez les parasitoïdes *A. abdominalis* se développant dans les pucerons nourris avec BBI ou OCI. Seul le taux d'émergence est significativement réduit. La sex-ratio et la taille des adultes de la F_1 ne sont pas modifiées.

1.1.2.2. Effets sur les adultes

Si les modes de développement larvaire sont similaires chez les deux espèces de parasitoïdes étudiées, leur mode de nutrition au stade adulte est différent : les *Aphidiidae* tels que *A. ervi* se nourrissent principalement de miellat (Stary, 1988 ; Hågvar et Hofsvang, 1991), alors que les *Aphelinidae* tels que *A. abdominalis* se nourrissent essentiellement de l'hémolymphe de pucerons (Viggiani, 1984). Cette différence implique des risques d'exposition à la protéine, variables selon l'origine de cette dernière (miellat ou hémolymphe de puceron).

Dans un premier temps, nous avons montré que les parasitoïdes *A. ervi* et *A. abdominalis* possédaient tous deux des récepteurs spécifiques de la GNA au niveau de leur tube digestif : ils fixent cette protéine à la suite de l'ingestion de solutions sucrées contaminées par la GNA. Les parasitoïdes *Aphidius ervi* et *Aphelinus abdominalis* sont donc tous les deux susceptibles d'être affectés par l'ingestion d'une source de nourriture contaminée par la GNA (Couty et Romeïs, 2004). Pour les parasitoïdes *Aphidiidae*, le miellat est une source importante de nourriture essentiellement glucidique nécessaire à la survie. C'est donc principalement sur la durée de vie que pourrait agir la protéine si elle est présente dans le miellat. Shi *et al.* (1994) ont montré que *Myzus persicae,* élevé sur tabac transgénique exprimant la lectine du perce-neige GNA, l'excrétait dans son miellat. Couty et Romeïs (2004) ont pu mesurer, chez *Macrosiphum euphorbiae* nourri sur milieu artificiel contenant de la GNA, un taux d'excrétion de la GNA, d'environ 90 % à l'équilibre. Ce résultat suggère que la concentration de GNA présente dans le miellat est très proche de celle présente dans le milieu nutritif des pucerons (la sève phloémienne ou le milieu artificiel). Les parasitoïdes adultes pourraient donc être directement exposés à cette lectine en consommant le miellat. Pour tester les effets de cette exposition sur la longévité de *A. ervi*, des femelles ont été nourries avec une gamme de concentrations en GNA de 100, 500 et 1 000 $\mu g.mL^{-1}$; ce qui reflète les niveaux potentiellement

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

trouvés dans le miellat. Un effet de la concentration en GNA a été démontré, la longévité diminuant lorsque la concentration augmente. Cet effet a été confirmé chez une autre espèce, *Aphidius colemani* (Romeïs *et al.*, 2003). Par contre, aucun effet n'a été observé par ces auteurs sur la fécondité de *A. colemani*. Ce résultat est en concordance avec le fait que *A. colemani*, comme *A. ervi*, est une espèce pro-ovigénique maturant ses œufs majoritairement avant émergence.

Il est donc possible que l'utilisation de pommes de terre transgéniques exprimant fortement la GNA dans le phloème (par exemple avec un promoteur phloème-spécifique), soit incompatible avec l'utilisation de certains parasitoïdes de pucerons dont la source de nourriture principale est le miellat. Des plantes à expression de GNA modérée seraient donc préférables dans une optique de lutte combinée.

Pour les *Aphelinidae*, l'hémolymphe de pucerons constitue un apport protéique nécessaire à la maturation ovocytaire. Une modification de la qualité de l'hémolymphe des pucerons intoxiqués par la GNA pourrait alors affecter la fécondité des femelles parasitoïdes. Pour tester cet effet, des femelles d'*A. abdominalis* ont été nourries en continu avec des pucerons intoxiqués par la GNA à une concentration de 1 000 $\mu g.mL^{-1}$. Aucun effet n'a été observé sur la fécondité et la longévité de ces femelles. Aucune trace de GNA n'a pu être détectée dans les parasitoïdes à l'issue du traitement, ce qui s'explique par l'absence de GNA dans l'hémolymphe des pucerons. Les adultes de *A. abdominalis*, contrairement à *A. ervi* ne sont pas affectés par la consommation de pucerons intoxiqués par la GNA (Couty et Poppy, 2001).

En ce qui concerne l'effet potentiel de BBI et OCI sur les parasitoïdes de pucerons, des travaux préliminaires montrent que ces inhibiteurs de protéase sont aussi excrétés par les pucerons dans leur miellat et pourraient donc être ingérés par les parasitoïdes. Cependant, aucun effet de BBI et OCI ($100\ \mu g.mL^{-1}$) n'a pu être observé sur la longévité de *A. ervi* et *A. abdominalis* (Azzouz *et al.*, données non publiées).

Cet ensemble de travaux a été effectué en conditions artificielles et des études complémentaires utilisant des plantes transgéniques exprimant la protéine sont nécessaires pour confirmer les effets observés. Toutefois, on peut proposer que l'évaluation des risques occasionnés par les pommes de terre transgéniques exprimant la GNA sur les insectes parasitoïdes adultes prenne en compte le mode de nutrition de ces derniers et le niveau d'expression de la GNA dans le phloème et dans le miellat des pucerons. De plus, le nectar pouvant aussi servir de source alimentaire aux parasitoïdes de pucerons, il faudrait également envisager cette possibilité.

1.2. Études en conditions semi-naturelles des effets sur l'abeille

1.2.1. Études en cage de vol

Nos études ont porté sur l'effet que peuvent avoir, des inhibiteurs de protéase (BBI) ou une protéine *Bt* (Cry 1Ab), sur la survie et le comportement des abeilles à l'échelle de la colonie. La colonie test est placée à l'intérieur, dans une cage de vol. Les butineuses peuvent alors être nourries grâce à un nourrisseur artificiel qui

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

offre une solution sucrée additionnée ou non de protéine entomotoxique, selon les besoins de l'expérience. Dans le cas d'une étude à long-terme, un relevé journalier permet d'évaluer la mortalité au sein de la colonie. Des butineuses actives peuvent également être prélevées afin de tester leurs performances d'apprentissage olfactif grâce au test d'extension conditionnée du proboscis. Par ailleurs, le dispositif de cage de vol permet aussi d'observer *in situ* le comportement de butinage des abeilles (tableau 3).

Tableau 3 ■ Effets de différents inhibiteurs de protéases (IP) et de la toxine *Bt* sur la mortalité et les capacités d'apprentissage d'abeilles en conditions semi-naturelles.

Traitement	Test	Protéine	Concentration ($\mu g.mL^{-1}$)	Effet
Ingestion dans la solution de récompense (exposition pendant 2 h)	Cage de vol, Fleur artificielle	CpTI[1]	10 $\mu g.mL^{-1}$	Apprentissage ↓
Ingestion : toxicité chronique (exposition pendant 2 mois)	ECP	BBI[2]	6 $\mu g.mL^{-1}$	NS
Ingestion pendant 5 jours : toxicité évaluée pendant 10 jours (période d'ingestion + 5 jours)	Cage de vol, mortalité	CryI Ab[3]	1 $\mu g.mL^{-1}$	NS

BBI : *Bowman-Birk soybean inhibitor* ; CpTI : *cowpea trypsin inhibitor* ; ECP : extension conditionnée du proboscis ; NS : non significatif ; ↓ : diminution.
[1] : Picard-Nizou *et al.*, 1997 ; [2] : Picard-Nizou et Pham-Delègue, 2000 ; [3] : Kaiser et Tamirez-Roméro, 2002.

Ainsi, des butineuses nourries *ad libitum* pendant deux mois avec une solution de BBI à la concentration de 6 $\mu g.mL^{-1}$, puis testées à la fin de la période d'exposition dans la procédure d'extension conditionnée du proboscis, ne montrent pas de modification significative de leurs performances d'apprentissage (Picard-Nizou et Pham-Delègue, 2000). Cette dernière étude permet d'évaluer les effets d'une exposition à long-terme de la colonie à des produits de transgène. Bien que la présence de BBI ait pu être détectée dans les réserves de miel stocké dans la ruche (à une concentration maximum de 10 $\mu g.mL^{-1}$), aucune différence n'a été observée entre les colonies traitées ou non, sur le développement (quantité de réserves et de couvain) ou la santé de la colonie. De plus, aucune différence dans le métabolisme digestif des abeilles à la fin de la période d'exposition au BBI n'a pu être mise en évidence.

La toxicité potentielle de Cry1Ab à 1 ppm (concentrations comprises entre les teneurs extrêmes en prototoxines des maïs transgéniques produits par les firmes) a

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

été évaluée sur des colonies entières et comparée à l'effet de deux insecticides chimiques : l'imidachlopride à 48 ppb (soit la teneur en résidus du feuillage de colza après traitement avec la dose recommandée au champ) et la deltaméthrine à 500 ppb (dose reconnue pour affecter le comportement de butinage et l'apprentissage olfactif chez l'abeille). L'intoxication par ingestion de saccharose contaminé est limitée à la deuxième semaine d'expérimentation, l'activité de la première semaine servant de référence d'activité propre à la colonie, et la troisième semaine permettant d'évaluer ses capacités de récupération. Aucune mortalité due aux traitements n'a pu être observée. Au niveau de l'activité de butinage, aucun effet de l'ingestion de Cry1Ab n'a été mis en évidence. Cependant, dans les mêmes conditions expérimentales, la deltaméthrine et l'imidaclopride ont significativement réduit l'activité de butinage pendant la semaine d'intoxication. Pour ces deux insecticides, l'activité de butinage a repris durant la troisième semaine jusqu'à un niveau comparable à la période avant traitement. Au cours de ces mêmes expérimentations, les facultés d'apprentissage olfactif à l'échelle de la population des butineuses ont aussi été testées pour les trois traitements. Pour compléter cette étude, un composant commun des odeurs florales, le linalol, a été associé aux sources alimentaires. Le comportement de choix des butineuses a ainsi pu être observé. Seules les abeilles ayant ingéré de la deltaméthrine ont perdu leur capacité de discrimination olfactive pendant la période d'intoxication, puis l'ont récupéré ensuite. La protéine Cry1Ab, à une dose « réaliste », n'est donc pas toxique pour les abeilles, à l'échelle de la colonie, et n'a pas entraîné d'effet sublétal sur l'activité de butinage ni sur les capacités d'apprentissage olfactif, contrairement à l'insecticide de synthèse deltaméthrine. Par contre, l'insecticide imidachlopride n'a eu qu'un effet ponctuel sur l'activité de butinage.

1.2.2. Études sous tunnels

Une expérimentation a été conduite en conditions semi-naturelles pour étudier l'impact d'un colza transgénique résistant à un herbicide sur des colonies d'abeilles (Châline *et al.*, 1999). Ce colza transgénique (Artus-LL) exprime la protéine PAT et induit une tolérance à l'herbicide Liberty®, à base de glufosinate. Deux types de tunnels sont mis en place : des tunnels mono-variétaux et des tunnels de choix avec des parcelles des deux variétés. L'objectif de l'étude était de comparer l'activité, les préférences de butinage et le développement de colonies placées en présence de la variété témoin et/ou de la variété transformée. Les résidus d'herbicides et de produits de gènes ont été analysés dans différents substrats (abeille, miel, pollen). La variété transgénique a fleuri plus tardivement que la variété témoin mais le nombre de fleurs disponibles pour les butineuses est équivalent pour les deux variétés.

Dans les tunnels mono-variétaux, aucune différence n'est observée concernant la mortalité, la taille et la santé des colonies. Aucun changement dans l'activité des abeilles n'a pu être relié à la variété de colza utilisée. Dans les tunnels de choix, aucune différence n'a été observée dans l'activité de butinage qui puisse être attribuée à la variété de colza.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

2. *Effets indirects des plantes génétiquement modifiées*

Le but de cette étude est d'examiner si la transformation génétique chez les plantes engendre des modifications secondaires du phénotype des plantes affectant leur attractivité ou leur valeur nutritive. Ces modifications secondaires peuvent être engendrées :

– soit par l'insertion aléatoire du transgène dans le génome interférant avec les gènes constitutifs (par exemple, une mutagnénèse insertionnelle donnant un phénotype sans fleur aurait un impact très certainement négatif sur les abeilles) ;

– soit par l'interaction de la protéine issue du transgène avec le métabolisme de la plante (effet pléiotropique).

Ces types de modifications pourraient donc perturber les relations plantes/insectes pollinisateurs si les odeurs florales ou la composition du nectar sont modifiées.

2.1. Études au laboratoire sur les arômes floraux

Afin d'évaluer les effets potentiels de la transformation génétique du colza sur le métabolisme secondaire et donc la production d'arômes floraux, des analyses chimiques des substances volatiles émises par les plantes, combinées à l'étude du comportement de l'abeille ont été réalisées (Sandoz, données non publiée). La capacité des abeilles à apprendre et reconnaître l'odeur de fleurs de colzas témoins et transgéniques est étudiée. Nous avons pour cette étude utilisé un colza transgénique exprimant l'inhibiteur de protéase à cystéine OCI et la variété témoin associée Drakkar. Le protocole d'extension conditionnée des proboscis (ECP) est utilisé pour cette étude. Afin de stimuler les abeilles avec l'odeur florale de plantes entières et intactes, un système original a été développé : l'inflorescence à tester est placée dans un récipient en verre clos hermétiquement ; de l'air pur est alors soufflé à travers ce récipient pour acheminer l'odeur des fleurs jusqu'à l'abeille en contention. Dans ces conditions, les abeilles apprennent rapidement et avec la même efficacité à identifier les odeurs florales de colzas témoins et transformés. Après cet apprentissage, les abeilles reconnaissent et répondent aussi positivement à l'odeur florale de l'autre génotype. Dans une procédure de conditionnement discriminante (l'une des stimulations étant récompensée et l'autre pas) où les abeilles sont alternativement stimulées avec l'odeur de l'un puis l'autre génotype, elles répondent positivement et également aux deux types d'odeurs.

D'autre part, une analyse chimique (par chromatographie en phase gazeuse) des produits volatils émis par ces plantes est effectuée simultanément à la procédure d'ECP afin d'identifier les composés volatils responsables de la réponse comportementale des abeilles. Pour cela, l'air chargé d'odeur florale est analysé pour permettre la séparation des différents composés. De manière simultanée, des abeilles préalablement conditionnées à l'odeur d'un des génotypes de colza reçoivent un flux d'air contenant les différents composés, cette fois séparés et non plus présents en

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

mélange. Cette méthode permet d'obtenir simultanément des enregistrements correspondant à la séparation chimique des composants (chromatographie en phase gazeuse), et des enregistrements de la réponse comportementale de l'abeille associée à chaque produit constitutif de l'arôme floral. Pour les deux génotypes, ces expériences montrent que deux composés chimiques volatils sont majoritairement responsables de l'activité des abeilles conditionnées. De plus, cette étude permet de montrer que les abeilles ne font pas la différence entre les odeurs florales de colzas transformés ou témoins, suggérant qu'elles répondent aux mêmes composés volatils clés pour reconnaître ces odeurs complexes. Finalement, ces données indiquent que ces différences ne sont pas détectées par les abeilles, ou tout du moins, n'induisent pas de modification du comportement chez les abeilles, bien que des différences de profils d'odeurs puissent exister entre variétés témoins et transformées.

2.2. Études en conditions naturelles

2.2.1. Nectars

La qualité et la quantité de nectar produit par des colzas transgéniques et non transgéniques ont été comparées. De manière générale, des prélèvements d'échantillons de nectar sur plantes témoins et transgéniques et des observations du comportement de butinages sur les deux types de plantes sont conduits en parallèle. Le nectar est prélevé grâce à une micropipette insérée dans les fleurs à un stade floral défini. La composition en sucres est analysée par HPLC (*high performance liquid chromatography*) (Mesquida *et al.*, 1991). Les principaux sucres analysés dans le cas de variétés conventionnelles de colza sont le fructose et le sucrose (Pierre *et al.*, 1996). Les données obtenues dans le cadre de nos études sont présentées dans le tableau 4. Des différences sont observées au niveau de la quantité de nectar sécrétée et de la concentration en sucres (plus le volume est petit et plus la concentration est élevée). Ces différences peuvent être imputées à des effets pléiotropiques. Il est intéressant de noter que ces différences se sont révélées significatives au seuil de 5 % dans deux cas (ArtusLL/Artus et 76T/76) avec des sécrétions de nectar plus abondantes et plus concentrées en sucre pour la variété transformée (Châline *et al.*, 1999). Bien que cet ensemble de données soit insuffisant pour conclure à un effet général positif de la transformation génétique sur la sécrétion nectarifère chez le colza, il est cependant possible de dire que ces effets pléiotropiques n'ont pas d'incidence négative sur la production de nectar et donc n'altèrent pas *a priori* l'attractivité de ces plantes pour les abeilles (au moins en ce qui concerne la production de nectar).

2.2.2. Biodiversité de l'entomofaune

Un nombre réduit d'études a été conduit en champ afin d'évaluer l'impact de plantes transgéniques sur l'environnement. Quelques études se sont attachées à estimer les flux de gène entre colzas transgéniques résistants à des herbicides et des

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau 4 ■ Volume et concentration en sucres de nectars produits par des colzas témoins et génétiquement modifiés (GM).

Type de résistance (protéine exprimée)	Génotype	Nom (code)	Volume de nectar (µL/fleur)	Concentration en sucre (g/100 mL)	Référence
Champignon (chitinase)	GM	1T	0,16 ± 0,08	57,0 ± 18,6	1
	Témoin		0,16 ± 0,12	60,7 ± 17 ,5	
	GM	76T	0,61 ± 0,21	55,1 ± 14,4	
	Témoin	76	0,32 ± 0,19	37,3 ± 15,4	
	GM	G	0,63 ± 0,15	57,01 ± 7,0	2
	Témoin	T	0,67 ± 0,18	64,91 ± 9,34	
Herbicide (protéine pat)	GM	Falcon pat	1,05 ± 0,22	31,5 ± 2,3	3
	Témoin	Falcon	1,04 ± 0,10	31,0 ± 2,1	
	GM	Artus-LL	1,00 ± 0,66	15,8 ± 7,8	4
	Témoin	Artus	0,87 ± 0,66	12,9 ± 6,9	
Insecte (inhibiteur de protéase)	GM	OCI (IP à cystéine)	1,34 ± 0,38	40,5 ± 7,83	1
		CII (IP à sérine)	0,66 ± 0,05	72,17 ± 27,74	
		OCIxCII	0,91 ± 0,18	71,13 ± 2,13	
	Témoin		0,80 ± 0,18	76,84 ± 2,09	

[1] : Picard-Nizou *et al.*, 1995 ; [2] : Picard-Nizou et Pham-Delègue, 2000 ; [3] : Pierre *et al.*, 2003 ; [4] : Châline *et al.*, 1999.

plantes sauvages appartenant à la même espèce ou à des espèces proches. Cependant, peu d'études se sont intéressées à l'impact potentiel de variétés transgéniques sur l'entomofaune sauvage.

En France, des expériences en champ ont été conduites afin de comparer la diversité et la densité des insectes pollinisateurs présents dans des parcelles de colza non transgénique (variétés « Falcon » et « Artus »), et des parcelles de colza transgénique résistant à l'herbicide glufosinate (« Falcon pat » et « Artus LL ») (Pierre *et al.*, 2003). Pour ces quatre variétés, le nombre d'insectes pour 1 000 fleurs a été évalué (uniquement les insectes appartenant aux quatre principaux taxons d'insectes pollinisateurs, à savoir les abeilles, les bourdons, les abeilles solitaires et les Diptères pollinisateurs). De plus, le comportement de butinage des abeilles et des bourdons a été étudié sur les variétés « Falcon » et « Falcon pat » (nombre de fleurs visitées par minute, postures de butinage, vols inter-parcelles) et pour les variétés Artus et Artus LL des pièges ont été mis en place afin de comparer les deux méthodes d'évaluation de la densité d'insectes pollinisateurs (piégeage ou comptage visuel). Aucune différence concernant la diversité ou la densité d'insectes pollinisateurs n'a pu être mise en évidence entre les variétés témoins et transgéniques. Ces résultats sont à mettre en parallèle avec les résultats issus de l'analyse de la production de nectar par ces différentes variétés (*cf.* 2.1.). En effet, aucune différence dans la qualité et la quantité des nectars produits n'a pu être mise en évidence.

Plus récemment, une étude à plus grande échelle a été mise en place en Grande-Bretagne en 2000-2002 (Brooks *et al.*, 2003 ; Garner *et al.*, 2003 ; Haughton *et al.*, 2003 ; Hawes *et al.*, 2003 ; Roy *et al.*, 2003). Afin d'évaluer l'effet de plantes génétiquement modifiées pour leur tolérance à un herbicide sur la faune des invertébrés et les mauvaises herbes, 66 champs de betterave, 68 champs de maïs et 67 champs de colza ont été plantés et étudiés. Des herbicides à large spectre ont été utilisés : du glufosinate-ammonium pour le colza et le maïs, et du glyphosate pour la betterave. Les variations observées dans la diversité et la densité de l'entomofaune (principalement Lépidoptères, Hyménoptères pollinisateurs, carabes granivores et collemboles détritivores), ne sont pas corrélées avec le type de plante : témoin ou transgénique. Ces travaux, qui sont les seuls de cette nature, montre la multitude de facteurs qui sont à prendre en considération pour l'étude d'un phénomène complexe tel que l'impact de plantes transgéniques sur la biodiversité de l'entomaufaune.

Conclusion

Nous avons présenté, dans ce chapitre, des approches expérimentales et des résultats qui permettent d'étudier l'impact de plantes transgéniques résistantes aux insectes ravageurs ou tolérantes à un herbicide, sur des insectes pollinisateurs et parasitoïdes. Les résultats exposés ici se réfèrent non seulement à des études en conditions contrôlées, utilisant des protéines recombinantes ou purifiées, mais aussi à des études en conditions plus réalistes avec des plantes transgéniques sous tunnel ou même en plein champ.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un delit

L'ingestion par des abeilles butineuses, de produits d'expression des gènes, à des doses compatibles avec celles potentiellement exprimées dans des tissus végétaux, n'affecte ni la durée de vie, ni les capacités individuelles d'apprentissage d'odeurs. À l'échelle de la colonie, le développement de la population, le comportement de butinage et de discrimination d'odeurs ne sont pas perturbés par une exposition prolongée à des doses réalistes de produits de gènes, contrairement à ce qui se passe avec des insecticides utilisés comme témoins toxiques. Toutefois, certaines protéines peuvent altérer, à fortes concentrations, les capacités de mémorisation, *via* des mécanismes de régulation physiologique complexes, faisant intervenir une surproduction d'enzymes endogènes ou l'apparition de nouvelles formes d'enzymes digestives. En présence de plantes génétiquement modifiées sous tunnels, aucune perturbation notable du développement des colonies ou de l'activité de butinage n'a été enregistrée. En conditions de plein champ, et sur des cultures transgéniques, la diversité et la densité de l'entomofaune auxiliaire ne semble pas différer de celle présente sur des cultures témoins. Cette absence d'effet est cohérente avec le fait que les facteurs de reconnaissance de ces plantes transgéniques par les insectes, tels que les nectars et les arômes floraux, demeurent attractifs, malgré des différences qualitatives ou quantitatives uniquement décelables par l'analyse chimique.

Chez les insectes parasitoïdes étudiés, des processus d'adaptation se révèlent. Les insectes exposés à des hôtes intoxiqués par des produits d'expression des gènes conservent leur longévité mais leurs fonctions reproductrices sont altérées. Les effets sont essentiellement indirects, et sont liés à une diminution de la qualité de l'hôte intoxiqué. Certaines protéines comme les lectines peuvent cependant induire des effets négatifs directs sur la fécondité des parasitoïdes.

De la même manière que pour l'évaluation de produits phytosanitaires classiques sur les insectes non-cibles, l'évaluation de l'impact de plantes transgéniques peut s'effectuer par étapes, en combinant des études toxicologiques au laboratoire et des observations et expérimentations au champ. Cependant, dans le cas de l'évaluation des plantes génétiquement modifiées il est nécessaire de développer des méthodologies spécifiques adaptées qui tiennent comptent des effets potentiels directs (exposition directe des insectes aux entomotoxines produites par les plantes) mais aussi des effets indirects pléiotropiques (modification du métabolisme secondaire des plantes pouvant perturber les relations tritrophiques).

Références bibliographiques

Babendreier D., Kalberer N., Roemis J., Fluri P., Bigler F. (2004). Pollen consumption in honey bee larvae: a stepp forward in the risk assessment of transgenic plants. *Apidologie*, **35** : 293-300.

Baker H.G., Baker I. (1975). Studies of nectar constitution and pollinator-plant coevolution. *In* Gilbert L.E., Raven P.H., *Animal and plant coevolution*. Texas University Press, Austin, 101-140.

Bertolla F., Simonet P. (1999). Horizontal gene transfer in the environment: natural transformation as putative process for gene transfer between transgenic plants and micro-organisms. *Res Microbiol*, **150** : 375-384.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Bitterman M.E., Menzel R., Fietz A., Schafer S. (1983). Classical conditioning of proboscis extension in honeybees (*Apis mellifera*). *J Comp Psychol*, **97** : 107-119.

Bonadé-Bottino M., Girard C., Le Métayer M., Picard-Nizou A.-L., Sandoz G., Lerin J., Pham-Delègue M.-H., Jouanin L. (1998). Effects of transgenic oilseed rape expressing proteinase inhibitors on pest and beneficial insects. *Proceedings of the International Symposium on Brassicas, Acta Horticultura*, **459** : 235-239.

Brandes C. (1991). Genetic differences in learning behaviour in honeybees (*Apis mellifera capensis*). *Behav Genet*, **21** : 271-294.

Brooks D.R., Bohan D.A., Champion G.T., Haughton A.J., Hawes, Heard M.S., Clark S.J., Dewar A.M., Firbank L.G., Perry J.N., Rothery P., Scott R.J., Woiwod I.P., Birchall C., Skellern M.P., Walker J.H., Baker P., Bell D., Browne E.L., Dewar A.J.G., Fairfax C.M., Garner B.H., Haylock L.A., Horne S.L., Hulmes S.E., Mason N.S., Norton L.R., Nuttal P., Randle Z., Rossall, Sands R.J.N., Singer E.J., Walker M.J. (2003). Invertebrate responses to the management of genetically modified herbicide-tolerant and conventional spring crops. I. Soil-surface-active invertebrates. *Phil Trans R Soc Lond B*, **358** : 1847-1862.

Burgess E.P.J., Malone L.A., Christeller J.T. (1996). Effects of two proteinase inhibitors on the digestive enzymes and survival of honey bees (*Apis mellifera*). *J Ins Physiol*, **42** : 823-828.

CETIOM (2000). Introduction de variétés génétiquement modifiées de colzas tolérantes à différents herbicides : évaluation des impacts agro-environnementaux et élaboration de scénarios de gestion. Rapport OGM 2000.

Châline N., Decourtye A., Marsault D., Lechner M., Champolivier J., Van Waetermeulen X., Viollet D., Pham-Delègue M.-H. (1999). Impact of a novel herbicide resistant transgenic oilseed rape on honey bee colonies in semi-field conditions. *Actes 5e CIRA* ANPP, I, 17-24.

Chèvre A.-M., Eber F., Baranger A., Renard M. (1997). Gene flow from transgenic crops. *Nature*, **389** : 924.

Copping L.G. (1998). *The Biopesticide manual*. BCPC, Farnham.

Couty A., Down R., Gatehouse A.M.R., Kaiser L., Pham-Delègue M.-H., Poppy G.M. (2001a). Effects of artificial diet containing GNA and GNA-expressing potatoes on the development of theaphid parasitoid, *Aphidius ervi* (*Hymenoptera: Aphidiidae*). *J Ins Physiol*, **47** : 1357-1366.

Couty A., Jouanin L., Pham-Delègue M.-H. (2002). Impact de protéines exprimées dans des plantes transgéniques sur des insectes non-cibles. *In* Regnault-Roger C., Philogène B. J.R., Vincent C., *Biopesticides d'origine végétale*. Lavoisier Tec & Doc, Paris, 243-264.

Couty A., Poppy G.M. (2001). Does host-feeding on GNA-intoxicated aphids by *Aphelinus abdominalis* affect their longevity/fecundity? *Entomol Exp Appl*, **100** : 331-337.

Couty A., Poppy G.M., De la Viña G., Clark S.J., Kaiser L., Pham-Delègue M.-H. (2001b). Direct and indirect sublethal effects of snowdrop lectin *Galanthus nivalis* agglutinin (GNA) on the development of an aphid parasitoid, *Aphelinus abdominalis*. *J Ins Physiol*, **47** : 553-561.

Couty A., Romeïs J. (2004). Potential effect of GNA transgenic potatoes on adult aphid parasitoïdes. Proceedings of the IOBC/WPRS working group on the "Ecological Impact of Genetically Modified Organisms" (Prague, 26-29 November 2003).

Decourtye A., Le Métayer M., Renou M., Pham-Delègue M.-H. (2000). Effets de doses subléthales de pesticides sur le comportement de l'abeille domestique *Apis mellifera* L. *Actes Colloque Insectes Sociaux*, Tours, France, 105-113.

Decourtye A., Pham-Delègue M.-H. (2002). The proboscis extension response as a laboratory method to assess the sublethal effects of pesticides on the honeybee. *In* Devillers J., Pham-Delègue M.-H., *Estimating the environmental impact of chemicals to honeybees*, Taylor & Francis, 67- 81.

Deraison C. (2002). *Isolement, Caractérisation et cibles de nouveaux inhibiteurs de proteases pour la création de plantes transgéniques résistantes aux pucerons*. Thèse de doctorat ès Sciences, Université d'Orsay, Paris.

Down R.E., Gatehouse A.M.R., Hamilton W.D.O., Gatehouse J.A. (1996). Snowdrop lectin inhibits development and decreases fecundity of the glasshouse potato aphid (*Aulacorthum solani*) when administered *in vitro* and *via* transgenic plants both in laboratory and glasshouse trials. *J Ins Physiol*, **42** : 1035-1045.

Erber J. (1981). Neural correlates of learning in the honeybee. *Trends Neurosci*, **4** : 270-273

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Gatehouse A.M.R., Down R.E., Powell K.S., Sauvion N., Rahbe Y., Newell C.A., Merryweather A., Hamilton W.D.O., Gatehouse J.A. (1996). Transgenic potato plants with enhanced resistance to the peach-potato aphid *Myzus persicae*. *Entomol Exp Appl*, **79** : 295-307.

Girard C., Picard-Nizou A.-L., Grallien E., Zaccomer B., Jouanin L., Pham-Delègue M.-H. (1998). Effects of proteinase inhibitor ingestion on survival, learning abilities and digestive proteinases of the honeybee. *Transgenic Res*, **7** : 239-246.

Hågvar E.B., Hofsvang T. (1991). Aphid parasitoids (Hymenoptera, Aphidiidae): biology, host selection and use in biological control. *Biocontrol News and Information*, **12** : 13-41.

Haughton A.J., Champion G.T., Hawes C., Heard M.S., Brooks D.R., Bohan D.A., Clark S.J., Dewar A.M., Firbank L.G., Osborne, Perry J.N., Rothery P., Roy D.B., Scott R.J., Woiwod I.P., Birchall C., Skellern M.P., Walker J.H., Baker P., Browne E.L., Dewar A.J.G., Garner B.H., Haylock L.A., Horne S.L., Mason N.S., Sands R.J.N., Walker M.J. (2003). Invertebrate responses to the management of genetically modified herbicide-tolerant and conventional spring crops. II. Within-field epigeal and aerial arthropods. *Phil Trans R Soc Lond B*, **358** : 1863-1877.

Hawes C., Haughton A.J., Osborne J.L., Roy D.B., Clark S.J., Perry J.N., Rothery P., Bohan D.A., Brooks D.R., Champion G.T., Dewar A.M., Heard M.S., Woiwod I.P., Daniels R.E., Young M.W., Parish A.M., Scott R.J., Firbank L.G., Squire G.R. (2003). Responses of plants and invertebrate trophic groups to contrasting herbicide regimes in the Farm Scale Evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. *Phil Trans R Soc Lond B*, **358** : 1899-1913.

Herbert E.W., Shimanuki H. (1978). Chemical composition and nutritive value of bee-collected and bee-stored pollen, *Apidologie*, **9** : 123-130.

Hilbeck A., Baumgartner M., Fried P.M., Bigler F. (1998). Effect of transgenic *Bacillus Thuringiensis* corn-fed prey on mortality and development time of immature *Chrysoperla carnea* (*Neuroptera: Chrysopidae*). *Environ Entomol*, **27** : 480-487.

Hilder V.A., Gatehouse A.M.R., Sherman S.E., Barker R.F., Boulter D. (1987). A novel mechanism for insect resistance engineered into tobacco. *Nature*, **330** : 160-163.

Jouanin L., Bonadé-Bottino M., Girard C., Morrot G., Giband M. (1998a). Transgenic plants for insect resistance. *Plant Sci*, **131** : 1-11.

Jouanin L., Girard C., Bonadé-Bottino M., Le Métayer M., Picard-Nizou A.-L., Lerin J., Pham-Delègue M.-H. (1998b). Impact de colzas transgéniques exprimant des inhibiteurs de protéases sur Coléoptères phytophages et sur abeilles. *Cahiers Agriculture*, **7** : 531-536.

Koziel M.G., Beland G.L., Bowman C., Carozzi N.B., Crenshaw R., Crossland L., Dawson J., Desai N., Hill M., Kadwell S., Launis K., Lewis K., Maddox D., McPherson K., Meghji M.R., Merlin E., Rhodes R., Warren G., Wright M., Evola S.V. (1993). Field performance of elite transgenic maize plants expressing an insecticidal protein derived from *Bacillus thuringiensis*. *Bio Technology*, **11** : 194-200.

Laloi D., Roger B., Blight M.M., Wadhams L.J., Pham-Delègue M.-H. (1999). Individual learning ability and complex odor recognition in the honeybee, *Apis mellifera*. *J Insect Behav*, **12** : 585-597.

Lavigne C., Klein E.K., Vallée P., Pierre J., Godelle B., Renard M. (1998). A pollen dispersal experiment with transgenic oiseedrape. Estimation of the average pollen dispersal of an individual plant within a field. *Theor Appl Genet*, **93** : 1319-1326.

Losey J.E., Rayor L.S., Carter M.E. (1999). Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature*, **399** : 214.

Malone L.A., Pham-Delègue M.-H. (2002). Using proteins to assess the potential impacts of genetically modified plants on honey bees. *In* Devillers J., Pham-Delègue M.-H., *Estimating the Environmental Impact of Chemicals to Honey Bees*, Tailors & Francis, 290-311.

Menzel R. (1984). Short term memory in bees. *In* Alkon D.L., Farley J., *Primary neural substrates of learning and behavioural change*. Cambridge University Press, London, 259-274.

Mesquida J., Pham-Delègue M.-H., Marilleau R., Le Métayer M., Renard M. (1991). La sécrétion nectarifère des fleurs de hybrides mâles-stériles de colza d'hiver (*Brassica napus* L.). *Agronomie*, **11** : 217-227.

Neuhaus G. (1999). *Literature review on non-target organisms and Bt-maize*. Novartis. Oxford.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Pham-Delègue M.-H., Blight M.M., Kerguelen V., Le Métayer M., Marion-Poll F., Sandoz J.-C., Wadhams L.J. (1997). Discrimination of oilseed rape volatiles by the honeybee: combined chemical and biological approaches. *Entomol Exp Appl*, **83** : 87-92.

Pham-Delègue M.-H., Girard C., Le Métayer M., Picard-Nizou A.-L., Hennequet C., Pons O., Jouanin L. (2000). Long–term effects of soybean protease inhibitors on digestive enzymes, survival and learning abilities of honeybees. *Entomol Exp Appl*, **95** : 21-29.

Picard-Nizou A.-L., Grison R., Olsen L., Pioche C., Arnold G., Pham-Delègue M.-H. (1997). Impact of proteins used in plant genetic engineering: Toxicity and behavioral study in the honeybee. *J Econ Entomol*, **90** : 1710-1716.

Picard-Nizou A.-L., Pham-Delègue M.-H., Kerguelen V., Douault P., Marilleau R., Olsen L., Grison R., Toppan A., Masson C. (1995). Foraging behaviour of honey bees (*Apis mellifera* L.) on transgenic oilseed rape (*Brassica napus* L. *var. oleifera*). *Transgenic Res*, **4** : 270-276.

Picard-Nizou A.-L., Pham-Delègue M.-H. (2000). Environmental impact of transgenic oilseedrape on beneficial insects: effects on honeybees and bumblebees. Final report of the EU Biotechnology Program BIO4-CT96-0365 1996-1999, 90 p.

Pierre J., Marsault D., Genecque E., Renard M., Champolivier J., Pham-Delègue M.-H. (2003). Effects of herbicide-tolerant oilseed rape genotypes on honey bees and other pollinating insects under field conditions. *Entomol Exp Appl*, **108** : 159-168.

Pierre J., Mesquida J., Marilleau R., Pham-Delègue M.-H., Le Métayer M., Renard M. (1996). Nectar secretion in winter oilseed rape (*Brassica napus*): quantitative and qualitative variability among 71 genotypes. *Plant Breeding*, **115** : 471-476.

Rabhé Y., Ferrasson E., Rabesona H., Quillien L. (2003). Growth inhibition of the pea aphid Acyrtosiphon pisum by isoforms and fragments of the Bowman-Birk protease inhibitor from pea seeds. *Insect Biochem Molec*, **33** : 299-306.

Rabhé Y., Sauvion N., Febvay G., Peumans W.J., Gatehouse A.M.R. (1995). Toxicity of lectins and processing of ingested proteins in the pea aphid Acyrtosiphon pisum. *Entomol Exp Appl*, **76** :143-155.

Romeïs J., Babendreier D., Wäckers F.L. (2003). Consumption of snowdrop lectin (*Galanthus nivalis* agglutinin) causes direct effects on adult parasitic wasps. *Oecologia*, **134** : 528-536.

Roy D.B., Bohan D.A., Haughton A.J., Hill M.O., Osborne J.L., Clark S.J., Perry J.N., Rothery P., Scott R.J., Brooks D.R., Champion G.T., Hawes C., Heard M.S., Firbank L.G. (2003). Invertebrates and vegetation of field margins adjacent to crop subject to contrasting herbicide regimes in the Farm Scale Evaluations of the genetically modified-herbicide- tolerant crops. *Phil Trans R Soc Lond B*, **358** : 1879-1898.

Sandoz J.-C., Roger B., Pham-Delègue M.-H. (1995). Olfactory learning and memory in the honeybee: comparison of different classical conditioning procedures of the proboscis extension response. *CR Acad Sci S III Vie*, **318** : 749-755.

Sauvion N. (1995). *Effets et modes d'action de deux lectines à mannose sur le puceron du pois*, Acyrtosiphon pisum *(Harris)*. Thèse de doctorat ès sciences, INSA, Lyon.

Sauvion N., Rahbé Y., Peumans W.J., VanDamme E.J.M., Gatehouse J.A., Gatehouse A.M.R. (1996). Effects of GNA and other mannose binding lectins on development and fecundity of the peach-potato aphid *Myzus persicae*. *Entomol Exp Appl*, **79** : 285-293.

Schuler T.H., Poppy G.M., Kerry B.R., Denholm I. (1998). Insect-resistant transgenic plants. *Trends Biotech*, **16** : 168-175.

Shi Y., Wang M.B., Powell K.S., Vandamme E., Hilder V.A., Gatehouse A.M.R., Boulter D., Gatehouse J.A. (1994). Use of the rice sucrose synthase-1 promoter to direct phloem-specific expression of beta-glucuronidase and snowdrop lectin genes in transgenic tobacco plants. *J Exp Botany*, **45** : 623-631.

Stary P. (1988). Natural Enemies. *In* Minks A., Harrewijn P., *Aphids, their biology, natural enemies and control*. Elsevier, Amsterdam, 171-184.

Stevenson J.H. (1978). The acute toxicity of unformulated pesticides to worker honeybees (*Apis mellifera* L.). *Plant Path*, **27** : 38-40.

Viggiani G. (1984). Bionomics of the Aphelinidae. *Annu Rev Entomol*, **29** : 257-276.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Wilkinson J.E., Twell D., Lindsey K. (1997). Activities of CaMV 35S and NOS promotors in pollen: implications for field release of transgenic plants. *J Exp Botany*, **48** : 265-275.

Wolfenbarger L.L., Phifer P.R. (2000). The ecological risks and benefits of genetically engineered plants. *Science*, **290** : 2088-2093.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Section 5

Stratégies de la lutte physique

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

38

Bases écophysiologiques de la lutte physique contre les insectes

Francis Fleurat-Lessard

Les pratiques modernes de lutte physique reposent sur la compréhension complète de la biologie, du comportement et des limites physiologiques de l'organisme cible. Soumis à un stress physique : mécanique, thermique, gazeux ou électromagnétique, ou à une perturbation de son comportement par différents stimuli d'origine physique, chaque espèce cible va réagir et aura une réponse spécifique à cette modification des conditions de son environnement. L'amplitude de cette réaction dépendra à la fois des aptitudes physiologiques de l'espèce à résister à cette perturbation, introduite le plus souvent de façon brutale, et de la vitesse à laquelle cette perturbation va se propager.

Le développement de procédés physiques efficaces pour la lutte contre les ravageurs des cultures (arthropodes, pour l'essentiel) dépendra donc étroitement :

– de la connaissance des effets physiologiques du « traitement » physique, ainsi que de la maîtrise parfaite de sa cinétique en conditions réelles ;

– de l'intensité de la réponse physiologique (rapide) de la population cible au type de stress généré au niveau de l'individu dans son biotope.

Les principaux effets des stress physiques (correspondant aux méthodes actives) sur les insectes, qui sont indispensables à connaître pour appliquer ces méthodes dans la pratique courante de la protection intégrée des cultures et des denrées, sont présentés dans ce chapitre.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1. *Physiologie du stress physique chez les insectes*

1.1. Stress thermique

1.1.1. Effets des températures élevées (sub-optimales)

L'influence de la température sur la vie d'un insecte se traduit par un diagramme appelé « échelle thermobiologique » avec une plage centrale correspondant à l'optimum thermique où les fonctions physiologiques sont assurées normalement (Vannier, 1987). Lorsque la température dépasse l'optimum thermique, les fonctions vitales s'intensifient et, si la température continue à croître, l'insecte passe ensuite par une phase d'hyperactivité, avec une accélération des échanges respiratoires et du processus de transpiration, de plus en plus désordonnée au fur et à mesure que la température augmente. Quand la température atteint la limite supérieure, appelée « point de thermotorpeur » (PTT) (Chauvin et Vannier, 1991), ou encore « point d'inhibition motrice », l'activité motrice et le niveau des échanges respiratoires sont brutalement ou progressivement suspendus. La température limite supérieure létale est située à seulement quelques degrés Celsius au-dessus du PTT. Le niveau de température au PTT est un paramètre physique spécifique et caractéristique du niveau de tolérance d'un insecte au choc thermique. La connaissance du PTT est primordiale pour rendre la lutte thermique plus efficace et plus précise. Chauvin et Vannier ont mesuré le PTT de nombreux insectes nuisibles aux produits agricoles en post-récolte. La limite thermique supérieure de ces insectes se situe vers 45 °C. La mort entraînée par les effets d'un stress thermique est due essentiellement à l'enchaînement d'une cascade d'anomalies du fonctionnement cellulaire. Les cibles les plus sensibles au choc thermique sont les suivantes :

- le pH et l'équilibre osmotique ;
- les macromolécules (protéines, acides nucléiques : ADN, ARN) ;
- les nutriments énergétiques (lipides, glucides) et l'ATP (adénosine triphosphate) ;
- les propriétés fonctionnelles des phospholipides membranaires ;
- les systèmes de communication et d'interactions intercellulaires ;
- les systèmes « intégratifs » (hormones, système nerveux) qui régulent et coordonnent le fonctionnement physiologique à l'échelle de l'organisme complet.

La cause principale de la mort entraînée par l'exposition à des températures supra-létales, est attribuée en premier lieu à la modification des propriétés des membranes. Ainsi, la première conséquence physiologique du stress thermique est un changement des propriétés des phospholipides membranaires qui deviennent beaucoup plus fluides à haute température. Le système nerveux étant très sensible à toute perte d'intégrité ou de fonctionnalité des membranes, il a été effectivement démontré qu'il était endommagé rapidement par les fortes températures. Une acclimatation de l'insecte pour supporter les fortes températures est possible par l'évolution vers une augmentation de la température de fusion des lipides des membranes et, en particulier, de la membrane synaptique. Ce changement est consécutif à une baisse de la proportion des acides gras saturés dans les lipides de réserve de l'insecte,

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

corrélée à l'élévation du point de fusion des lipides, qui est observée chez les insectes vivant en permanence à des niveaux de température élevés.

En second lieu, les températures supérieures au point de thermotorpeur modifient la structure, la forme et les propriétés fonctionnelles des protéines de l'insecte. Il existe une corrélation positive entre la température à laquelle la pyruvate kinase – un enzyme clé de la glycolyse – est inactivée et la température létale, (en quelques minutes) pour la majorité des insectes, comprise généralement entre 56 et 60 °C. Concernant les autres enzymes plus résistants à la chaleur que la pyruvate kinase, des déséquilibres importants entre les réactions enzymatiques d'un même cycle métabolique apparaissent, avec des réactions qui se découplent, entraînant un blocage des réactions en chaîne, en particulier celles du métabolisme énergétique et respiratoire. Les stress de température étant très courants, il existe une grande variété d'adaptations physiologiques au stress thermique chez l'insecte (Hallman et Denlinger, 1998). Le choc thermique sur les stades juvéniles des insectes holométaboles est souvent à l'origine de multiples effets biologiques comme des anomalies du développement (apparition d'adultes mal formés) (Fleurat-Lessard *et al.*, 1979), une baisse du pouvoir fécondant des mâles et même la perturbation de l'horloge biologique interne (décalage du rythme circadien normal).

Le pH de l'hémolymphe évolue avec la montée en température, ce qui provoque un stress acide et un changement de l'activité ionique, qui peuvent être fatals à l'insecte si les mécanismes de régulation sont débordés. Le stress hydrique est un facteur additionnel souvent associé aux autres causes de mortalité, et les insectes les moins aptes à la transpiration sont généralement les plus sensibles à la chaleur (Fields, 1992).

Au cours d'une élévation brutale de la température, de nombreux mécanismes physiologiques de réponse sont activés, ce qui perturbe le fonctionnement métabolique normal des individus, en particulier la synthèse des protéines. Par exemple, la biosynthèse des protéines de stress thermique (HSP : *heat shock proteins*), qui est déclenchée par le stress thermique, accapare temporairement l'essentiel des ressources énergétiques de l'insecte en croissance au détriment de son développement normal. La production de ces protéines de stress thermique provoque également des perturbations dans les équilibres osmotiques et ioniques à l'intérieur de la cellule.

Les hormones qui rythment le développement de l'insecte interviennent également dans les mécanismes de thermotolérance. Les ecdystéroïdes stimulent la production des petites protéines de choc thermique (*small* HSP ou SHSP 23 ou 29) (Rauchenbach *et al.*, 1993). La synthèse rapide des *HSP* est associée à une forte consommation d'oxygène et une forte activité respiratoire au niveau des mitochondries. La limitation de la phosphorylation oxydative par des inhibiteurs ou par la privation d'oxygène (Yocum et Denlinger, 1994) provoque un blocage de la biosynthèse des HSP. Au niveau des équilibres hormonaux qui réglent le développement de l'insecte, la sensibilité des cellules nerveuses à la chaleur provoque rapidement un arrêt des productions des ecdystéroïdes et un déséquilibre de la balance hormonale avec l'hormone juvénile (Rauschenbach *et al.*, 1993).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Ces informations sur la réponse physiologique de l'insecte au choc thermique sont importantes car elles laissent prévoir les effets additionnels ou synergistes de l'association entre l'hypoxie et le stress thermique à hautes températures.

En ce qui concerne les seuils de tolérance à la chaleur, certaines espèces d'insectes les mieux adaptées peuvent supporter temporairement des températures supérieures à 60 °C, mais cela reste une exception. Selon Denlinger et Yocum (1998), les symptômes du stress thermique chez l'insecte apparaissent à partir de températures de 38-40 °C et des effets de plus en plus dommageables interviennent jusqu'à la température de 50 °C qui provoque la mort en deux heures (figure 1).

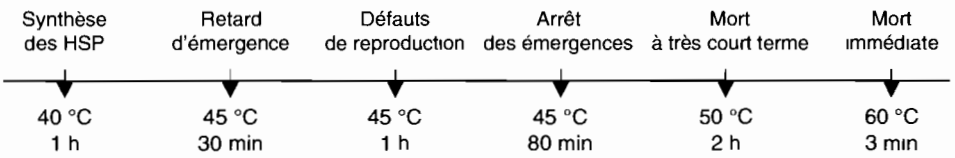


Figure 1 ■ Symptômes de stress thermique chez un Diptère provoqués par différentes intensités de choc thermique (adapté de : Denlinger et Yocum, 1998 et Yocum *et al.*, 1994).

En comparant la sensibilité à différents stades du développement, il a été maintes fois observé des écarts de sensibilité au stress thermique importants liés au stade. De même, des souches ou écotypes provenant de régions à climats très différents peuvent avoir des sensibilités très différentes (Fields *et al.*, 1998). De plus, certains tissus ou certaines cellules sont plus sensibles au choc thermique. Ainsi, nous avons montré que les cellules des disques imaginaux des larves du Coléoptère *Tenebrio molitor* étaient particulièrement sensibles à un choc thermique induit par les micro-ondes ou les radiofréquences. Ces amas cellulaires, qui vont former les organes de l'imago au cours de la métamorphose, ne se développent pas correctement après le choc thermique et de nombreuses malformations des appendices, des ailes et des pattes apparaissent à une fréquence élevée (Fleurat-Lessard *et al.*, 1979).

Le stress thermique favorise la dessiccation de l'insecte. Il a été très bien mis en évidence par Vannier (1987) et Salin *et al.* (1999) qu'à partir d'une certaine température, appelée température d'ouverture des stigmates (TOS), le contrôle de la fermeture des stigmates disparaît ce qui met en communication directe les trachées avec l'air extérieur. La conséquence principale de cette ouverture « forcée » est d'entraîner une transpiration très importante qui provoque rapidement la dessiccation du corps de l'insecte, si le niveau de la température reste élevé. Le maintien de la balance hydrique étant très important pour la survie de l'insecte, la dessiccation provoquée par le stress thermique va accélérer l'effet létal. La TOS précède de quelques degrés Celsius, le point de thermotorpeur (PTT) à partir duquel l'insecte ne réagit plus et devient immobile (Salin *et al.*, 1999). Le contrôle de la fermeture des stigmates par les centres nerveux est inhibé à partir de la TOS mais, les stigmates se referment naturellement par voie réflexe lorsque la température se situe au niveau du PTT (Salin *et al.*, 1999).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un delit

En plus de ses capacités physiologiques intrinsèques de réponse au stress thermique, l'espèce présente une thermotolérance qui dépend également de son potentiel génétique, de son acclimatation sur le long terme et de l'accoutumance rapide à la chaleur. Ainsi, en passant par un palier intermédiaire de pré-conditionnement, on obtient une plus grande tolérance chez les individus pré-conditionnés que chez le reste de la population. Mais, cette « tolérance acquise » a un coût métabolique : l'allocation énergétique à la croissance diminue, la durée de développement augmente et la fécondité des femelles « acclimatées à la chaleur » est moindre que celle des femelles n'ayant pas subi l'induction de la thermotolérance (Krebs et Loeschcke, 1994).

1.1.2. Basses températures (infra-optimales)

1.1.2.1. Mécanismes d'action des températures infra-optimales

L'abaissement de la température de l'insecte au-dessous du seuil thermique d'activité et de développement produit une baisse brutale de son activité générale (locomotion, respiration, prise de nourriture, excrétion) qui lui permet de supporter le froid sur des périodes allant de quelques jours à quelques mois. Toutefois, le maintien de basses températures en permanence (proches de 0 °C ou inférieures) engendre des dommages biologiques dont l'étendue peut être fatale à l'insecte lorsque les conditions d'une activité normale sont rétablies. Les principaux effets du froid sont les changements d'état des lipides qui deviennent figés (phénomène associé à une amplification de la rigidité des membranes au niveau de la couche phospholipidique), l'évolution de l'équilibre ionique du milieu intérieur (l'hémolymphe) et la formation de cristaux de glace à des températures très inférieures à 0 °C (Fields, 1992).

Le tissu neuromusculaire de l'insecte est très sensible aux dommages physiologiques causés par un abaissement brutal de la température. L'état de psychrotorpeur (*chill coma* en anglais) correspond à la perte d'excitabilité électrique des muscles et des nerfs (Xu et Robertson, 1994). Cette température de psychrotorpeur est atteinte à 10 °C chez les ouvrières de l'abeille *Apis mellifica* et à 7 °C chez l'adulte du Diptère *Drosophila melanogaster* (Hosler *et al.*, 2000). Lorsque les insectes sont soumis à ces températures, il se produit une perte de fonction des canaux ioniques régulant la différence de potentiel le long de la membrane des nerfs ou au niveau des synapses (Hosler *et al.*, 2000). Le système reproducteur peut également être atteint par les effets du froid. Les individus qui récupèrent d'un séjour à basse température ont une fécondité et une fertilité des œufs inférieures à la normale (Yocum *et al.*, 1994).

Les effets du froid peuvent être atténués par une acclimatation préalable au séjour prolongé au froid et par divers mécanismes qui augmentent la tolérance « physiologique » de l'insecte aux basses températures. L'adaptation la plus connue chez les insectes pour résister aux basses températures est la biosynthèse et l'accumulation de fortes concentrations de sucres et de polyols de faible poids moléculaire : tréhalose, glycérol, sorbitol, qui sont « cryoprotecteurs ». En règle générale, cette synthèse a

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

lieu avant la venue de l'hiver. Des protéines d'hystérésis thermique (THP : *thermal hysteresis proteins*), de masse moléculaire comprise entre 14 et 20 kDa, peuvent être également produites en réaction au stress cryoscopique et à bien d'autres stress comme la dessiccation ou le choc thermique brutal. Chez *T. molitor*, une protéine de 28 kDa a été identifiée à la suite de la dessiccation et du choc thermique ou cryoscopique (Kroeker et Walker, 1991). Les THP qui peuvent abaisser le point critique d'abaissement cryoscopique (PCAC) de 5 à 6 °C sont aussi appelées « protéines antigel ». Elles peuvent se lier à des HSP dans l'hémolymphe, ce qui a pour effet de renforcer leur effet « antigel » (Wu et Duman, 1991). Les THP sont produites par le corps gras, production qui paraît être sous le contrôle étroit des hormones juvéniles. L'augmentation des teneurs en THP dans les insectes qui se préparent à hiverner à l'automne est en relation avec l'augmentation des teneurs en hormones juvéniles qui se produisent aussi à cette période. Les protéines de choc thermique (HSP) ne sont pas spécifiques de la réponse à l'exposition aux hautes températures : elles peuvent apparaître dans certains cas de stress par le froid, l'anoxie ou les substances toxiques (stress « métabolique »).

Ces diverses substances cryoprotectrices augmentent la tolérance au froid par différents processus :

– l'augmentation de la capacité de surfusion des fluides du milieu intérieur (liée à l'augmentation de la concentration en électrolytes de l'hémolymphe) ;

– la diminution de la quantité de glace qui se forme dans l'hémolymphe, et aussi de la déshydratation intracellulaire induite par les différences de pression osmotique entre le compartiment extracellulaire (en surfusion ou gelé) et le contenu intracellulaire ;

– la réduction du gradient osmotique entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule en phase « gel » ;

– l'augmentation de la teneur en certains acides aminés (alanine et proline) dans l'hémolymphe (Fields *et al.*, 1998).

Les insectes vivant en climats tempérés sont confrontés aux basses températures pendant l'hiver. La plupart des espèces qui passent l'hiver dans la nature entrent en diapause. Cet état physiologique est caractérisé par un abaissement de l'activité vitale et du métabolisme à un niveau extrêmement faible. Ceci a pour conséquence une élévation de la tolérance au froid et à la congélation. Mais, les causes de la tolérance au froid et de l'entrée en diapause sont très différentes. Ainsi, chez la pyrale du maïs, *Ostrinia nubilalis*, la larve de deuxième génération entre en diapause au moment où la durée de la photophase diminue (juillet-août), mais elle ne devient plus tolérante au froid que lorsque la biosynthèse des substances cryoprotectrices aura été induite par les premiers froids de septembre-octobre sous nos climats. Toutefois, ces deux éléments se recoupent dans le temps, le raccourcissement de la photophase induisant l'entrée en diapause, mais agissant aussi sur la synthèse du tréhalose qui est le principal cryoprotecteur chez cette espèce. L'augmentation de la concentration en cryoprotecteurs dans l'hémolymphe, au moment de la diapause, est corrélée avec l'abaissement consécutif du point de congélation des fluides corporels (PCAC) qui atteint son niveau le plus bas avec les concentrations les plus

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

élevées de cryoprotecteurs. Une fois la diapause levée, le PCAC peut remonter de plus de 10 °C chez certaines espèces (Danks, 1991). Certaines souches géographiques ont évolué naturellement vers une plus grande tolérance au froid dans les climats les plus rigoureux pendant l'hiver. Ainsi, Fields *et al.* (1998) ont montré des différences très importantes de tolérance au froid chez deux Coléoptères des grains stockés : *Sitophilus granarius* et *Cryptolestes ferrugineus*, selon que la souche est originaire du Canada ou de France méridionale.

La congélation des tissus chez l'insecte est rapidement létale pour toutes les espèces qui ne sont pas adaptées à la survie à très basse température (la totalité des ravageurs des denrées et la majorité des ravageurs des cultures sont dans ce cas). La température de congélation des insectes est très variable et se situe entre −15 et −25 °C pour la plupart des ravageurs des cultures ou des denrées (Chauvin et Vannier, 1991). De plus, une variabilité intrapopulation importante existe entre les stades d'une même espèce. Ainsi, nous avons pu mesurer des températures du PCAC chez les stades larvaires et la nymphe de la bruche du haricot, *Acanthoscelides obtectus*, différentes selon les stades. Elles s'échelonnent de −15 à −23 °C (Fleurat-Lessard, données non publiées). L'apparition de cristaux de glace au cours de l'abaissement de la température du corps de l'insecte à des températures inférieures à 0 °C est associée à la production temporaire de chaleur (chaleur latente de congélation) indiquant le début de la transition liquide-solide (Sømme, 1982). L'enregistrement de ce dégagement de chaleur pendant une phase de baisse régulière de la température de l'insecte permet de déterminer avec précision la température critique de congélation. Pour la plupart des insectes de biotopes protégés des basses températures (comme les insectes des denrées et de l'habitat domestique), le gel est mortel car les cristaux de glace qui se forment provoquent la lyse mécanique des cellules touchées, et un choc osmotique dû à l'augmentation brutale de la concentration en électrolytes dans le contenu cellulaire encore en surfusion.

1.1.2.2. Facteurs de diminution de la tolérance au froid

D'autres protéines peuvent jouer le rôle inverse des THP. Il s'agit des protéines de « cristallisation » qui peuvent favoriser l'apparition des cristaux de glace au cours du processus de congélation. La plus connue de ces protéines « de gel » est une lipoprotéine de 800 kDa isolée du Diptère *Tipula trivittata* (Neven *et al.*, 1989). Une autre approche pour diminuer la tolérance au froid et rendre ainsi plus facile la lutte contre les insectes par le froid est l'utilisation de « bactéries glaçogènes », comme *Pseudomonas syringae* (Fields, 1993 ; Fields *et al.*, 1995). Les insectes ayant ingéré ces bactéries ont un point critique d'abaissement cryoscopique qui augmente car les bactéries jouent le rôle de noyaux initiateurs de la cristallisation. Le processus d'acclimatation au froid, par exposition progressive à des températures de plus en plus basses, est bloqué lorsque l'insecte est placé en conditions anaérobies ou en forte hypoxie. En effet, la biosynthèse des cryoprotecteurs n'est possible qu'en présence d'oxygène. Mais, chez certaines espèces, l'arrêt du métabolisme oxydant peut accélérer la production des substances cryoprotectrices dont la synthèse est indépendante de l'oxygène (polyols). Toutefois, en règle générale, quand le choc

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

cryoscopique est couplé à l'anoxie, le processus létal est plus rapide. Certains traitements contre les insectes de quarantaine des fleurs coupées reposent sur cette association (Shelton *et al.*, 1996).

1.1.3. Choc thermique par exposition aux radiofréquences (RF) ou aux micro-ondes (MO)

Les radiofréquences et les micro-ondes font partie des rayonnements électromagnétiques non ionisants. Ces champs électro-magnétiques appliqués à une matière biologique (un « diélectrique ») la traversent et se dégradent en chaleur sous l'effet des interactions entre l'onde et les molécules dipolaires (comme la molécule d'eau). L'énergie transportée par l'onde se dissipe dans un biomatériau par deux types de processus de dégradation, appelés « pertes » : les pertes diélectriques et les pertes par conduction. De nombreux facteurs d'interférence viennent compliquer l'optimisation du transfert énergétique onde-biomatériau :

– la fréquence de relaxation de l'onde électromagnétique dérive au fur et à mesure que le niveau de température augmente dans le biomatériau ;

– chaque état de fixation de l'eau (eau libre, eau liée et eau de constitution) a une fréquence de relaxation propre.

La capacité de transfert d'énergie par ces ondes RF ou MO peut être reliée à la permittivité diélectrique du matériau, qui est une variable complexe correspondant à l'aptitude d'un matériau à se polariser sous l'effet d'un champ électromagnétique. Elle comporte deux composantes dont l'une (ξ'') est directement liée au transfert de chaleur. Les premières études sur les constantes diélectriques des insectes (Nelson, 1996) mettent en évidence que les Coléoptères des grains de l'espèce *Sitophilus oryzae* s'échauffent plus rapidement que le substrat qui les héberge (le blé). Cette différence d'élévation thermique peut être rapportée schématiquement à la différence de teneur en eau dans les deux milieux : 55 à 60 % d'eau chez l'insecte et 13 % d'eau dans le grain de blé. Cet effet thermique est associé à des effets secondaires lorsque certains tissus ou certains groupes cellulaires sont endommagés par un échauffement localisé. Il a été constaté que l'exposition de formes juvéniles d'insectes des produits céréaliers à un stress thermique RF ou MO provoquait l'apparition de malformations chez les adultes et des perturbations métaboliques sévères (Fleurat-Lessard *et al.*, 1979).

1.2. Effets biologiques des radiations ionisantes

Les effets des radiations ionisantes sur les insectes des denrées ont été étudiés par de nombreux laboratoires dans le monde à partir des années 50. Parmi les divers effets des radiations ionisantes sur les êtres vivants, les troubles du développement au cours de l'embryogenèse sont les premiers à apparaître à cause de la grande sensibilité des tissus en croissance à ce type de rayonnement. En simplifiant à l'extrême, la sensibilité à l'ionisation est d'autant plus grande que le taux de croissance de

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

l'organisme cible est plus élevé. L'irradiation des insectes a des effets marqués sur l'information génétique de toutes les cellules en division. Le matériel embryologique est très sensible à l'action des radiations ionisantes qui perturbent gravement le processus de multiplication cellulaire. La différentiation cellulaire est très active au moment de l'embryogenèse précoce au stade de l'œuf. Toutefois, les cellules des disques imaginaux des insectes holométaboles sont des cellules embryonnaires qui restent indifférenciées au moment de l'embryogenèse. Bien qu'elles se divisent activement, ces cellules restent embryonnaires pendant toute la vie larvaire, formant ce que l'on appelle des disques imaginaux, qui comportent plusieurs milliers de cellules au moment de la nymphose. Ce n'est que pendant la métamorphose que les cellules des disques se différencient pour donner les organes de l'adulte. Les cellules des disques se multipliant au cours de la vie larvaire, elles sont des cibles sensibles aux rayonnements. Par contre, la radiosensibilité des adultes reste limitée aux cellules en division, c'est-à-dire les cellules germinales.

L'effet direct des rayonnements ionisants est la conséquence de la rupture des molécules d'ADN ou d'ARN ou l'apparition de liaisons inter ou intra-moléculaires (adduits sur l'ADN). La mort cellulaire survient lorsque l'information génétique est désorganisée au point de ne pouvoir être « récupérée » par les systèmes de réparation au moment de la transcription. L'effet indirect est celui de la radiolyse des liquides biologiques, en particulier du solvant cellulaire le plus important : l'eau. Un point important est la formation, à cause de la présence d'oxygène, de peroxydes, lesquels augmentent considérablement le rendement des réactions de radiolyse (Bolnot *et al.*, 1984).

L'irradiation des insectes adultes conduit à des effets sur le système reproducteur avec une sensibilité plus marquée des cellules germinales mâles que des cellules femelles. Ainsi, à partir de la connaissance des deux types principaux d'effets des rayonnements ionisants, sur les stades juvéniles d'une part et chez les adultes d'autre part, deux méthodes de lutte différentes en découlent (Buscarlet, 1990) :

– la lutte directe par irradiation de denrées alimentaires infestées, notamment par des espèces de quarantaine difficiles à détruire par d'autres procédés sans endommager la qualité de la denrée ;

– la lutte indirecte par lâchers inondatifs d'adultes stérilisés qui se mêlent à la population sauvage pour en réduire progressivement la multiplication, génération après génération, jusqu'à son extinction complète.

Avec la lutte indirecte, par lâcher d'insectes d'élevage de masse stérilisés par irradiation, appelée lutte « autocide », la population naturelle est amenée vers l'extinction par l'introduction massive d'individus soit stériles, soit porteurs de gènes létaux dominants (*cf.* chapitres 22 et 39).

1.3. Stress anoxique, hypoxique ou carboxyque

Parmi les possibilités de manipulation des facteurs de l'environnement, la modification de la composition atmosphérique est un procédé qui a fait l'objet de très

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

nombreuses études partout dans le monde à partir des années 80 (Shejbal, 1980 ; Calderon et Barkai-Golan, 1990), pour la préservation de denrées alimentaires de longue conservation. Le plus souvent, l'atmosphère normale est modifiée par l'introduction de gaz inertes pour la rendre anoxique et impropre à la survie des insectes. Les deux gaz les plus utilisés dans la réalisation d'atmosphères modifiées en enceinte hermétique sont l'azote et le dioxyde de carbone (CO_2). L'un et l'autre n'ont ni les mêmes effets ni le même domaine d'utilisation (Le Torc'h, 1983 ; Le Torc'h et Fleurat-Lessard, 1991).

1.3.1. Effets de l'anoxie seule et facteurs de tolérance

La raréfaction d'oxygène au-dessous d'une certaine teneur provoque l'ouverture permanente des stigmates et celle-ci est associée à une intense dessiccation. Pendant l'anoxie, la plupart des réactions d'oxydation sont inhibées et un métabolisme anaérobie s'installe. Celui-ci conduit à la formation de produits du catabolisme des sucres en anaérobiose comme l'acide lactique. La synthèse protéique, qui est dépendante de la disponibilité de l'ATP, se réduit avec la disponibilité en oxygène. De plus, une partie du métabolisme protéique est dérivée vers la synthèse des protéines de stress (THP et HSP). Ainsi, en anaérobiose, le développement des stades juvéniles de l'insecte paraît suspendu. En cas de retour de l'insecte à une atmosphère normale après une exposition non létale, il se produit généralement une sur-consommation d'oxygène avant de retrouver un niveau normal. Mais, si le séjour en anaérobiose a été prolongé au-delà de ses capacités de récupération, l'insecte peut parfois mourir à la remise en atmosphère normalement oxygénée faute de pouvoir détoxifier correctement les produits du catabolisme accumulés au cours de l'anaérobiose en milieu réduit.

La modification de la composition atmosphérique par l'azote ou les gaz inertes (gaz de combustion épuré, par exemple) ne concerne que les cas où le produit à désinsectiser est conditionné dans une enceinte étanche aux gaz. La préservation des produits alimentaires faiblement hydratés (produits à base de céréales, fruits secs, légumes secs, plantes et végétaux secs ou séchés, croquettes et aliments du bétail, épices, etc.) contre les attaques des insectes nuisibles peut correspondre à cette situation. Les insectes des denrées alimentaires résistent pendant plusieurs jours, voire plusieurs semaines à des séjours en atmosphère appauvrie en oxygène à des teneurs en O_2 inférieures à 2 % (Annis, 1986 ; Fleurat-Lessard, 1990 ; Fleurat-Lessard et Le Torc'h, 1991). En pratique, cela se traduit par des durées d'exposition longues (et donc coûteuses) pour limiter les entrées d'oxygène dans les enceintes sous atmosphère anoxique (cellule de stockage de grain ou sac d'emballage hermétiquement fermé).

1.3.2. Effets de teneurs élevées en dioxyde de carbone (hypercarbie)

Les récepteurs du système nerveux assurant le contrôle des échanges gazeux respiratoires sont stimulés en priorité par la teneur en anhydride carbonique (CO_2) dans l'hémolymphe. La régulation des mouvements respiratoires et de l'ouverture

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

des stigmates est sous la dépendance de centres respiratoires de la chaîne nerveuse ventrale et en particulier du ganglion métathoracique, lui-même contrôlé par le système nerveux central (SNC) où il existe un centre nerveux sensible à la teneur en CO_2 atmosphérique. Le séjour dans une atmosphère concentrée en CO_2 a des effets beaucoup plus délétères que la simple anoxie sur le métabolisme respiratoire de l'insecte. En règle générale, des teneurs en CO_2 supérieures à 35 %, avec ou sans oxygène, provoquent l'ouverture quasi-permanente des stigmates suite à l'anesthésie des systèmes de contrôle. Dans ces conditions, l'effet du CO_2 est rapide et dépend seulement de sa vitesse de diffusion dans les tissus et les cellules.

Selon Friedlander (1983), on distingue quatre grands types de modifications physiologiques consécutives à l'exposition des insectes à une forte teneur en CO_2 (non létale) :

– un allongement significatif de la durée du développement des stades en croissance lié à la réduction de la charge énergétique cellulaire et à une diminution consécutive des synthèses protéiques ;

– une accumulation de radicaux toxiques liée à une chute de la teneur en glutathion qui ne joue plus son rôle de détoxification vis-à-vis de ces substances toxiques ;

– des perturbations de la transmission nerveuse liées au ralentissement du processus de réacétylation de la choline au niveau du système nerveux central (SNC) et des transmissions nerveuses, qui conduit à une anesthésie et à une neurotoxicité progressive ;

– une intoxication progressive par les substances néoformées en hypercarbie par manque d'activité au niveau de la fonction oxydase mixte qui ne régénère plus suffisamment le coenzyme NADH dans les mitochondries, ce qui perturbe le transport électronique par absence de pouvoir réducteur.

En pratique, la tolérance au CO_2 chez l'insecte, du fait des multiples sites d'action, est improbable, même si elle a été activement recherchée.

1.3.3. Mise en œuvre des atmosphères modifiées

Le choix des techniques et du mélange gazeux approprié pour la lutte contre les insectes des denrées alimentaires dépend beaucoup du problème à résoudre, des conditions matérielles de mise en œuvre et de la disponibilité des atmosphères modifiées. Globalement, on peut classer les matériels et les atmosphères modifiées produites en deux types :

– les atmosphères riches en azote et pauvres en oxygène qui recouvrent les générateurs de gaz inerte (brûleurs à gaz), les séparateurs d'azote atmosphérique (échangeurs à membranes ou à adsorption) et l'azote liquide en bouteilles ou citernes ;

– les atmosphères à teneur en CO_2 supérieure à 40 % qui recouvrent la glace carbonique, l'anhydride carbonique liquide en bouteilles ou citernes, le CO_2 sous-produit d'autres utilisations de l'industrie chimique (issu de la fabrication d'engrais,

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

par exemple) et l'anhydride carbonique naturel issu de la fermentation de produits végétaux divers.

1.4. Stress mécaniques (chocs, aspiration)

La lutte pneumatique repose sur un enchaînement de plusieurs événements. Il faut d'abord décrocher les insectes des plantes. Ceci implique que la force exercée par l'appareil doit, soit en mode aspiration soit en mode de soufflage, exercer une force supérieure à la force d'accrochage de l'insecte. On a déterminé cette force chez une seule espèce d'insecte, le doryphore de la pomme de terre. Ainsi, Misener et Boiteau (1993) ont déterminé que la force nécessaire pour faire décrocher les individus peut atteindre 40 mN chez les adultes, 30 mN chez les larves des quatrième et troisième stades, et 10 mN chez les larves du deuxième stade. Une fois décrochés, les individus tombent en chute libre. Comme les adultes et les larves de quatrième, troisième, deuxième et premier stade tombent respectivement à des vitesses de 9,4, 9,5, 7,3 et 5,9 $m.s^{-1}$, le système d'aspiration peut alors les entraîner sans peine, selon des règles de l'aérodynamique (Khelifi *et al.*, 2000). Pour des études de simulation, il convient de déterminer le coefficient de traînée, un coefficient « adimensionnel » qui a l'avantage de permettre de calculer la force exercée sur l'insecte à contrôler par un courant d'air d'une vitesse déterminée, ainsi que la vitesse limite qui est la vitesse d'équilibre entre la force de traînée et son poids en chute libre. Le coefficient de traînée est variable suivant le régime de l'écoulement de l'air au niveau où se situent les insectes à déloger (Vincent *et al.*, 2000).

2. *De la connaissance des effets à l'usage opérationnel de procédés physiques en protection intégrée*

2.1. Place des procédés physiques dans les schémas de protection raisonnée

Les stratégies de lutte contre les ravageurs des cultures et des produits agro-alimentaires sont poussées à une évolution constante pour s'adapter à des situations et des contraintes en perpétuelle transformation. Ainsi, la lutte chimique nécessite une prise en compte des effets négatifs d'une utilisation non raisonnée et des conséquences de son utilisation quasi-exclusive, comme cela était le cas pendant environ un quart de siècle, de 1960 à 1985. L'extension de la lutte biologique par les prédateurs et parasites a été limitée par les capacités de production nécessaires à la protection efficiente des grandes cultures comme les céréales, le maïs, les oléagineux, les protéagineux ou les betteraves. Elle a pu trouver des utilisations sur des secteurs à plus forte valeur ajoutée mais à volume de production plus « fractionné » comme les productions de l'agriculture biologique. Les bio-insecticides sont plus coûteux que les produits de synthèse et s'adressent au même segment de marché des productions à plus forte valeur ajoutée.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Les procédés physiques ont également des inconvénients du même ordre : des coûts généralement plus élevés que ceux de la lutte chimique et des matériels de mise en œuvre spécifiques nécessitant un investissement quelquefois important. De plus, n'ayant aucune persistance d'action après leur mise en œuvre, ils doivent faire l'objet d'interventions répétées qui ne sont pas sans conséquences sur l'état des sols (par exemple plusieurs passages de matériel lourd dans un champ de fraises ou de pommes de terre peuvent dégrader la structure du sol), ainsi que sur les coûts à l'unité de produit récolté.

Toutefois, les évolutions de ces dix dernières années sur les exigences de qualité des produits agricoles, sur la réduction souhaitable du nombre de traitements pesticides sur la même culture ou sur le même stock de grain, sur la préservation de l'environnement (notamment de la pollution des sols et des nappes phréatiques par les pesticides rémanents), sur les nouvelles exigences réglementaires, tant sur le marché intérieur que sur le marché d'exportation, ouvrent des possibilités nouvelles d'intégration des procédés physiques dans les stratégies de lutte intégrée. Les coûts additionnels ne constituent plus un facteur limitant comme par le passé : le respect des bonnes pratiques de protection des cultures, la préservation de l'environnement, l'assurance de qualité sanitaire et de sûreté des productions végétales à des fins alimentaires a un prix qui fait partie des coûts de production.

Cette intégration indispensable des procédés de lutte physique dans les stratégies de protection intégrée des cultures ou des produits agroalimentaires, qui découle de l'ensemble des évolutions récentes de la conjoncture de la protection des végétaux contre les ravageurs, procède de trois types de démarches différentes :

– une démarche de substitution à des méthodes abandonnées pour se conformer à une nouvelle réglementation ;

– une démarche d'association à d'autres méthodes en situation de complémentarité ;

– une démarche de satisfaction d'exigences de qualité sanitaire et de sûreté des productions agroalimentaires de base de l'alimentation humaine et animale (céréales, légumes, fruits, légumes secs, fruits secs).

2.2. Stratégie d'intégration « alternative » ou de substitution

Dans le cas de l'interdiction des usages actuels du bromure de méthyle, des activités de désinsectisation qui dépendaient exclusivement de l'usage de ce gaz vont devoir trouver des traitements de substitution. Ainsi, la désinsectisation des usines des industries céréalières (moulins, semouleries, malteries, fabriques d'aliments des animaux, boulangeries, pâtisseries, confiseries, biscuiteries, etc.) pour faire le « vide sanitaire sans insecte » au moins une fois par an, peut être réalisée par traitement thermique (*overheating* ou *heat fumigation*).

La désinfection des sols est dans la même situation et peut se tourner vers la désinfection par injection de vapeur. Bien que ces traitements de substitution soient deux à trois fois plus onéreux que la fumigation au bromure de méthyle, ils com-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

mencent déjà à prendre une certaine importance compte tenu de la date d'interdiction totale de l'usage de ce fumigant au 1er janvier 2005 pour l'ensemble des pays développés (*cf.* chapitre 39).

Les traitements d'éradication de certains organismes de quarantaine qui étaient traditionnellement effectués par gazage sous vide partiel au bromure de méthyle doivent également trouver des procédés de substitution. Les chocs thermiques dans des bains de vapeur saturante ou par l'air chaud pulsé sont disponibles et peuvent être adaptés au cas par cas. Bien que l'irradiation puisse être un moyen de substitution à la fumigation de quarantaine, elle n'a pas eu le développement escompté, en particulier à cause du mauvais accueil des consommateurs envers les produits ayant subi une ionisation.

2.3. Stratégie d'association ou de complémentarité (entre procédés physiques et chimiques)

Dans bien des situations de conservation des produits sur le long terme (céréales ou fruits frais de longue garde), les différents lots de marchandises sont destinés à des acheteurs ayant des exigences différentes. Aucune méthode utilisée seule ne peut résoudre le dilemme du producteur confronté à ces exigences multiples sur un même produit ; il doit se tourner vers la planification de stratégies de conservation différenciées en fonction des exigences des différents clients. Ces stratégies intègrent en les associant en complémentarité tous les modes de traitement possibles (chimique, biologique, physique) selon un logigramme de décision (figure 2) adapté à la satisfaction des contraintes imposées par les cahiers des charges exigés par les acheteurs.

Des systèmes d'aide à la décision existent déjà pour minimiser les applications de produits phytosanitaires en vergers, par exemple ou pour créer des itinéraires techniques de production sans recours à la lutte chimique (Fleurat-Lessard, 2003).

L'exemple dans lequel la lutte physique tient une place prépondérante est celui de la protection antiparasitaire intégrée des stocks de grains. Les organismes stockeurs disposent de plusieurs cellules de stockage pour une même céréale ce qui leur permet (théoriquement) de séparer les différentes qualités requises par les utilisateurs du grain stocké. À partir d'un système d'aide à la décision, des itinéraires de protection antiparasitaires différents peuvent être appliqués à chaque cellule. Si les traitements chimiques sont admis, la protection pourra faire intervenir ce type de traitement. Dans le cas où le lot de grain doit être sans traitement après récolte (STAR), un itinéraire « STAR » sera composé à partir de traitements physiques, comme la ventilation de refroidissement ou la conservation sous gaz inerte. La fumigation avec la phosphine (PH_3), qui reste le seul gaz utilisable pour la désinsectisation des stocks de grain, peut également convenir dans ce cas d'exigence d'absence de résidus.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

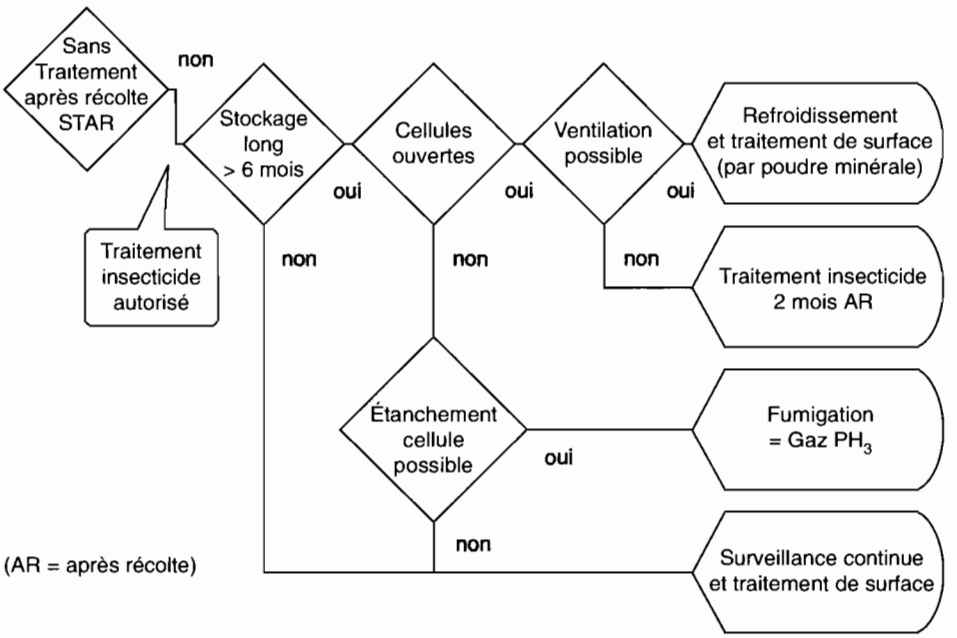


Figure 2 ■ Exemple de logigramme de décision permettant de définir une démarche intégrée de préservation des stocks de grain contre les insectes par combinaison des différentes méthodes de lutte préventive (d'après Fleurat-Lessard, 2003).

2.4. Stratégie d'appoint optionnelle pour satisfaire des exigences de qualité des produits traités ou de sûreté des aliments dérivés

Les produits de l'agriculture biologique, ceux destinés aux usines de transformation des produits diététiques ou d'alimentation infantile, les fruits et légumes produits en serre et sous abris (production horticole et florale) ne peuvent recevoir de traitements pesticides en cas d'attaque de ravageurs à des périodes proches de la récolte (cas des cultures protégées) ou dans le cas général (produits de l'agriculture biologique, fruits et légumes destinés aux très jeunes enfants) pour respecter les chartes de conditions de culture et de qualité afférentes à ces modèles de production sans résidus de pesticides de synthèse. Dans ces situations, la lutte physique préventive (traitement des sols à la vapeur ou par solarisation, destruction mécanique des insectes présents dans la culture, installation de barrières mécaniques, vide sanitaire réalisé par procédé thermique, etc.) devient un élément optionnel des stratégies de protection de la culture contre les attaques de ravageurs. Les bio-insecticides quand ils existent peuvent servir d'appoint aux méthodes physiques.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Conclusion et perspectives

La réussite de l'intégration de procédés physiques en protection intégrée des cultures et des denrées stockées contre les insectes dépend étroitement de la connaissance précise de l'écophysiologie des organismes-cibles sous l'effet de conditions physiques extrêmes (chocs thermiques, asphyxie, chocs mécaniques, irradiation). De plus, elle nécessite la connaissance approfondie des effets des stress physiques sur les performances des autres méthodes de lutte intégrée, ainsi que sur les aspects de complémentarité et/ou de compatibilité. Ces interactions sont abordées dans le chapitre 39.

Dans ce contexte des apports de la lutte physique à la lutte intégrée, il est important avant tout de garder une perspective objective concernant les limites de toute approche technologique, incluant la lutte physique. Ainsi, Fields et White (2002) ont démontré que dans les stocks de grain traités à des doses élevées de terre de diatomées (poudres inertes de silice) la sensibilité de trois espèces différentes de ravageurs des grains diminue d'un facteur deux à quatre selon les espèces, au bout de trois ans d'utilisation de ce procédé physique de protection. Il est donc prudent d'introduire progressivement les procédés physiques dans les stratégies de production intégrée en ne minimisant pas certains de leurs inconvénients majeurs : leur absence de persistance dans le temps, le coût des équipements nécessaires à leur mise en œuvre et le prix de revient de chaque intervention.

Seuls des projets mettant en complémentarité des résultats obtenus de la recherche fondamentale et de la recherche appliquée, pourront assurer la pérennité des méthodes de lutte physique en phytoprotection. Et dans ce domaine des complémentarités (synergies, antagonismes, exclusions, additions), la connaissance scientifique objective est actuellement insuffisante.

Références bibliographiques

Annis P.C. (1986). Towards rational controlled atmosphere dosage schedules: a review of current knowledge. *In* Donahaye E., Navarro S. *Proc. 4th Int. Working Conf. Stored Product Protection*, Tel-Aviv, Sept. 1986, ARO Bet Dagan (Israel), 128-148.

Bolnot F., Carlier V., Rozier J. (1984). L'irradiation des aliments (1re partie) – Les radiations ionisantes ; leurs effets sur les causes d'altération des aliments. *Revue Technique Vétérinaire de l'Alimentation*, mars 84, 23-37.

Buscarlet L.A. (1990). L'ionisation des fruits pour le traitement de quarantaine contre les insectes. Développement dans le monde et en France. *Ind Agric Alim*, octobre 1990, 5 p.

Calderon M., Barkai-Golan R. (1990). *Food preservation by modified atmospheres*. CRC Press, Boca Raton F.L.

Chauvin G., Vannier G. (1991). La résistance au froid et à la chaleur : deux données fondamentales dans le contrôle des insectes des produits entreposés. *In* Fleurat-Lessard F., Ducom P., *Proc. 5th Int Working Conf. on Stored Product Protection*, Bordeaux, 9-14 sept. 1990, publication des coordonnateurs, vol. II : 1157-1165.

Danks H.V. (1991). Winter habitats and ecological adaptations for winter survival. *In* Lee R.E., Denlinger D.L. *Insects at low temperature*. Chapman & Hall, New York, 231-259.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Denlinger D.L., Yocum G.D. (1998). Physiology of heat sensitivity. *In* Hallman G.J., Denlinger D.L. *Temperature sensitivity in insects and application in integrated pest management.* Westview Press, Boulder (Co), 7-57.

Fields P.G. (1992). The control of stored-product insects and mites with extreme temperatures. *J Stored Prod Res*, **28** : 89-118.

Fields P.G. (1993). Reduction of cold tolerance of stored-product insects by ice-nucleating-active bacteria. *Environ Entomol*, **22** : 470-476.

Fields P.G., White N.D.G. (2002). Alternatives to methyl bromide treatments for stored-product and quarantine insects. *Annu Rev Entomol* **47** : 331-359.

Fields P.G., Fleurat-Lessard F., Lavenseau L., Febvay G., Peypelut L., Bonnot G. (1998). The effect of cold acclimation and deacclimation on cold tolerance, trehalose and free amino acid levels in *Sitophilus granarius* and *Cryptolestes ferrugineus* (Coleoptera). *J Insect Physiol*, **44** : 955-965.

Fields P.G., Pouleur S., Richard C. (1995). The effect of high temperature storage on the capacity of an ice-nucleating-active bacterium and fungus to reduce insect cold tolerance. *Canad Entomol*, **127** : 33-40.

Fleurat-Lessard F. (1990). Effect of modified atmospheres on insects and mites infesting stored products. *In* Calderon M., Barkai-Golan R., *Food Preservation by Modified Atmospheres.* CRC Press, Boca Raton (Fl), 21-38.

Fleurat-Lessard F. (2003). Préservation de la qualité sanitaire des céréales I – Altérations possibles des grains durant leur conservation et principes de sécurité sanitaire. II – La protection antiparasitaire intégrée : nouveau concept d'une stratégie préventive d'assurance qualité des stocks. *Phytoma*, **563** : 22-30.

Fleurat-Lessard F., Le Torc'h J.-M. (1991). Influence de la teneur en oxygène sur la sensibilité de certains stades juvéniles de *Sitophilus oryzae* et *S. granarius* au dioxyde de carbone. *Entomol Exp Appl*, **58** : 37-47.

Fleurat-Lessard F., Lesbats M., Lavenseau L., Cangardel H., Moreau R., Lamy M., Anglade P. (1979). Effets biologiques des micro-ondes sur deux insectes : *Tenebrio molitor* L. (*Col. Tenebrionidae*) et *Pieris brassicae* L. (*Lep. Pieridae*). *Ann Zool Ecol Anim*, **11** : 457-478.

Friedlander A. (1983). Biochemical reflections on a non chemical control method. The effect of controlled atmosphere on the biochemical processes in stored product insects. *In Proc. 3rd Int. Working Conf. Stored Product Entomology*, Manhattan KS, Oct. 1983, KSU Publ., 471-480.

Hallman G.J., Denlinger D.L. (1998). *Temperature sensitivity in insects and application in integrated pest management.* Westview Press, Boulder (Co).

Hosler J.S., Burns J.E., Esch H.E. (2000). Flight muscle resting potential and species-specific differences in chill-coma. *J Insect Physiol*, **46** : 621-627.

Khelifi M., Laguë C., Lacasse B. (2000). Lutte pneumatique contre les insects en phytoprotection. *In* Vincent C., Panneton B., Fleurat-Lessard F., *La lutte physique en Phytoprotection.* INRA Éditions, Paris, 277-286.

Krebs R.A., Loeschcke V. (1994). Costs and benefits of activation of the heat-shock response in *Drosophila melanogaster*. *Functional Ecol*, **8** : 730-737.

Kroeker E.M., Walker V.K. (1991). Dsp28: a desiccation stress protein in *Tenebrio molitor* hemolymph. *Arch Insect Biochem Physiol*, **17** : 169-182.

Le Torc'h J.-M. (1983). Étude en laboratoire de la sensibilité à l'anhydride carbonique et à l'azote de plusieurs espèces des denrées stockées en vue d'une application à la désinsectisation des stocks. *Agronomie*, **3** : 399-406.

Le Torc'h J.-M., Fleurat-Lessard F. (1991). Étude des interactions d'adsorption-désorption entre le grain et les atmosphères enrichies en CO_2, destinées à la désinsectisation du riz paddy. *Agronomie*, **11** : 305-314.

Nelson S.O. (1996). Review and assessment of radio-frequency and microwave energy for stored-grain insect control. *Trans ASAE*, **39** : 1475-1484.

Misener G.C., Boiteau G. (1993). Holding capacity of the colorado potato beetle to potato leaves and plastic surfaces. *Can Agric Engineering*, **35** : 27-31.

Neven L.G., Duman J.G., Low M.G., Sehl L.C., Castellino F.J. (1989). Purification and characterization of an insect hemolymph lipoprotein ice nucleator: evidence for the importance of phos-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

phatidylinositol and apolipoprotein in the ice nucleator activity. *J Comparative Physiol*, **159** : 71-82.

Rauschenbach I.Y., Serova L.Y., Timochina I.S., Chentsova N.A., Schumnaja L.V. (1993). Analysis of differences in dopamine content between two lines of *Drosophila virilis* in response to heat stress. *J Insect Physiol*, **39** : 761-767.

Salin C., Vernon P., Vannier G. (1999). Effects of temperature and humidity on transpiration in adults of the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (*Col Tenebrionidae*). *J Insect Physiol*, **45** : 907-914.

Shejbal J. (1980). *Controlled atmosphere storage of grains*. Elsevier, Amsterdam, 608 p.

Shelton M.D., Walter V.R., Brandl D., Mendez V. (1996). The effects of refrigerated, controlled-atmosphere storage during marine shipment on insect mortality and cut flower vase life. *Hort Technology*, **6** : 247-250.

Sømme (1982). Supercooling and winter survival in terrestrial arthropods. *Comp Biochem Physiol*, **73A** : 519-543.

Vannier G. (1987). Mesure de la thermotorpeur chez les insectes. *Bull Soc Ecophysiol*, **12** : 165-186.

Vincent C., Panneton B., Fleurat-Lessard F. (2000). *La lutte physique en Phytoprotection*. INRA Éditions, Paris.

Wu D.W., Duman J.G. (1991). Activation of antifreeze proteins from the beetle *Dendroides canadensis*. *J Comp Physiol*, **B161** : 279-283.

Xu H., Robertson R.M. (1994). Effects of temperature on properties of flight neurons in locust. *J Comp Physiol*, **A175** : 193-202.

Yocum G.D., Denlinger D.L. (1994). Anoxia blocks thermotolerance and the induction of rapid cold hardening in the flesh fly, *Sarcophaga crassipalpis*. *Physiol Entomol*, **19** : 152-158.

Yocum G.D., Zdarek J., Joplin K.H., Lee R.E., Smith D.C., Manter K.D., Denlinger D.L. (1994). Alteration of the eclosion rhythm and eclosion behavior in the flesh fly, *Sarcophaga crassipalpis*, by low and high temperature stress. *J Insect Physiol*, **40** : 13-21.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

39

Méthodes physiques contre les ravageurs des cultures et des denrées stockées

Francis Fleurat-Lessard, Charles Vincent

Dans un passé récent, en matière de lutte physique contre les insectes, on s'est souvent davantage préoccupé d'exterminer les ravageurs de façon empirique plutôt que de chercher à comprendre et à maîtriser les facteurs de la tolérance des espèces cibles aux différents traitements. Chaque type de stress a des effets variables sur les espèces cibles à combattre dans les cultures ou les denrées stockées, et les interactions entre facteurs biotiques sont nombreuses. De plus, le contexte d'application des procédés physiques de lutte est spécifique de chaque association « insecte nuisible-plante » ou « ravageur-denrée », ce qui augmente la complexité de ces interactions. Toutefois, avec les ravageurs des denrées entreposées – qui se prêtent mieux aux applications de la lutte physique (milieu confiné, source d'énergie disponible sur place, chantier localisé) –, les différents facteurs de tolérance des insectes aux stress physiques ont été, dans la plupart des cas, étudiés simultanément à l'efficacité insecticide.

Les nombreux échecs d'association de procédés physiques aux stratégies de lutte intégrée peuvent être attribués en partie à la méconnaissance des limites physiologiques des insectes aux différents stress physiques (*cf.* chapitre 38). La connaissance précise de ces effets sur les deux éléments de l'association « plante-insecte » est apparue rapidement comme un préalable indispensable à l'introduction des méthodes physiques dans les stratégies de lutte intégrée. Ce chapitre est composé suivant la démarche « de la connaissance de l'effet à la pratique opérationnelle » : les principaux procédés physiques utilisables en protection des cultures et des denrées stockées contre les ravageurs sont regroupés par principe d'action sur l'insecte visé, en présentant les avantages et les inconvénients de chaque type. De nombreux exemples d'application mettant en œuvre des technologies récentes devraient permettre au lecteur de bien cerner le potentiel de ces méthodes et leur domaine

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

d'utilisation en association avec les techniques de la protection intégrée des cultures et des denrées stockées contre les insectes nuisibles.

1. *Principes, procédés et domaines d'application de la lutte physique contre les insectes*

1.1. Définition et principes de la lutte contre les ravageurs par des méthodes physiques

En théorie, les programmes de lutte intégrée reposent sur une combinaison optimale de méthodes de lutte dont les effets sont maxima contre les organismes visés et minima envers les organismes non visés. L'une ou l'autre de ces méthodes n'est mise en œuvre que lorsque les populations d'insectes excèdent un seuil de dommage dont le niveau dépend du contexte agronomique et économique en cause. La lutte physique s'inscrit dans ce cadre, et comprend un ensemble de méthodes qui visent à modifier l'environnement physique du ravageur de sorte que les dommages qui sont causés par celui-ci sont maintenus en deçà des seuils économiques (Panneton *et al.*, 2000a ; Vincent *et al.*, 2003). Dans certains cas, l'intervention primaire a une action létale directe, comme dans le cas où des insectes sont tués sur le coup par des chocs mécaniques. Dans d'autres situations, ce sont les effets ou les conséquences du stress induit par la méthode physique qui apportent l'effet recherché.

Les méthodes de lutte physique peuvent être réparties en trois groupes :

– les méthodes actives dont le niveau d'efficacité est proportionnel à l'intensité de l'énergie mise en œuvre et à la durée de l'application : les chocs thermiques (chaleur, froid), les radiations électromagnétiques (micro-ondes, radiofréquences, infrarouge, ionisation), les chocs mécaniques et la lutte pneumatique (soufflage/aspiration) ;

– les méthodes passives qui ne requièrent pas d'énergie supplémentaire pour avoir les effets escomptés : barrières physiques, tranchées à revêtement lisses et remplies d'eau ;

– les autres méthodes : submersion, huiles et savons (tableau 1).

Bien que la lutte physique puisse être largement utilisée en pré-récolte, ses plus grands succès sont dans le domaine de la protection des stocks de denrées agro-alimentaires. En effet, les contraintes relatives aux résidus de pesticides sont extrêmement sévères au stade de la post-récolte et le champ d'application de la lutte chimique y est toujours plus restreint. Aujourd'hui, le respect des critères de qualité sanitaire et hygiénique des productions végétales alimentaires, souhaités par les industries de transformation et le consommateur, pousse à une utilisation plus large des procédés physiques de protection antiparasitaire en post-récolte.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau 1 ■ Classification et exemples de méthodes de lutte physique (d'après Vincent *et al.*, 2003).

Méthodes	Insectes	Stades visés	Auteurs[a]
Chocs mécaniques			
Impacts mécaniques	Insectes des denrées stockées	O, L, N, A	Fields, 2000 Watters, 1972
Lutte pneumatique	Doryphore de la pomme de terre	L, A	Khelifi *et al.*, 2000
	Punaise terne sur fraisier	N, A	Vincent et Boiteau, 2000 Weintraub *et al.*, 2000
Délogement	Charançon de la prune	A	Chapman, 1938
Dérangement	Insectes des denrées stockées	O, L, N, A	Banks, 1976 Fields, 2000
Air forcé	Insectes des denrées stockées	L, A	Storey, 1972
Tamisage	Insectes des arachides	A	Payne *et al.*, 1970
Emballage sous vide	Diverses espèces de charançons		Highland, 1988
Usinage des grains de riz	*Sitophilus oryzae*	L	Lucas et Riudavets, 2000
Déchiquetage des feuilles (pommiers)	Mineuse marbrée des pommiers	N	Vincent *et al.*, 2004
Ultrasons	Plusieurs espèces d'insectes	A	Frings et Frings, 1963 Watters, 1972
Ultrasons pulsés	Plusieurs espèces d'insectes	A	Shorey *et al.*, 1972
Infrasons	Plusieurs espèces d'insectes	A	Mullen, 1973
Taille et éclaicissage (pommiers)	Tordeuse à bandes obliques	L	Lawson *et al.*, 1998
Sanitation: enlèvement de plantes hôtes	Mouche de la pomme	A	Prokopy, 1975
Sanitation: enlèvement de résidus de plantes	Foreur du millet *Cogniesta ignefusalis*	L,N	Nwanze, 1991
Films de particules (kaolin)	Carpocapse de la pomme	L	Glenn *et al.*, 1999
	Tordeuses des pommiers	L	Puterka *et al.*, 2000
Poudres inertes (terre diatomée, poudre de silice)	Insectes des denrées stockées	L, A	Fields *et al.*, 2000 Korunic, 1998
Irrigation par aspersion	Plutelle du chou	L	Tabashnik et Mau, 1986

Légende : O : œufs ; L : larves ; N : nymphes ; A : adultes.

Tableau 1 (suite) ■ Classification et exemples de méthodes de lutte physique (d'après Vincent *et al.*, 2003).

Méthodes	Insectes	Stades visés	Auteurs[a]
Stress Thermique			
Brûlage à la flamme nue	Doryphore de la pomme de terre	L, A	Duchesne *et al.*, 2000
Vapeur	Doryphore de la pomme de terre	A	Pelletier *et al.*, 1998
Bain de vapeur saturée en eau	Mouches des fruits	O, L	Corcoran *et al.*, 1993
Basses températures	Insectes des denrées stockées	O, L, N, A	Fields *et al.*, 2000
Hautes températures	Insectes des denrées stockées	O, L, N, A	Fleurat-Lessard et Le Torch, 2000 Lurie, 1998
Congélation rapide	Insectes des denrées stockées	O, L, N, A	Watters, 1972
Refroidissement en post-récolte	Insectes des denrées stockées	O, L, N, A	Watters, 1972
Rayonnement infrarouge	Insectes des denrées stockées	O, L, N, A	Kirkpatrick, 1975
Solarisation	Bruches du niébé	L, N	Murdock et Shade, 1991
Brûlage partiel des tiges	Foreur des tiges des graminées *Busseola fusca*	O, L, N, A	Adesiyun et Ajayi, 1980
Ondes électromagnétiques			
Micro-ondes	Insectes des denrées stockées	O, L, N, A	Fleurat-Lessard et Le Torch, 2000
Radiofréquences	Insectes des denrées stockées	O, L, N, A	Fleurat-Lessard, 2000
Radiations ionisantes	Insectes des denrées stockées	O, L, N, A	Lewandowski, 2000
Rayonnement ultraviolet et lumière visible	Insectes des denrées stockées	O, L, N, A	Lewandowski, 2000
Atmosphères modifiées			
Atmosphères inertes	Insectes des denrées stockées	O, L, N, A	Fleurat-Lessard et Le Torch, 2000
Bâches plastiques	Insectes des denrées stockées	O, L, N, A	Watters, 1972
CO_2	Insectes des denrées stockées	O, L, N, A	Fleurat-Lessard et Le Torch, 2000
N_2	Insectes des denrées stockées	O, L, N, A	Fleurat-Lessard et Le Torch, 2000

Légende : O : œufs ; L : larves ; N : nymphes ; A : adultes.

Systèmes passifs			
Tranchées	Doryphore de la pomme de terre	A	Boiteau et Vernon, 2000
Filets	Plusieurs espèces d'insectes	A	Van Steekenlenberg, 1992
Barrières	Mouches anthomyiides	A	Boiteau et Vernon, 2000
	Mouche de la carotte	A	Päts et Vernon, 1999
Brises-vent	Pucerons	A	Boiteau et Vernon 2000
Surfaces glissantes	Doryphore de la pomme de terre	A	Boiteau et Vernon 2000
	Fourmis	A	
	Blattes	L, A	
Emballage	Insectes des produits transformés	O, L, N, A	Banks, 1976 Newton, 1988
Emballage multiple	Insectes du niébé en post récolte	O, L, N, A	Kitch et Ntoukam, 1991
Stockage hermétique	Insectes du niébé en post récolte	O, L, N, A	de Lima, 1990 Watters, 1972
Paillis organiques	Doryphore de la pomme de terre (interactions positives avec *Bt* et ennemis naturels)	A	Brust, 1994 Brust, 1996
Paillis de plastique	Pucerons, Punaise terne	N, A	Bégin *et al.*, 2000 Rhainds *et al.*, 2001
Paillis d'aluminium	Pucerons	A	Banks, 1976 Bégin *et al.*, 2000
Fossés remplis d'eau	Doryphore de la pomme de terre	A	Boiteau et Vernon, 2000
Piégeage	Plusieurs espèces de Diptères		Bostanian *et al.*, 1998 Cohen et Yuval, 2000 Prokopy, 1975
Surfaces engluées	Carpocapse de la pomme	A	Collman et Antonelli, 1994
	Chenilles à tente	L	Raupp *et al.*, 1992
	Charançons *Lepesoma lecontei*	A	Sexton et Schowalter, 1991

Légende : O : œufs ; L : larves ; N : nymphes ; A : adultes.

Tableau 1 (suite) ■ Classification et exemples de méthodes de lutte physique (d'après Vincent *et al.*, 2003).

Méthodes	Insectes	Stades visés	Auteurs[a]
Autres méthodes			
Submersion	Insectes des canneberges, insectes des légumes	L, N, A	Averill *et al.*, 1997 Cockfield et Mahr, 1992 Talekar, 1987
Huiles végétales et minérales	Insectes à corps mous Acariens phytophages	L, N, A	Agnello, 2002 Davidson *et al.*, 1991 Gauvrit et Cabanne, 2002
Agents surfactants	Acariens phytophages	N, A	Cowles *et al.*, 2000 Osborne, 1984

Légende : O : œufs ; L : larves ; N : nymphes ; A : adultes.
[a] : Toutes les références citées dans ce tableau peuvent être obtenues auprès des auteurs (Fleurat-Lessard et Vincent).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1.2. Principaux procédés et outils de la lutte physique

Les méthodes actives utilisent de l'énergie au moment de l'application pour détruire, blesser ou stresser les ravageurs des cultures, ou pour les éliminer du milieu (les déloger de leur plante-hôte). Ces méthodes n'agissent qu'au moment de l'application et ne présentent pratiquement pas de rémanence. Les méthodes passives procèdent par une modification du milieu et ont un caractère plus durable (Panneton *et al.*, 2000b).

1.2.1. Méthodes actives

1.2.1.1. Lutte mécanique

En ce qui concerne les méthodes actives, les chocs mécaniques violents (par exemple, contre une paroi en métal dur), sont utilisés dans de nombreux matériels adaptés à des conditions particulières de désinsectisation. En usine de transformation des céréales (meunerie, semoulerie, usine de fabrication d'aliments pour animaux), des machines à impact servent à éliminer les grains parasités ou à détruire les œufs d'insectes dans la farine qui vient d'être fabriquée (Fields *et al.*, 2000). Les formes cachées de ravageurs primaires des grains peuvent aussi être détruites en grande partie par l'action de ces « machines à impacts » (Fields *et al.*, 2000). Des opérations de transformation comme l'usinage du riz décortiqué ou le transport pneumatique à grande vitesse dans des canalisations métalliques ont également un effet létal important sur les insectes présents dans les grains.

En culture, les aspirateurs à gros débit permettent de déloger certains insectes phytophages de la plante-hôte et de les collecter avant de les éliminer (Vincent et Boiteau, 2000). L'objectif consiste à déloger les insectes ravageurs des plantes, soit en les soufflant, soit en les aspirant, soit les deux simultanément. Les insectes aspirés dans les conduits de l'appareil, et lors du passage à travers le ventilateur, subissent des chocs mécaniques violents qui les tuent ou les handicapent sévèrement, ce qui les empêche de regagner leur plante-hôte. D'autres machines recueillent les insectes délogés à l'aide d'un système de captage pour les éliminer dans un deuxième temps. Dans l'habitat domestique, certains arthropodes indésirables du logis, peuvent être éliminés par des aspirations puissantes et suffisantes pour les chasser de leurs refuges (acariens domestiques, blattes et autres espèces accidentelles rentrées dans les habitations aux premiers froids en automne) (Oseto, 2000). Cette méthode, qui consiste à enlever les insectes de leur milieu-hôte (la plante-hôte, la denrée ou le refuge) pour prévenir ou limiter les réinfestations, est qualifiée d'« assainissement de prévention » par réduction des foyers de multiplication (en anglais *sanitation*) (Bell, 1996).

La destruction mécanique des résidus de récolte susceptibles d'héberger des formes hivernantes de ravageurs de la plante cultivée est régulièrement pratiquée en culture de maïs pour lutter contre certains ravageurs hibernant dans les restes de récolte comme la pyrale *Ostrinia nubilalis*. Lorsque cette destruction est complétée par un enfouissement par labour profond, ces résidus ne présentent plus le risque

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

d'héberger des foyers de contamination pour la culture à venir. En vergers de pommiers, le déchiquetage de feuilles tombées à l'automne diminue de façon appréciable le nombre d'ascospores de la tavelure (*Venturia inaequalis*) et détruit les formes hivernantes de la mineuse marbrée (*Phyllonorycter blancardella*) (Vincent *et al.*, 2004).

1.2.1.2. Lutte thermique

Parmi les méthodes actives, le choc thermique à basse ou haute température a donné lieu à de nombreuses applications pratiques, dans des situations de culture disqualifiant la lutte chimique (l'agriculture biologique par exemple) (Fields, 2000 ; Fleurat-Lessard et Le Torc'h, 2000). L'utilisation de chocs thermiques suppose que la denrée ou la culture à protéger est moins sensible que la cible à une variation brutale et de grande amplitude de la température.

Au champ, la lutte thermique est praticable par des techniques variées qui sont plus ou moins spécifiques du comportement et de la biologie des espèces cibles nuisibles. La lutte par brûlage à la flamme nue peut être pratiquée pour lutter contre de nombreux ravageurs qui trouvent refuge au niveau des restes des récoltes.

L'échaudage par un jet de vapeur a été pratiqué avec succès vers la fin du XIX^{e} siècle pour la lutte contre les cochenilles, dans une bâche recouvrant la totalité d'un arbre (Marlatt, 1897, cité par Oseto, 2000). Les traitements par jets de vapeur ont également été évalués pour la lutte contre le doryphore de la pomme de terre (Pelletier *et al.*, 1998). Au cours des deux dernières décennies, les traitements à la vapeur sont devenus le principal outil de la lutte contre les insectes de quarantaine des fruits. Ainsi, de nombreuses espèces de mouches des fruits devant faire l'objet de traitement d'éradication avant leur commercialisation sur le marché international sont éliminées par des traitements à la vapeur saturante ou à l'air chaud sec pulsé (Hallman et Sharp, 1990 ; Hallman et Denlinger, 1998). Les traitements des fruits à la vapeur ont progressivement remplacé le trempage dans un bain d'eau chaude qui a été pendant longtemps le seul moyen d'empêcher la dissémination de ravageurs de quarantaine comme les mouches des fruits (*Ceratitis capitata*, *Bactrocera spp.*, *Anastrepha spp.*, etc.) (Sharp et Picho-Martinez, 1990 ; Bollen et De la Rue, 1999 ; Hallman, 2000).

En serre, la désinfection des sols de culture à la vapeur devrait remplacer le traitement au bromure de méthyle qui est le principal gaz utilisé actuellement pour cet usage, mais dont la fabrication et l'utilisation doivent être arrêtées dès 2005 dans tous les pays développés, conformément aux directives du protocole de Montréal de l'UNEP (l'Agence de protection de l'environnement des Nations unies). Cette décision est motivée par l'arrêt de l'usage des gaz, dont le bromure de méthyle (*cf.* 2.4.), susceptibles de dégrader la couche d'ozone. En serre, le vide sanitaire entre les périodes de production est facilement réalisé en élevant la température le temps nécessaire à la destruction des insectes rampants ou volants, ainsi que ceux présents dans les substrats et supports de culture qui restent en place. Cette technique est considérée à juste titre comme un élément essentiel des stratégies de protection intégrée (Shipp *et al.*, 1991).

© Lavoisier - La photocopie non autorisée est un délit

Mais, le domaine principal d'utilisation de la lutte thermique est celui de la désinsectisation des denrées alimentaires en post-récolte. Les grains peuvent être rapidement désinsectisés dans des lits fluidisés à l'air chaud (90 à 180 °C), ou au cours d'un transport pneumatique dans l'air à haute température (120 à 240 °C) (Fleurat-Lessard et Le Torc'h, 2000).

Le problème du vide sanitaire se pose aussi dans les élevages hors-sol de volailles de chair. Les invasions et pullulations du ténébrion des poulaillers, *Alphitobius diaperinus*, et d'acariens parasites, *Dermanyssus gallinae*, sont difficiles à maîtriser par les moyens chimiques en présence des animaux, et l'interdiction des usages du bromure de méthyle pour l'éradication des insectes au moment du vide sanitaire dans les locaux vides impose le recours à la lutte thermique. La situation est comparable dans toutes les usines de transformation des céréales ou les fabriques d'aliments à base de céréales pour l'homme ou les animaux (moulins, malteries, semouleries, biscuiteries et pâtisseries industrielles, confiseries, rizeries, etc.), où le gazage au bromure de méthyle est la seule technique qui donne satisfaction aujourd'hui. Dans ces usines, il est impératif d'éradiquer les insectes, inaccessibles aux autres formes de lutte (chimique ou biologique), au moins une fois par an, et on a de plus en plus recours à la lutte thermique dans les pays les plus conscients de ce problème (États-Unis, Canada, Royaume-Uni, Allemagne, Suède). Le chauffage prolongé des structures et bâtiments par la chaleur sèche (température de 50 °C, maintenue pendant 48 h) donne des résultats très comparables à ceux de la fumigation au bromure de méthyle. Dans le même secteur des industries des céréales, l'étuvage à la chaleur des farines ou des semoules post-fabrication, au cours d'un transport en convoyeur pneumatique alimenté à l'air chaud, par exemple, provoque la destruction des œufs d'insectes qui pourraient y avoir été incorporés au cours de la fabrication (Fleurat-Lessard et Le Torc'h, 2000).

La destruction des insectes du sol peut également être obtenue au moyen de bâches plastiques de couleur sombre concentrant l'énergie solaire au niveau de la surface du sol. Cette technique appelée « solarisation » est recommandée pour les fermes pratiquant l'agriculture biologique (Stapleton et De Vay, 1995) ou pour assainir le sol des jardins avant les semis de printemps. En serre, les thrips qui subsistent entre deux cultures de concombre ou de poivrons peuvent être éliminés par une solarisation du sol maintenue pendant sept jours (Horiuchi, 1991). Dans un domaine voisin, la thermothérapie des bulbes et rhizomes par trempage dans des bains d'eau chaude est une technique qui connaît un net regain d'intérêt en culture florale (narcisse, glaïeul, tulipe, lis, iris, crocus, muguet, etc.). Bien que cette pratique soit destinée principalement à la destruction des nématodes et de l'inoculum de certaines maladies cryptogamiques transmises par les semences, la destruction des insectes et des acariens est également recherchée (Mevel, 1996). Les insectes et les acariens des bulbes, par exemple, ne résistent pas à un traitement de 2 h à 43,5 °C, y compris les insectes installés profondément comme la mouche des narcisses ou des amaryllis, *Lampetia equestris*.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1.2.1.3. Rayonnements électromagnétiques

Les applications des radiations électromagnétiques ont également été explorées en tant qu'outil de lutte contre les insectes. La gamme des fréquences utilisables est très large, mais seules certaines fréquences sont utilisables dans le domaine civil. On distingue deux groupes de radiations électro-magnétiques utilisables dans la lutte contre les insectes nuisibles :

– les radiations non-ionisantes comme les radiofréquences, les micro-ondes ou le rayonnement infra-rouge, dont l'énergie transportée par l'onde électromagnétique est trop faible pour provoquer l'ionisation ;

– les radiations ionisantes comme les rayons X, les électrons accélérés ou les rayonnements *gamma* des accélérateurs de particules ou des éléments radioactifs, à forte énergie, capables de provoquer l'ionisation de la matière vivante.

Les radiations non-ionisantes tuent les insectes par transfert d'énergie thermique causant l'échauffement interne des individus. L'utilisation énergétique des radiofréquences, des micro-ondes ou du rayonnement infrarouge s'apparente donc aux méthodes par choc thermique, à une différence près, c'est qu'avec les radiations électromagnétiques, le transfert d'énergie s'effectue sans l'intermédiaire d'un fluide caloporteur : le champ électromagnétique est converti en chaleur directement au cœur du matériau (diélectrique) exposé (Thuéry, 1992). Seules, certaines fréquences ont des effets « spécifiques » sur les organismes de la taille d'un insecte. Mais, les règlements sur l'utilisation des fréquences de télécommunication viennent limiter les bandes de fréquence disponibles et autorisées en industrie, science et médecine, soit pour des raisons de sécurité pour les utilisateurs et l'environnement, soit pour réserver des plages de fréquence à des applications spécifiques ne tolérant pas d'interférences (systèmes d'aide à l'atterrissage d'avions par micro-ondes). Dans le domaine de la désinsectisation des denrées, seules les denrées dont la qualité n'est pas dégradée par le choc thermique passager provoqué par l'exposition aux radiofréquences ou aux micro-ondes peuvent être désinsectisées par ce procédé (Watters 1962 ; Anglade *et al.*, 1979 ; Nelson, 1996 ; Fleurat-Lessard, 2000).

Deux voies d'utilisation des radiations ionisantes ont été explorées pour la destruction de ravageurs d'importance phytosanitaire :

– la lutte directe par irradiation des produits alimentaires infestés (épices, céréales, légumes secs, végétaux déshydratés) par des rayons gamma, des électrons accélérés ou des rayons X. Ainsi, l'irradiation des fruits à des doses de 300 Gy est recommandée pour la désinsectisation vis-à-vis d'espèces de quarantaine comme les mouches de la famille des *Tephritidae* (Burditt, 1990). Pour la désinsectisation des épices et condiments, des légumes secs ou des fruits tropicaux, des doses maximales de 1 kGy sont recommandées (FAO/IAEA/WHO Expert Committee, 1982 ; Buscarlet, 1990). Pour la désinsectisation des épices ou de denrées peu hydratées (grains, farines, etc.), les doses autorisées sont de 10 kGy maximum, pour limiter l'évolution des propriétés organoleptiques ou l'apparition de substances indésirables dans les produits irradiés. Les installations polyvalentes d'ionisation industrielle des den-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

rées peuvent atteindre des coûts de l'ordre de 8 millions d'euros (Buscarlet, 1991). Le coût d'un traitement d'irradiation contre les insectes de quarantaine (par exemple, la mouche des fruits) est variable selon le type d'installation, le type de produit à traiter et l'objectif du traitement (quarantaine ou désinsectisation traditionnelle). Il peut varier à la tonne traitée de quelques centimes d'euro à plusieurs euros ;

– la lutte indirecte par lâcher inondatif d'insectes stérilisés par irradiation à des doses faibles (*cf.* encadré « Un outil de la lutte physique pour la lutte biologique »). La stratégie de lutte par la technique des insectes stérilisés est un concept particulier dont la mise en œuvre à grande échelle conduit à l'éradication de ravageurs de quarantaine ou de vecteurs de maladies concernant de vastes zones géographiques (malaria, trypanosomiases, etc.). Ce n'est pas véritablement une méthode exclusive de la lutte physique et elle sera abordée ailleurs (*cf.* chapitre 22).

1.2.1.4. Asphyxie, anoxie et atmosphères modifiées

Les insectes des grains et des denrées en enceinte étanche ou à l'intérieur d'un emballage hermétique ne peuvent survivre très longtemps dans une atmosphère où l'oxygène est raréfié. La manipulation des concentrations en oxygène dans le milieu de vie des insectes n'est envisageable que dans les enceintes hermétiques, comme on en utilise parfois pour la conservation des denrées alimentaires. Les atmosphères contrôlées, modifiées ou inertes (anoxiques) constituent une alternative à l'usage des pesticides. Elles ont fait l'objet de très nombreuses études dans le monde, présentées régulièrement dans des conférences internationales spécifiques (Shejbal, 1980 ; Navarro et Donahaye, 1993 ; Donahaye *et al.*, 2000). Cette technique des atmosphères modifiées a été développée en Australie pour la conservation des grains en évitant le recours à tout autre traitement (Bailey et Banks, 1980 ; Annis, 1986). Les applications dans les autres pays exportateurs de céréales sont restées marginales pour des raisons de coût du maintien des gaz inertes pendant les durées suffisantes pour la destruction de tous les stades d'insectes. La privation d'oxygène par une atmosphère inerte à base d'azote (comme celle produite par les brûleurs à gaz) est létale seulement au terme de plusieurs semaines d'exposition à température fraîche (15-18 °C) (Le Torc'h, 1983 ; Fleurat-Lessard 1990 ; Fleurat-Lessard et Le Torc'h 1991 ; Adler, 1994). Le dioxyde de carbone a un effet létal plus rapide que l'anoxie sur les insectes des denrées stockées (Fleurat-Lessard, 1990). Toutefois, les phénomènes d'adsorption/désorption du dioxyde de carbone sur la matière sèche du grain, fluctuant avec l'alternance des températures dans une journée, posent des problèmes de mise en œuvre qui s'additionnent au coût du gaz dont la consommation est importante (2 kg par tonne de grain). Ces questions de coût sont en partie à l'origine du faible développement de cette technique pour la protection des grains stockés.

D'autres domaines d'utilisation sont plus prometteurs. Ainsi, la protection préventive d'aliments conditionnés en emballage étanche par conditionnement hermétique sous atmosphère modifiée est devenue une technique courante pour certaines denrées pour lesquelles la qualité organoleptique et gustative est primordiale (fruits

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Un outil de la lutte physique pour la lutte biologique : irradiation des insectes pour la lutte autocide

La lutte autocide consiste à lâcher des insectes stérilisés par irradiation au milieu d'une population naturelle d'insectes nuisibles de la même espèce dans le but de faire progressivement chuter la fécondité et le taux de multiplication de la population « sauvage » du ravageur, jusqu'à son éradication complète.

Les insectes sont produits dans des unités d'élevage de masse avant d'être stérilisés par divers moyens d'irradiation : (a) rayonnements gamma (isotopes radioactifs ^{60}Co ou ^{137}Cs (à niveau d'énergie inférieur à 1,33 MeV) ; (b) faisceaux d'électrons générés par des accélérateurs de particules (à niveau d'énergie de moins de 10 MeV) ; ou (c) rayons X (à niveau d'énergie de moins de 5 MeV). Des faibles doses de rayonnement sont utilisées pour ne pas modifier significativement le comportement sexuel des mâles (doses de l'ordre de 50 Gy). Une fois stérilisés et conditionnés dans des sacs spéciaux d'où ils pourront s'échapper, les insectes stériles sont largués en grand nombre par avion au moment propice, pour concurrencer la « population sauvage » dans les zones à traiter.

Le coût de ces campagnes de lutte est très élevé et cette méthode est réservée à la lutte contre de grand fléaux d'importance mondiale, de nature phytosanitaire (par exemple les infestations par des ravageurs de quarantaine comme les mouches des fruits), ou concernant la santé humaine et animale, comme les vecteurs de maladies graves (moustiques vecteurs de malaria ou mouche tsé-tsé). Cette technique ne peut s'appliquer que sous certaines conditions :

- l'espèce cible a un seul accouplement déclenchant la ponte ;
- les mâles stériles restent compétitifs avec les mâles « sauvages » ;
- la stérilité est obtenue par mutation létale dominante ;
- les populations du ravageur sont faibles et de densité connue ;
- l'élevage de masse du ravageur est facile ;
- il existe une méthode de stérilisation efficace des insectes d'élevage, et des unités d'irradiation permettent la mise en œuvre à grande échelle de cette stérilisation.

secs, plantes aromatiques, épices, mélanges de fruits déshydratés, etc.). Cette technique de conditionnement sous atmosphère contrôlée peut également être associée à un autre stress physique comme les hautes températures ou les fortes pressions. Le traitement au dioxyde de carbone sous forte pression (2 à 5 MPa) provoque la mortalité des insectes en quelques heures (Le Torc'h et Fleurat-Lessard, 1991 ; Reichmuth et Wohlgemuth, 1994). Des installations de traitement combiné CO_2/forte pression sont utilisées en Europe pour la désinsectisation préventive « d'assurance » sur des produits à forte valeur ajoutée comme les aliments secs pour les animaux de compagnie, les épices ou les fruits secs.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1.2.1.5. Énergie acoustique

Les ultrasons (fréquences supérieures à 16 kHz) peuvent perturber le comportement de ponte de certains insectes, la noctuelle du chou *Trichoplusia ni* (Payne et Shorey, 1968), ou la ponte elle-même, la pyrale du maïs, *Ostrinia nubilalis* (Belton 1962). Depuis ces études, de nombreux systèmes à ultrasons ont été conçus pour repousser les insectes. Mais les résultats pratiques sont souvent très éloignés des efficacités revendiquées par ce type d'appareil (type « effaroucheur » à moustiques à ultrasons). En réalité, le manque de données objectives sur la variabilité des réactions des nombreuses espèces différentes d'insectes visés, ainsi que sur le mode d'action des ultrasons et la réponse comportementale induite, ne permet de dégager ni loi de portée générale sur leurs effets réels, ni méthode d'application efficace de ces procédés.

1.2.2. Méthodes passives

1.2.2.1. Matériaux et éléments barrières

Parmi les méthodes passives, les barrières physiques constituent une famille étendue de techniques de lutte physique intervenant sur le comportement des insectes en créant des obstacles à la reproduction ou à l'atteinte de la plante-hôte. Les technologies de barrières physiques sont applicables en champ et, souvent plus facilement, en cultures abritées. Au champ, les barrières peuvent prendre plusieurs formes (tranchées, filets verticaux, films plastiques « étanches » aux insectes ou fossés à revêtement glissant, avec ou sans eau). Elles sont déployées à différentes échelles pour protéger soit un champ complet, soit un rang de culture ou des plants (avec des bandes-refuges adhésives autour d'un tronc d'arbre fruitier par exemple) (Boiteau et Vernon, 2000). En serre, ces barrières peuvent prendre la forme de filets « étanches aux insectes » ou, plus simplement, d'un compartimentage avec des liaisons et accès par des sas.

Les systèmes de capture de masse par pièges colorés (pucerons, mouches des fruits, thrips), ou par pièges alimentaires (ravageurs des cultures, des arbres fruitiers, ou forestiers, Coléoptères xylophages) peuvent être assimilés à une lutte mécanique. Les bandes-pièges dont la fonction est d'intercepter les stades en cours de migration de la plante vers le sol constituent une forme de lutte mécanique, les insectes hivernants dans ces pièges étant détruits après le contrôle visuel d'évaluation des populations hivernantes des ravageurs (chenilles phytophages des arbres fruitiers, *Cydia pomonella*, par exemple). Les films d'emballage des denrées alimentaires font également partie intégrante des barrières physiques de protection de ces produits contre les infestations post-conditionnement des produits alimentaires. Les sacs étanches aux insectes sont utilisés parfois comme méthode de protection des fruits ou des fleurs en formation contre les dégâts dus aux ravageurs ou à l'arrivée des fourmis et des colonies de pucerons associées.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1.2.2.2. Poudres inertes

La lutte mécanique intègre également l'usage des poudres inertes comme la terre de diatomées ou le gel de silice. Ces poudres sont constituées de très fines particules de silice à propriétés abrasives et desséchantes (Fields *et al.*, 2000). Elles sont utilisées le plus souvent en traitement des parois des cellules de stockage de grain avant leur remplissage et en traitement de couverture des tas de grain pour éviter les ré-infestations.

1.2.2.3. Fossés à revêtement dérapant

Un exemple récent de recherche relatif à cette méthode concerne le doryphore de la pomme de terre, *Leptinotarsa decemlineata*. Afin de prévenir les dommages de ce ravageur, d'importantes quantités d'insecticides sont pulvérisées chaque année sur la culture. Comme les adultes envahissent les champs de pommes de terre nouvellement plantés surtout en marchant, il est possible de les intercepter en déployant, sur le pourtour des champs, des tranchées à parois abruptes creusées à même le sol (Boiteau et Vernon, 2000). Afin d'empêcher la sortie des adultes, on recouvre ces tranchées d'un film de plastique sur lequel de fines particules de poussière se déposent naturellement (Boiteau *et al.*, 1994). La morphologie des tarses des doryphores adultes ne leur permet pas de grimper sur une telle surface, alors que d'autres insectes, notamment les insectes utiles, peuvent s'échapper de la tranchée.

1.2.3. Autres méthodes

En Amérique du Nord, la submersion hivernale est une pratique courante pour la protection de la canneberge (*Ericacae*) contre les rigueurs de l'hiver. La submersion printanière, effectuée au Massachusetts de la mi-avril à la mi-mai, a pour but le contrôle du ver de la canneberge, *Acrobasis vaccinii*, et de l'acarien phytophage *Oligonychus ilicis* (Averill *et al.*, 1997). Les insectes meurent par asphyxie. La pratique de cette méthode est vieille de plus de 70 ans.

À l'énoncé de cet ensemble d'outils et de procédés de lutte physique déjà entrés dans la pratique, il paraît évident que le potentiel de la lutte physique est largement sous-utilisé en protection des cultures et des denrées contre les insectes nuisibles. Leur introduction dans les stratégies de protection intégrée était difficile en l'absence de données sur les interférences (complémentarité ou exclusion) avec les autres méthodes de lutte. La connaissance des bases physiologiques des effets des stress physiques a beaucoup progressé au cours des quinze dernières années . Elle est pour une grande part à l'origine de l'extension actuelle du domaine d'application de cette forme de lutte (*cf.* chapitre 38).

© Lavoisier – La photocopie non autorisee est un délit

2. *Domaines principaux d'application de la lutte physique*

À l'exception des traitements par choc thermique ou mécanique, la lutte physique en post-récolte fait une large place aux méthodes passives comme le refroidissement accéléré des grains, le maintien à basse température ou sous atmosphère de gaz neutre (Fleurat-Lessard, 2000).

2.1. Protection des denrées en post-récolte

En post-récolte, la plupart des méthodes physiques actives sont utilisables seulement à titre préventif et ne sont pas, de ce point de vue, comparables à la lutte chimique traditionnelle. Leur mise en application pratique nécessite souvent des équipements spécifiques et de multiples vérifications et données annexes, notamment leurs effets secondaires sur la qualité des produits traités, comme le pouvoir germinatif de l'orge de brasserie ou la valeur boulangère d'un blé panifiable. Néanmoins, la révision de l'homologation, dans l'Union européenne (UE), de plusieurs insecticides utilisés actuellement dans la protection des denrées alimentaires brutes en post-récolte, ou dans des locaux de transformation ou de stockage des produits intermédiaires ou finis (dichlorvos, chlorpyriphos-méthyl), ou dans les traitements d'éradication (bromure de méthyle), relance aujourd'hui l'intérêt de la lutte physique en post-récolte. De plus, l'interdiction formelle d'utiliser des pesticides rémanents sur les produits transformés (farine, semoule, fruits secs), oblige à avoir recours exclusivement aux gaz ou aux procédés physiques pour y combattre les infestations. Les gaz sont d'utilisation marginale dans beaucoup de pays développés dont la France, le Royaume-Uni et le Canada (excepté pour les besoins très spécifiques de quarantaine). L'homologation de nouveaux gaz insecticides est un processus long, coûteux et dont le succès n'est pas garanti. En conséquence, seule la lutte physique est susceptible de faire évoluer favorablement le contexte très particulier de la protection des denrées en post-récolte contre l'infestation par des insectes ou des acariens nuisibles (Jayas *et al.*, 1995).

Les champs électriques micro-ondes ont été envisagés pour détruire les espèces nuisibles de la faune du sol ou dans le bois d'œuvre (Patay et Lonne, 1983 ; Nelson, 1996).

Parmi les procédés physiques interférant avec le comportement des insectes, le dérangement périodique et répété des adultes peut avoir des effets néfastes sur la reproduction. C'est la technique qui est utilisée pour la protection des graines de légumineuses contre les infestations par les bruches (technique du « dérangement permanent »). Cette technique a été décrite et expérimentée pour la première fois en France au XIX^{e} siècle (grenier rotatif « mécanisé » : Vallery, 1839) pour la protection du grain contre les attaques de charançons (Fields *et al.*, 2000).

Chaque procédé physique de désinsectisation des denrées post-récolte a des coûts d'investissement et d'utilisation très variables qui nécessite un raisonnement et

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

un choix optimal pour l'intégration dans les stratégies de protection antiparasitaire intégrée (tableau 2) (Fleurat-Lessard, 2003).

Tableau 2 ■ Coûts relatifs des différentes méthodes de protection des grains contre les infestations ou de désinsectisation.

Traitement	Coût d'investissement	Coût d'opération par tonne[1] (en €)
Traitement par insecticide de contact	*	0,10-0,35[1]
Fumigation au CH_3Br ou PH_3	*	0,25-0,45
Ventilation de refroidissement à l'air ambiant	*	0,09-0,25
Ventilation à l'air réfrigéré	**	0,45-1,05
Traitement thermique en lit fluidisé	***	1,05-1,85[1]
Désinsectisation par radiofréquence	***	1,85-4,50[1]
Ionisation	****	0,18-0,45[1]
Stockage hermétique sous gaz inerte	**	1,05-1,85
Fumigation au CO_2	*	0,90-1,85
Combinaison pression et CO_2	***	2,75-4,50[1]

* Très faible ; **** Très élevé.
[1] À l'exclusion de certains coûts annexes comme l'amortissement du matériel, le transport, la manutention ou le conditionnement en emballage spécial.

2.2. Traitements contre les ravageurs de quarantaine

2.2.1. Traitement thermique d'éradication

Un autre domaine qui ne saurait se passer de l'usage des technologies de la lutte physique est celui des traitements relevant des règles de quarantaine appliquées dans le cadre des accords SPS (*Sanitary and Phytosanitary Agreement*) concernant les productions végétales dans le cadre des échanges internationaux (règles fixées par l'Organisation mondiale du commerce : OMC).

La réglementation de la quarantaine fixe comme critère de sécurité le concept du probit 9, correspondant à 99,9968 % de mortalité après traitement. La mesure expérimentale de cette efficacité exigée pour les traitements visant des organismes de quarantaine repose sur le dénombrement d'aucun survivant sur une population traitée de 93 616 individus (au seuil de confiance de 95 %). Un niveau d'efficacité aussi élevé est indispensable pour éviter que des fléaux de certaines cultures ne soient introduits à l'occasion d'échanges commerciaux dans des pays qui en sont indemnes.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

La désinsectisation des fruits par la vapeur, pour les besoins de la quarantaine, a été pratiquée dans les années 30-40 avant que le traitement ne soit progressivement remplacé par les gaz (fumigants) du type dibromure d'éthylène ou bromure de méthyle, vers 1950. Mais, les inconvénients de ces gaz, notamment les résidus laissés par le dibromure d'éthylène, ont amené leur interdiction. Avec la disparition des usages du dibromure d'éthylène (en 1984 aux États-Unis), puis du bromure de méthyle (en vigueur à partir de 2005), fumigants à action rapide, utilisables en autoclave à pression atmosphérique ou sous vide, la principale alternative à ces traitements d'éradication de ravageurs inscrits sur les listes de quarantaine est la lutte physique. Cette situation a donné un nouvel essor aux traitements de désinfestation préventive des fruits par des procédés thermiques (Heather, 1994). Par exemple, le trempage des fruits exotiques dans des bains d'eau chaude pour l'éradication complète de la mouche américaine des fruits, *Anastrepha suspensa*, sur mangues, papayes ou bananes (Hallman et Sharp, 1990) est régulièrement utilisé pour l'exportation. Le post-traitement au froid des pommes suivant une fumigation au bromure de méthyle a été utilisé en tant que méthode d'appoint à effet complémentaire ou synergiste, pour l'éradication des œufs du carpocapse des pommes, *Cydia pomonella*, à des fins de traitement de quarantaine à l'exportation des pommes sur le marché japonais (Ducom, communication personnelle ; Waddel (1993), cité par Chakrabarti, 1996).

Avant la période d'utilisation intensive des pesticides organiques de synthèse, Baker (1939) préconisait le traitement à la vapeur pour la désinsectisation des citrons contre la mouche des fruits *Ceratitis capitata* en maintenant la température à 44 °C pendant huit heures. Les nouvelles techniques de désinsectisation par la vapeur consistent à maintenir des températures modérées au niveau des fruits, grâce à une régulation très précise pendant des durées de quelques minutes à plusieurs heures suivant la cible à éradiquer et le degré de tolérance du fruit (Sugimoto *et al.*, 1983 ; Armstrong *et al.*, 1989 ; Corcoran *et al.*, 1993). Dans cette situation, les combinaisons entre la température et la durée d'exposition sont déterminantes de l'effet du traitement. La relation entre la mortalité des insectes et la température du fruit a l'allure d'une régression asymptotique ; mais elle peut être très différente d'une espèce nuisible à l'autre (Heather, 1994).

La question la plus délicate à résoudre avec des insectes de quarantaine comme les mouches des fruits, *Bactrocera tryonii* et *C. capitata*, est la certitude d'avoir une efficacité de 99,9968 %, comme l'exigent certains organismes officiels de pays importateurs (le Japon, par exemple). Des systèmes pratiques ont été développés pour satisfaire ce type d'exigence à l'échelle industrielle (Miller *et al.*, 1990 ; Sharp et Hallman, 1994). Les traitements actuels sont couramment réalisés avec des températures de 44 à 47 °C, appliquées pendant une durée allant de quelques minutes à plusieurs heures, selon que l'on a affaire à des mangues, des tomates, des carambroles ou des citrons. Des systèmes fonctionnant à la vapeur saturante existent en Australie pour traiter 20 tonnes de fruits en deux à quatre heures (Corcoran *et al.*, 1993). Ils sont destinés à remplacer les techniques plus anciennes de trempage des lots de fruits directement dans un bain d'eau chaude (Hallman et Sharp, 1990).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Des normes de traitement des emballages en bois par la chaleur pour la destruction des insectes xylophages (*Bostrychidae*, *Lyctidae*, *Anobiidae*, *Cerambicidae*) sont également strictement appliquées dans les échanges internationaux.

2.2.2. Traitements par irradiation de ravageurs de quarantaine (ionisation)

Les pays exportateurs de produits tropicaux sont en permanence confrontés aux règlements concernant la garantie de la sécurité de quarantaine. Or, les traitements thermiques ont souvent des inconvénients qui les rendent inapplicables sur certains types de végétaux, en particulier les fruits, dont la qualité est rapidement dégradée par la chaleur. L'irradiation peut aussi endommager certains fruits charnus et à teneur en eau élevée (Burditt, 1990). Aussi, les fruits ont-ils été classés pour leur sensibilité à l'irradiation aux doses d'éradication des insectes de quarantaine (1 kGy pour la majorité des cas) (Buscarlet, 1990). Dans le groupe des fruits supportant sans dommage apparent ces doses d'irradiation, on trouve notamment la pomme, la cerise, les dattes, la mangue, la nectarine, la papaye, la prune, la fraise, la framboise et la tomate. Les fruits ne supportant que de très faibles doses de rayonnement ionisant sont l'avocat, le concombre, le raisin, les haricots verts, les agrumes, l'olive, le poivron et le piment (Burditt, 1990). L'irradiation des produits alimentaires (grains stockés, épices, plantes aromatiques ou fruits) pour une désinsectisation totale a connu un regain d'intérêt dans les années 1975-85 lorsque sont apparus les accélérateurs de particules fonctionnant à des cadences industrielles (Buscarlet, 1991).

Les principaux organismes de quarantaine visés par l'irradiation sont les différentes espèces de mouches des fruits qui sont pour la plupart inscrites sur les listes disponibles, pour l'Europe, auprès de l'Organisation européenne et méditerranéenne de protection des plantes (OEPP). Toutefois, la réglementation concernant les usages de l'ionisation pour la désinsectisation directe des denrées repose sur le principe de la liste positive. La désinsectisation des fruits secs par ionisation est autorisée en France depuis 1988. Si le fruit est vendu en l'état, la mention « traité par rayonnement ionisant » ou « traité par ionisation » est obligatoire, ce qui freine beaucoup le recours à ce procédé à cause d'une mauvaise image de marque associée à l'irradiation des aliments.

2.3. Lutte contre les insectes phytophages

2.3.1. Lutte pneumatique (aspiration et soufflage)

Les systèmes agricoles qui ont principalement fait l'objet de ce type de recherche sont le doryphore de la pomme de terre (*Leptinotarsa decemlineata*) et la punaise terne (*Lygus lineolaris*) sur fraisier (Vincent et Boiteau, 2000 ; Weintraub et Horowitz, 2000). Les stades immatures et les adultes de ces deux espèces constituent la cible de la lutte pneumatique. Les rendements dépendent de la vitesse d'aspiration ou de l'efficacité du système (Khelifi *et al.*, 2000), et de l'endroit où se situe

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

l'insecte au moment du passage de la machine (Vincent et Chagnon, 2000). Une caractéristique de la lutte pneumatique est que l'effet résiduel est bref, certains insectes non aspirés pouvant recoloniser la surface traitée immédiatement après le passage de la machine (Rancourt *et al.*, 2003).

2.3.2. Lutte thermique contre les insectes phytophages

Le brûlage des résidus de récolte hébergeant des ravageurs est un procédé de lutte recommandé dans tous les cas où le travail du sol est réduit à des façons culturales simplifiées (semis direct). À titre d'exemple de destruction de stades inactifs, on peut citer le brûlage des chaumes de riz qui détruit les larves d'insectes foreurs de la tige, mais aussi l'inoculum des maladies du feuillage et de la tige. Une pratique semblable de brûlage des chaumes de millet est rapportée par Gahukar (1990).

La lutte par brûlage à la flamme nue peut être pratiquée pour lutter contre le doryphore de la pomme de terre, notamment pour éradiquer les foyers de multiplication encore actifs à la fin du cycle végétatif (Duchesne *et al.*, 2000). Parmi les méthodes physiques de destruction des stades actifs, l'exposition directe des cultures de pomme de terre infestées par le doryphore, aux flammes de combustion émises par du matériel spécialisé à source d'énergie liquide (gaz de pétrole liquéfié : GPL) ou gazeuse (propane) permet d'obtenir des températures correspondant au seuil de thermosensibilité des insectes cibles au passage de l'appareil. Celui-ci s'effectue dans la culture à la façon d'un pulvérisateur (Lagüe *et al.*, 2000 ; Duchesne *et al.*, 2000). Cette technique est complémentaire des autres méthodes de lutte qui sont d'un effet plus durable, mais qui se révèlent insuffisantes pour assurer le maintien des populations du doryphore au-dessous du seuil de nuisibilité. Les effets létaux obtenus sont bénéfiques en fin de cycle végétatif. Ils éliminent les derniers foyers d'infestation au moment du défanage qui est pratiqué avant récolte. Le traitement à la flamme des bordures de champs de pomme de terre avant la culture est pratiqué régulièrement au Canada pour limiter les zones « réservoir » des populations du doryphore.

Le brûlage à la flamme peut être également utilisé pour détruire les foyers de reproduction des mouches tsé-tsé ou les zones de « chasse » des tiques. Les populations d'autres insectes comme les pucerons des asperges peuvent également être maintenues à des niveaux inférieurs au seuil de nuisibilité par ce procédé de brûlage (Hoy, 1998).

Le brûlage des champs de luzerne en fin de saison ou en début de reprise de croissance est encore pratiqué au Canada, car il est bénéfique pour la réduction des populations de charançons (phytonomes, sitones et apions) qui mettent en danger la production de semences. L'écobuage qui consiste à brûler les chaumes de céréales après la récolte est un moyen d'éradication des ravageurs qui pourraient subsister entre deux cultures au niveau du sol, sur les déchets de récolte tombés à terre.

La solarisation des chaumes utilisés pour le revêtement des toitures dans les régions tropicales consiste traditionnellement en un emballage dans des sacs plastiques et

© Lavoisier – La photocopie non autorisee est un délit

une exposition au soleil pendant trois jours pour détruire « la vermine » avant leur utilisation.

Dans l'assainissement des sols de cultures en serre, le traitement des sols par injection de vapeur permet de détruire non seulement les graines de plantes adventices ou l'inoculum des parasites de la culture, mais aussi les stades hypogées des ravageurs qui se sont réfugiés dans les substrats de culture. La température du sol doit atteindre 71 °C pendant 30 min pour détruire tous les insectes de façon homogène (Nelson, 1991).

2.4. Alternatives physiques à la fumigation au bromure de méthyle

Un domaine important d'application des technologies de lutte physique est celui qui recouvre le domaine d'application actuel du bromure de méthyle (CH_3Br) (*cf.* 1.2.1.2.). Les premières interdictions d'usages et de la fabrication du bromure de méthyle prennent effet à partir de 2005 en France. Depuis dix ans maintenant, la recherche d'alternatives à tous les usages actuels est très active, notamment en Australie, en Amérique du Nord, au Royaume-Uni et en Allemagne. La substitution de traitements physiques au CH_3Br est envisagée pour les applications suivantes : désinfection des sols de cultures horticoles, traitements de quarantaine sur les ravageurs des fruits, légumes, fleurs coupées, plants en pots, bulbes, ainsi que la désinsectisation de denrées alimentaires (graines de légumineuses, cacao, dattes, épices, tabac, semences) et des usines de transformation des produits agricoles (moulins, fabriques d'aliments pour le bétail, ou pour les animaux de compagnie, biscuiteries, boulangeries, etc.). La majorité de ces utilisations du CH_3Br peuvent être remplacées par des traitements physiques : le traitement des sols par l'injection de vapeur, les traitements de quarantaine par le trempage à l'eau chaude ou l'exposition à la température de la « vapeur sèche » ou de l'air chaud pulsé, par exemple.

Le comité technique international d'étude des alternatives au bromure de méthyle (*Methyl Bromide Technical Options Committee*, MBTOC) a recensé l'ensemble des méthodes physiques qui constituent les applications récentes du bromure de méthyle (UNEP, 1995 ; 1998). En ce qui concerne la préservation des grains stockés contre les attaques et la prolifération des insectes nuisibles, les options sont nombreuses et ont des coûts d'investissement et de fonctionnement très variables (tableau 3).

2.5. Applications pour les méthodes passives

Plusieurs exemples illustrent la mise en application des méthodes passives.

Les barrières physiques passives de type moustiquaire, les vêtements et les filets protecteurs pour empêcher les morsures et les piqûres d'insectes sont des exemples de l'utilisation de méthodes physiques passives contre les insectes nuisibles (Boiteau et Vernon, 2000). Les filets anti-insectes ou d'autres types de barrières physiques, comme les barrières et fossés d'interception des insectes rampants ou sauteurs (Metcalf et Luckmann, 1994) venant de l'extérieur de la zone cultivée, s'adaptent

© Lavoisier – La photocopie non autorisee est un délit

Tableau 3 ■ Procédés physiques susceptibles de devenir des options de remplacement aux usages actuels du bromure de méthyle pour la désinsectisation des céréales et des légumineuses.
(Fleurat-Lessard, rapports référencés : mbtoc94.pdf, mbtoc98.pdf et mbtoc2002.pdf, disponibles sur Internet : http://www.teap.org/reports.html)

Type de procédé alternatif	Technique d'application
Atmosphères contrôlées ou modifiées	Injection de CO_2 dans un emballage étanche scellé.
	Injection de CO_2 dans une cellule étanche, aménagée avec des systèmes neutralisant la dépression.
	Injection de N_2 provenant d'un échangeur-séparateur d'azote de l'air dans une enceinte étanche.
	Injection de gaz de combustion provenant d'un générateur de gaz inerte en cellule étanche.
	Conservation prolongée dans une cellule étanche à atmosphère remplacée par un gaz inerte.
	Conditionnement en emballage étanche (plastique) mis sous gaz neutre au scellage.
Traitements thermiques	Refroidissement prolongé par ventilation à l'air ambiant.
	Refroidissement rapide par ventilation à l'air réfrigéré.
	Choc thermique par traitement en lit fluidisé à l'air chaud.
	Traitement thermique dans un four-tunnel à micro-ondes ou radiofréquences.
	Traitement thermique en couche mince par rayonnement infrarouge.
Traitements combinés	Élévation de température et confinement sous gaz neutre (CO_2 ou N_2, ou mélange des deux).
	CO_2 à pression élevée (2 à 5 MPa) en autoclave.
	Choc au froid (température proches de 0 °C ou inférieures) et privation d'oxygène par gaz neutre.

facilement dans les espaces fermés (cultures sous tunnel plastique ou en serre), et aux petites parcelles de culture. Les effets de ces barrières peuvent être éventuellement améliorés par imprégnation avec des substances répulsives ou toxiques pour les insectes, comme le créosote. Selon Boiteau et Vernon (2000), les insectes que l'on peut combattre efficacement avec ces barrières physiques sont nombreux : les punaises des céréales (*Blissus sp.*, *Aelia sp.*), la sauterelle mormone (*Anabrus simplex*), la teigne de la pomme de terre (*Phtorimea operculella*).

La ventilation verticale forcée, installée à l'entrée des immeubles, des entrepôts de denrées alimentaires ou des centres commerciaux constitue un « écran » phy-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

sique permettant d'empêcher l'entrée des insectes volants (en particulier les espèces nuisibles aux denrées alimentaires).

La pose de bandes-pièges autour du tronc des arbres fruitiers pour intercepter les insectes à un stade migrateur cherchant un refuge d'hibernation dans le sol, est un moyen de limiter la densité des populations hivernantes. Elle fait partie des méthodes d'appoint de la protection intégrée visant à maintenir les niveaux de dégâts des ravageurs au-dessous du seuil économique déclenchant une intervention corrective.

La pose de « paillis » en plastique est bénéfique pour la protection contre les pucerons vecteurs de virus et les attaques de teigne de la pomme de terre (Boiteau et Vernon, 2000). Les haies et filets brise-vent ont un effet protecteur significatif contre les invasions de pucerons (Bégin *et al.*, 2000). La protection des produits alimentaires par un emballage étanche aux insectes de la post-récolte (teigne des fruits secs, *Plodia interpunctella* ou vrillette du pain, *Stegobium paniceum*, par exemple) contribue à la protection de longue durée des denrées sensibles aux infestations.

L'asphyxie par submersion temporaire de certaines cultures attaquées par des parasites des racines se pratique dans certains cas. Ainsi, la lutte contre les attaques du phylloxera de la vigne pour les cépages sensibles cultivés sans porte-greffe, a pu être réalisée dans des zones inondables par submersion en hiver au moment du repos végétatif de la vigne (vignobles du cordon lagunaire du Languedoc en France).

Enfin, parmi les alternatives à la lutte chimique, l'usage des poudres desséchantes et/ou abrasives comme les argiles (kaolinite et montmorillonite) ou les terres de diatomées et le gel de silice a donné des résultats dans deux domaines très différents : les invasions de pucerons dans les vergers d'agrumes (Bar-Joseph et Fraenkel, 1983) et, la protection des stocks de grain des infestations venant de l'extérieur (Fields *et al.*, 2000).

3. *Interactions des procédés physiques avec les méthodes et outils de la protection intégrée*

3.1. Inconvénients pour la lutte biologique

Les méthodes de lutte physique sont généralement non-sélectives. Ainsi, dans le cas du déchiquetage des feuilles de pommiers à l'automne, les populations de parasites (surtout des *Braconidae* et des *Eulophidae*) de la mineuse marbrée (*Phyllonorycter blancardella*) sont également décimées (Vincent *et al.*, 2004). De même, un certain pourcentage de pollinisateurs du fraisier au stade de floraison est aspiré et tué lors du passage d'une machine aspiratrice (Chiasson *et al.*, 1997). Il convient donc d'être prudent et de moduler l'emploi des méthodes de lutte physiques selon les principales contraintes biologiques du système agronomique à préserver.

Les procédés de brûlage à la flamme nue peuvent avoir une incidence néfaste sur les populations d'auxiliaires utiles si des précautions de mise en œuvre ne sont

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un delit

pas respectées. Aussi, le dérangement des populations mobiles en avant du passage du matériel de traitement permet de leur éviter de subir les effets du choc thermique. En effet les effets secondaires de l'application des méthodes de lutte physique ont fait l'objet de peu de recherche. Ainsi, lors du passage d'appareils pneumatiques en champs de pommes de terre, Boiteau *et al.* (1992) rapportent que plusieurs espèces de prédateurs appartenant aux taxons *Arachnidae*, *Chrysopidae* et *Coccinellidae* ayant un rôle dans la lutte contre le doryphore de la pomme de terre, sont prélevées à un taux de 62 % au passage de l'aspirateur à haut débit. De même, dans le cas de lâchers inondatifs de prédateurs en champ de pomme de terre, il convient de coordonner les lâchers et les passages d'aspirateur (Cloutier *et al.*, 1995).

3.2. Interférence avec l'efficacité des traitements phytosanitaires

L'exemple le plus évident d'interférence entre les traitements physiques et l'efficacité des insecticides se situe dans le domaine des traitements insecticides de protection des grains stockés. La perte d'efficacité des insecticides de contact organophosphorés est d'autant plus rapide que la température du grain est élevée. Les applications d'insecticides sur du grain fraîchement récolté, dont la température peut dépasser 30 °C, ne vont donner une protection contre les infestations que pendant quelques semaines (Fleurat-Lessard, 2001). Lorsque ces applications ont lieu après un début de refroidissement du grain par ventilation à l'air ambiant ou réfrigéré, la durée de protection contre les infestations est prolongée et peut atteindre plus de six mois à 16 °C dans du grain sec (Fleurat-Lessard *et al.*, 1998). La majorité des traitements par les températures élevées accélère la dégradation simultanée des résidus d'insecticides et de leur efficacité.

3.3. Inconvénients pour la structure du sol ou les équipements des locaux traités

Les passages répétés dans une culture d'un appareil d'aspiration des insectes peuvent tasser le sol et réduire la croissance des plantes. De même, les effets néfastes des brûlages sur les jeunes plants ne sont pas totalement compensés au cours du cycle végétatif. Les changements de structure des sols par ces passages peuvent faciliter le ruissellement et limiter l'alimentation hydrique dans certains types de sols.

Dans le cas du traitement thermique des bâtiments de stokage ou d'usines de transformation des céréales, les équipements en plastique sont souvent légèrement endommagés par l'effet de la chaleur (tuyauterie plastique déformée, gaines plastiques décollées et cintrées, etc.) et nécessitent des réparations avant de reprendre un fonctionnement normal. Les systèmes de sécurité incendie doivent être neutralisés ou leur seuil réglé pour tenir compte du niveau élevé de la température au cours du traitement.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Conclusion et perspectives

La lutte contre les insectes ravageurs des cultures et des denrées stockées est confrontée aujourd'hui à l'obligation de réduire l'utilisation des pesticides organiques de synthèse. Les difficultés à satisfaire cette contrainte et à trouver des solutions aux problèmes de préservation de la qualité sanitaire des produits agroalimentaires de longue conservation iront en croissant. D'une part, les frais d'homologation de nouvelles molécules ne cessent de croître en raison de législations de plus en plus complexes et exigeantes, en particulier pour constituer le dossier « toxicologique » visant à démontrer l'innocuité totale des nouvelles matières actives. Ceci a pour conséquence une diminution importante du nombre de pesticides homologués dans le monde depuis quelques décennies. D'autre part, le nombre de populations d'insectes rapportées résistantes augmente de façon constante (*cf.* chapitre 9), ce qui pousse rapidement à l'abandon d'usage de ces molécules. Par ailleurs, la demande pour les produits « bio » ou à « faibles intrants synthétiques » est croissante sur les marchés des pays développés (*cf.* chapitre 41). Enfin, certaines molécules (et leurs spécialités) ne trouveront pas de pétitionnaire dans le cadre de la révision de l'homologation de tous les pesticides à usage agricole qui a lieu dans l'UE.

Sur le plan technique, le développement rapide de nouvelles technologies permet une mise en œuvre des méthodes de lutte physique beaucoup plus facile que par le passé. C'est le cas des technologies informatiques qui permettent un contrôle en temps réel de processus complexes, ou de programmes de simulation qui permettent de faire de l'aide à la décision intelligente ou d'estimer les coûts de mise en œuvre des différentes techniques avant de faire des investissements. Les avancées en développement de micro-capteurs et de nanotechnologies auront aussi des effets dynamisants dans ce domaine.

L'essor récent du génie génétique a semblé un moment pouvoir favoriser la lutte biologique avec des auxiliaires utiles, génétiquement modifiés « sur mesure », dans le cadre des nouvelles stratégies de gestion intégrée des insectes nuisibles à l'agriculture, basées sur l'association de méthodes et de procédés à effets complémentaires. Mais, des contraintes et exigences incontournables sur le plan du respect des équilibres naturels, de la qualité et la sûreté du produit des récoltes, et de la préservation de l'environnement, redonnent actuellement de l'intérêt à l'introduction de procédés physiques. Les procédés physiques bénéficient de progrès constants en électronique, en automatisme et capteurs « intelligents », ainsi que des possibilités nouvelles offertes par le génie mécanique et les logiciels. Ces derniers peuvent être appliqués au pilotage automatique des appareils de traitement ou intervenir dans l'aide à la définition des meilleures stratégies d'intervention. Ces progrés permettent de mieux planifier maintenant en fonction des exigences de l'aval (« marchés » et consommateurs qui exigent des aliments de qualité).

Les exemples d'intégration réussie des procédés physiques dans les itinéraires techniques de protection intégrée qui ont été choisis ici montrent un champ d'application plus ouvert que jamais à ces techniques.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Références bibliographiques

Adler C.S. (1994). Carbon dioxide – more rapidly impairing the glycolytic energy production than nitrogen? *In* Highley E., Wright E.J., Banks H.J., Champ B.R. *Proc. 6th Int. Working Conference on Stored Product Protection*, Canberra, Australia, CABI, Wallingford, UK, vol. 1, 7-10.

Anglade P., Cangardel H., Fleurat-Lessard F. (1979). Application des O.E.M. de haute fréquence et des micro-ondes à la désinsectisation des denrées stockées. *In Proc. XIV^e Symp. Int. IMPI sur les Applications Energétiques des Micro-ondes*, Monaco, 67-69.

Annis P.C. (1986). Towards rational controlled atmosphere dosage schedules: a review of current knowledge. *In* Donahaye E., Navarro S. *Proc. 4th Int. Working Conf. on Stored Product Protection*, Tel-Aviv, ARO Bet Dagan (Israel), 128-148.

Armstrong J.W., Hansen J.D., Hu B.K.S., Brown S. (1989). High-temperature forced-air quarantine treatment for papayas infested with Tephritid fruit flies. *J Econ Entomol*, **82** : 1667-1674.

Averill A.L., Sylvia M.M., Kusek C.S., de Moranville C.J. (1997). Flooding in cranberry to minimize insecticide and fungicide inputs. *Am J Altern Agric*, **12** : 50–54.

Bailey S.W., Banks H.J. (1980). A review of recent studies of the effects of controlled atmospheres on stored product pests. *In* Shejbal J *Controlled Atmosphere Storage of Grains*. Elsevier, Amsterdam, 101-118.

Baker A.C. (1939). The basis for treatment of products where fruit flies are involved as a condition for entry into the United States. *USDA Circular* No. 551.

Bar-Joseph M., Fraenkel H. (1983). Spraying citrus plants with kaolin suspensions reduces colonization by the spiraea aphid (*Aphis citricola* van der Goot). *Crop Prot*, **2** : 371-374.

Bégin S., Dubé S.-L., Calandriello J. (2000). Paillis et plasticulture. *In* Vincent C., Panneton B., Fleurat-Lessard F. *La lutte physique en Phytoprotection*. INRA Éditions, Paris, 227-237.

Bell C.H. (1996). Alternatives – Physical methods and emission reduction. *In* Bell C.H., Price N., Chakrabarti B., *The Methyl Bromide Issue*, John Wiley & Sons, Chichester UK, 323-389.

Belton P. (1962). A field test on the use of sound to repel the European corn borer. *Entomol Exp Appl*, **5** : 281-288.

Boiteau G., Vernon R. (2000). Barrières physiques contre les insectes nuisibles. *In* Vincent C., Panneton B., Fleurat-Lessard F. *La lutte physique en Phytoprotection*. INRA Éditions, Paris, 239-263.

Boiteau G., Misener C., Singh R.P., Bernard G. (1992). Evaluation of a vacuum collector for insect pest control in potato. *American Potato Journal* **69** : 157-166.

Boiteau G., Pelletier Y., Misener G.C., Bernard G. (1994). Development and evaluation of a plastic trench barrier for protection of potato from walking adult Colorado potato beetles (*Coleoptera: Chrysomelidae*). *J Econ Entomol*, **87** : 1325-1331.

Bollen A.F., De la Rue B.T. (1999). Hydrodynamic heat transfer – a technique for disinfestation. *Postharvest Biol Technol*, **17** : 133-141.

Burditt A.K. Jr. (1990). Irradiation as a quarantine treatment. *FAO Plant Prot Bull*, **39** : 25-33.

Buscarlet L.A. (1990). L'ionisation des fruits pour le traitement de quarantaine contre les insectes. Développement dans le monde et en France. *Ind Agric Alim*, numéro spécial octobre 1990.

Buscarlet L.A. (1991). Méthodes physiques de protection des denrées alimentaires stockées. *In* Fleurat-Lessard F., Ducom P. *Proceedings 5th Int. Working Conf. on Stored Product Protection*, Bordeaux, vol. 2, 1089-1102.

Chakrabarti B. (1996). Methyl bromide in storage practice and quarantine. *In* Bell C.H., Price N., Chakrabarti B., *The Methyl Bromide Issue*. John Wiley & Sons, Chichester, UK, 237-274.

Chiasson H., Vincent C., de Oliveira D. (1997). Effect of an insect vacuum device on strawberry pollinators. *Acta Hortic*, **437** : 373–77.

Cloutier C., Jean C., Bauduin F. (1995). More biological control for a sustainable potato pest management strategy. *In* Duchesne R.M., Boiteau G., *Lutte aux insectes nuisibles de la pomme de terre – Potato Pest Control*. Actes Symp. Québec (QC) Canada, 15-52.

Corcoran R.J., Heather N.W., Heard T.A. (1993). Vapor heat treatment for zucchini infested with *Bactrocera cucumis* (*Diptera: Tephritidae*). *J Econ Entomol*, **88** : 66-69.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Donahaye E.J., Navarro S., Leesch J. (2000). *Proceedings Int. Conf. on Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products*. CAF Conference editions, Fresno CA.

Duchesne R.M., Laguë C., Khelifi M., Gill J. (2000). Répression thermique du doryphore de la pomme de terre. *In* Vincent C., Panneton B., Fleurat-Lessard F., *La lutte physique en Phytoprotection*. INRA Éditions, Paris, 57-70.

FAO/AIEA/WHO Expert Committee (1982). Wholesomeness of irradiated food. *In* Gammaster International. *Food Irradiation Now*., Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk, Publishers, La Hague, 115-153.

Fields P.G. (2000). Contrôle des insectes en post-récolte : basses températures. *In* Vincent C., Panneton B., Fleurat-Lessard F., *La lutte physique en Phytoprotection*. INRA Éditions, Paris, 95-110.

Fields P., Korunic Z., Fleurat-Lessard F. (2000). Contrôle des insectes en post-récolte : poudres desséchantes et chocs mécaniques. *In* Vincent C., Panneton B., Fleurat-Lessard F., *La lutte physique en Phytoprotection*. INRA Éditions, Paris, 265-276.

Fleurat-Lessard F. (1990). Effect of modified atmospheres on insects and mites infesting stored products. *In* Calderon M., Barkai-Golan R., *Food Preservation by Modified Atmospheres*. CRC Press, Boca Raton FL, 21-38.

Fleurat-Lessard F. (2000). Contrôle des insectes en post-récolte : radiofréquences et micro-ondes. *In* Vincent C., Panneton B., Fleurat-Lessard F., *La lutte physique en Phytoprotection*. INRA Éditions, Paris, 169-182.

Fleurat-Lessard F. (2001). Devenir des résidus d'insecticides au cours du stockage et à la transformation : des risques à gérer avec précision. *Ind Céréales*, **121** : 5-17.

Fleurat-Lessard F. (2003). Préservation de la qualité sanitaire des céréales – 1. Altérations possibles des grains durant leur conservation et principes de sécurité sanitaire. 2. La protection antiparasitaire intégrée : nouveau concept d'une stratégie préventive d'assurance qualité des stocks. *Phytoma*, **563** : 22-30.

Fleurat-Lessard F., Le Torc'h J.-M. (1991). Influence de la teneur en oxygène sur la sensibilité de certains stades juvéniles de *Sitophilus oryzae* et *S. granarius* au dioxyde de carbone. *Entomol Exp Appl*, **58** : 37-47.

Fleurat-Lessard F., Le Torc'h J.-M. (2000). Contrôle des insectes en post-récolte : hautes températures et atmosphères inertes. *In* Vincent C., Panneton B., Fleurat-Lessard F., *La lutte physique en Phytoprotection*. INRA Éditions, Paris, 71-94.

Fleurat-Lessard F., Vidal M.-L., Budzinski H. (1998). Modelling biological efficacy decrease and rate of degradation of chlorpyrifos-methyl on wheat stored in controlled conditions. *J Stored Prod Res*, **34** : 341-354.

Gahukar R.T. (1990). Population ecology of *Acigona ignefusalis* (*Lep. Pyralidae*) in Senegal. *Environ Entomol*, **19** : 558-564.

Hallman G.J. (2000). Factors affecting quarantine heat treatment efficacy. *Postharvest Biol Technol*, **21** : 95-101.

Hallman G.J., Sharp J.L. (1990). Hot-water immersion quarantine treatment for carambolas infested with Carribean fruit fly (*Diptera: Tephritidae*). *J Econ Entomol*, **83** : 1471-1474.

Hallman G.J., Denlinger D.L. (1998). *Temperature sensitivity in insects and application in integrated pest management*. Westview Press, Boulder, Co, USA

Heather N.W. (1994). Commodity disinfestation treatments with heat. *In* Highley E., Wright E.J., Banks H.J., Champ B.R., *Proc. 6th Int. Working Conf. on Stored Product Protection*. Canberra, CAB International, Wallingford UK, vol 2, 1199-1200.

Horiuchi S. (1991). Solarization for greenhouse crops in Japan. *In* De Vay J.E., Stapleton J.J., Elmore C.L., *Soil solarization*. U.N. FAO Plant Production and Protection Paper 109.

Hoy C.W. (1998). Insect control in the field using temperature extremes. *In* Hallman G.J., Denlinger D.L., *Temperature sensitivity in insects and application in integrated pest management*. Westview Press, Boulder Co USA, 269-287.

Jayas D.S., White N.D.G., Muir W.E. (1995). *Stored-grain Ecosystems*. Marcel Dekker Inc., New York.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Khelifi M., Laguë C., Lacasse B. (2000). Lutte pneumatique contre les insectes en phytoprotection. *In* Vincent C., Panneton B., Fleurat-Lessard F., *La lutte physique en Phytoprotection.* INRA Éditions, Paris, 277-286.

Laguë C., Gill J., Péloquin G. (2000). Lutte thermique en phytoprotection. *In* Vincent C., Panneton B., Fleurat-Lessard F., *La lutte physique en Phytoprotection.* INRA Éditions, Paris, 27-39.

Le Torc'h J.-M. (1983). Étude en laboratoire de la sensibilité à l'anhydride carbonique et à l'azote de plusieurs espèces des denrées stockées en vue d'une application à la désinsectisation des stocks. *Agronomie*, **3** : 399-406.

Le Torc'h J.-M., Fleurat-Lessard F. (1991). Effet des fortes pressions sur l'efficacité insecticide des atmosphères modifiées par CO_2 contre *Sitophilus granarius* (L.) et *S. oryzae* (L.) (*Col. Curculionidae*). *In* Fleurat-Lessard F., Ducom P., *Proc. 5th Int. Working Conf. on Stored Product Protection*, Bordeaux, vol. 2, 847-856.

Metcalf R.L., Luckmann W.H. (1994). *Introduction to insect pest management.* John Wiley & Sons, New York.

Mevel A. (1996). La thermothérapie en production de bulbes à fleurs. *PHM Rev horticole*, **373** : 61-68.

Miller W.R., Mc Donald R.E., Sharp J.L. (1990). Condition of Florida carambolas after preliminary tests of forced warm air treatment and storage. *Proc Florida State Hort Soc*, **103** : 238-241.

Navarro S., Donahaye E. (1993). *Proceedings CAF International Conference on Controlled Atmosphere and Fumigation in Grain Storages.* Winnipeg, June 1992, Caspit Press Ltd, Jerusalem.

Nelson P.V. (1991). *Greenhouse Operation and Management.* 4th Ed., Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ.

Nelson S.O. (1996). Review and assessment of radio-frequency and microwave energy for stored-grain insect control. *Trans ASAE*, **39** : 1475-1484.

Oseto C.Y. (2000). Physical control of insects. *In* Rechcigl J.E., Rechcigl N.A., *Insect Pest Management.* Lewis, Boca Raton FL, 25-100.

Panneton B., Vincent C., Fleurat-Lessard F. (2000)a. Place de la lutte physique en phytoprotection. *In* Vincent C., Panneton B., Fleurat-Lessard F., *La lutte physique en Phytoprotection.* INRA Éditions, Paris, 1-25.

Panneton B., Vincent C., Fleurat-Lessard F. (2000)b. Bilan et perspectives pour la lutte physique en phytoprotection. *In* Vincent C., Panneton B., Fleurat-Lessard F., *La lutte physique en Phytoprotection.* INRA Éditions, Paris, 325-331.

Patay L., Lonne J. (1983). Désherbage et désinfection des sols par localisation d'énergie micro-ondes. *Économie et Progrès par l'Électricité*, Ademe, Villeurbanne (France), **8/9** : 7-8.

Payne T.L., Shorey H.H. (1968). Pulsed ultrasonic sound for control of oviposition by cabbage looper moths. *J Econ Entomol*, **61** : 3-7.

Pelletier Y., Misener G.C., McMillan L.P. (1998). Steam as an alternative control method for the management of Colorado potato beetles. *Canad Agric Eng*, **40** : 17-21.

Rancourt B., Vincent C., de Oliveira D. (2003). Field efficacy and persistence of an insect vacuum device for the control of the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (*Hemiptera: Miridae*). *J Econ Entomol*, **96** : 401-406.

Reichmuth C., Wohlgemuth R. (1994). Carbon dioxide under high pressure of 15 bar and 20 bar to control the eggs of the Indian meal moth *Plodia interpunctella* (Hübner) (*Lep. Pyralidae*) as the most tolerant stage at 25 °C. *In* Highley E., Wright E.J., Banks H.J., Champ B.R., *Proc. 6th Int. Working Conf. on Stored Product Protection*, CAB International, Wallingford, UK, vol. 1, 163-172.

Sharp J.L., Hallman G.J. (1994). *Quarantine treatments for pests of food plants*, Westview Press, Boulder, Co, USA.

Sharp J.L., Picho-Martinez H. (1990). Hot-water quarantine treatment to control fruit flies in mangoes imported into the United States from Peru. *J Econ Entomol*, **83** : 1940-1943.

Shejbal J. (1980). *Controlled atmosphere storage of grains.* Elsevier, Amsterdam.

Shipp J.L., Boland G.J., Show L.A. (1991). Integrated pest management of disease and arthropod pests of greenhouse vegetable crops in Ontario: current status and future possibilities. *Canad J Plant Sci*, **71** : 887-914.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Stapleton J.J., De Vay J.E. (1995). Soil solarization: a natural mechanism of integrated pest management. *In* Reveuni R. *Novel Approaches to Integrated Pest Management.* CRC Press, Boca Raton FL, 309-322.

Sugimoto T., Furazawa K., Mizobuchi M. (1983). The effectiveness of vapor heat treatment against the Oriental fruit fly, *Dacus dorsalis* Hendel in green peppers and fruit tolerance to treatment. *Res Bull Plant Prot Serv Japan*, **19** : 81-88.

Thuéry J. (1992). *Microwaves: Industrial, Scientific, and Medical Applications.* Artech House, Boston MA, 670 p.

UNEP (1995). *Report of the UNEP Methyl Bromide Technical Options Committee.* Montreal protocol on substances that deplete the ozone layer, UNEP, Nairobi, Kenya.

UNEP (1998). *1998 Assessment of alternatives to methyl bromide.* UNEP, Nairobi, Kenya.

Vallery (1839). Description de l'appareil à conserver les grains, dit grenier mobile. *Bull Soc Encouragement Indust Nationale*, **38** : 123-131.

Vincent C., Chagnon R. (2000). Vacuuming tarnished plant bug on strawberry: a bench study of operational parameters versus insect behavior. *Entomol Exp Applic*, **97** : 347-354.

Vincent C., Hallman G., Panneton B., Fleurat-Lessard F. (2003). Management of Agricultural Insects with Physical Control Methods. *Annu Rev Entomol*, **48** : 261-281.

Vincent C., Boiteau G. (2000). La lutte par aspiration contre les insectes nuisibles. *In* Vincent C., Panneton B., Fleurat-Lessard F., *La lutte physique en Phytoprotection.* INRA Éditions, Paris, 287-300.

Vincent C., Rancourt B., Carisse O. (2004). Apple leaf shredding as a non-chemical tool to manage apple scab and spotted tentiform leafminer. *Agric Ecos Environ.* **104** : 595-604.

Watters F.L. (1962). Control of insects in foodstuffs by high-frequency electric fields. *Proc Ent Soc Ontario*, **92** : 26-32.

Weintraub P.G., Horowitz A.R. (2000). Lutte contre les insectes ravageurs à l'aide d'aspirateurs : l'expérience israélienne. *In* Vincent C., Panneton B., Fleurat-Lessard F., *La lutte physique en Phytoprotection.* INRA Éditions, Paris, 315-324.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Partie 3

Aspects économiques et réglementaires

sous la direction
de Catherine Regnault-Roger

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

40

Données économiques sur le marché des produits phytosanitaires

Jean-Charles Bocquet, Jacques My, Philippe Michel

Ce chapitre a pour objectif d'apporter des éléments économiques pour mieux cerner les enjeux phytosanitaires de ce début du XXI^e siècle.

Après l'analyse historique du marché au niveau global et européen, nous nous intéresserons au cas spécifique de la France, premier marché au sein de l'Union européenne puis nous étudierons les principaux acteurs industriels. Nous analyserons ensuite l'évolution de la réglementation et son impact sur les coûts de recherche et développement ainsi que les axes privilégiés par les sociétés de recherche. Enfin, nous indiquerons quelques exemples d'initiatives développées par l'industrie, afin de répondre aux attentes de l'opinion publique et de favoriser les bonnes pratiques d'utilisation des produits phytosanitaires.

1. Analyse du marché des produits phytosanitaires

Dans les lignes suivantes nous utiliserons le terme « produits phytosanitaires » pour désigner l'ensemble des spécialités parfois nommées par les professionnels produits agropharmaceutiques, produits de santé végétale ou encore pesticides par le grand public.

Les données chiffrées mentionnées dans ce chapitre proviennent d'associations et organismes professionnels dont les sites internet sont indiqués dans l'encadré.

Sites internet d'associations et organismes professionnels

UIPP : Union des industries de la protection des plantes : www.uipp.org
ECPA : *European Crop Protection Association* : www.ecpa.be
Phillips Mac Dougall AgriService : www.philippsmcdougall.com

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1.1. Un marché mondial mature

L'analyse du marché est faite en général en consolidant les ventes réalisées par les sociétés. Afin de mettre en évidence les tendances lourdes du marché, nous étudierons dans les exemples qui suivent les chiffres de 1992, 1997 et 2002.

L'examen du marché mondial, exprimé en USD courants, met en évidence que le marché était globalement de 25 milliards de USD en 2002.

Dans le tableau 1, une approche par segment et type d'usage révèle que le segment des herbicides représente 50 % du marché mondial et que ce segment ainsi que celui des fongicides ont une croissance voisine de 10 % sur la période 1992 à 2002. Dans le même temps, les insecticides, et les autres produits (régulateurs de croissance, anti-limaces) ont baissé de manière significative.

Tableau 1 ■ Évolution du marché mondial des produits phytosanitaires par famille de 1992 à 2002 (en millions de USD).

Monde	1992	1997	2002
Herbicides	11 470	15 033	12 490
Insecticides	6 483	7 329	6 363
Fongicides	4 918	5 622	5 425
Autres	1 158	1 102	872
Total	24 029	29 086	25 150

Source : Phillips McDougall AgriService.

Le marché mondial est classiquement divisé en six grandes régions. Dans le tableau 2, l'Amérique du Nord reste le premier marché avec 30 % du marché global. L'Europe de l'Ouest et l'Asie représentent chacune 22 % du marché mondial en 2002 ; elles ont toutes deux en commun une baisse de 15 % entre 1992 et 2002.

Si les conséquences de la politique agricole commune (PAC) et la mise en œuvre de l'agriculture raisonnée expliquent en grande partie cette diminution pour l'Europe de l'Ouest ; c'est la baisse importante du marché japonais qui explique la baisse en Asie.

L'analyse du marché mondial par type de production en valeur et en pourcentage dans les tableaux 3 et 4 révèle que les céréales à pailles (14,9 % du marché total), le maïs (11,3 %), le riz (9,1 %) et le soja (8,2 %) sont les principales cultures traitées. À noter que si l'ensemble des fruits et légumes (hors vigne, pomme de terre, fruits à pépins) représente 17,3 % du marché, il existe assez peu de molécules développées spécifiquement pour ce groupe de culture, en raison des coûts de développement élevé : en général, les molécules qui présentent un intérêt sur coton, vigne et maïs sont évaluées sur les fruits et légumes afin de tester leur utilisation. Ce sont ces cultures qui orientent la recherche au niveau mondial.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau 2 ■ Évolution du marché mondial des produits phytosanitaires dans les différentes régions du monde (en millions de USD).

Régions	1992	1997	2002
Amérique du Nord	6 381	8 977	7 793
Amérique du Sud	2 462	4 513	4 000
Europe de l'Ouest	6 515	6 722	5 520
Europe de l'Est	1 287	916	1 183
Asie	6 223	6 642	5 507
Reste du monde	1 160	1 316	1 147

Source : Phillips McDougall AgriService.

Tableau 3 ■ Répartition du marché mondial des produits phytosanitaires par culture (en % du marché total).

Cultures Monde	2002	%
Céréales	3 736	14,9 %
Maïs	2 846	11,3 %
Riz	2 293	9,1 %
Soja	2 066	8,2 %
Colza	537	2,1 %
Tournesol	215	0,9 %
Coton	1 909	7,6 %
Betterave sucrière	544	2,2 %
Canne à sucre	354	1,4 %
Pomme de terre	935	3,7 %
Vigne	914	3,6 %
Fruits à pépins	734	2,9 %
Autres fruits et légumes	4 347	17,3 %
Autres cultures	3 720	14,8 %
Total	25 150	100,0 %

Source : Phillips McDougall AgriService.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau 4 ■ Utilisation des familles de produits phytosanitaires par culture en 2002 (en %).

Cultures	Herbicides	Insecticides	Fongicides	Autres	Total	%
Céréales	2 162	231	1 183	160	3 736	14,9 %
Maïs	2 267	562	9	8	2 846	11,3 %
Riz	935	746	555	57	2 293	9,1 %
Soja	1 828	124	95	19	2 066	8,2 %
Colza	375	60	91	11	537	2,1 %
Tournesol	185	21	8	1	215	0,9 %
Coton	472	1 190	41	206	1 909	7,6 %
Betterave sucrière	444	47	49	4	544	2,2 %
Canne à sucre	264	80	1	9	354	1,4 %
Pomme de terre	194	238	470	33	935	3,7 %
Vigne	138	148	604	24	914	3,6 %
Fruits à pépins	110	263	338	23	734	2,9 %
Autres fruits et légumes	1 064	1 804	1 309	170	4 347	17,3 %
Autres cultures	2 052	849	672	147	3 720	14,8 %
Total	12 490	6 363	5 425	872	25 150	100,0 %

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1.2. L'Europe : deuxième marché mondial

Nous proposons dans les lignes qui suivent d'analyser la situation européenne sous l'angle des pays qui adhérent à l'association européenne de protection des plantes ECPA (*European Crop Protection Association*), afin d'intégrer la réalité de l'Union européenne.

Le marché européen est à dominante herbicide. D'une façon traditionnelle, ce sont les herbicides qui représentent le premier segment en Europe, avec 40 % du marché en moyenne. Entre 1995 et 2002, les fongicides, second segment en Europe, sont passés de 1 854 à 2 488 millions de € soit 33,7 à 36 % du marché : ce segment a bénéficié d'innovations spécifiques, en particulier sur céréales. Pour les autres segments (tableau 5), la variation d'une année sur l'autre est plus grande, en raison des variations climatiques.

Tableau 5 ■ Marché européen pour les produits phytosanitaires en 2002 (en millions de €).

	1995	2000	2002
Herbicides	2 350	2 721	2 862
Fongicides	1 854	2 392	2 488
Insecticides	881	1 021	1 016
Autres	405	568	567
Total	5 490	6 702	6 933

Source : ECPA (*European Crop Protection Association*).

La France est le premier marché européen au niveau utilisation avec 30 % du total (tableau 6), au niveau européen, la France, l'Allemagne, l'Italie, l'Espagne et la Grande-Bretagne représentant 80 % du marché. Les surfaces cultivées, la diversité des cultures et le poids de l'agroalimentaire expliquent cette situation. On retiendra également que l'Allemagne pèse globalement 20 % du marché, alors que l'Espagne, l'Italie et la Grande-Bretagne sont proches de 10 %.

Les céréales à paille, représentent la première culture européenne. Les conditions pédoclimatiques de l'Europe permettent la culture des céréales à paille dans la majorité des pays, ce qui explique que ces cultures (blé, orge, avoine, seigle et triticale, hors riz) représentent 33 % du marché en 2002. La tradition viticole (France, Espagne, Italie et Portugal) et la présence de nombreux fléaux (maladies et ravageurs) suffisent à expliquer que la vigne est le deuxième segment, avec près de 10 % du marché en 2002. L'ensemble des fruits et légumes représente 14 %, et les autres cultures (maïs, tournesol colza, betterave) sont entre 5 et 7 % du marché.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau 6 ■ Les marchés phytosanitaires en Europe pour les principaux pays (UE) en 2002 (en millions de €).

Cultures	Herbicides	Insecticides	Fongicides	Autres	Total	Total
France	742	170	748	209	1 869	31,6 %
Allemagne	515	105	445	68	1 133	19,2 %
Italie	226	170	253	25	674	11,4 %
Espagne	216	199	148	74	637	10,8 %
Grande-Bretagne	255	39	216	65	575	9,7 %
Pays-Bas	79	45	124	16	264	4,5 %
Grèce	56	59	39	15	169	2,9 %
Belgique	65	22	53	7	147	2,5 %
Portugal	40	21	47	6	114	1,9 %
Danemark	46	4	29	2	81	1,4 %
Autriche	36	11	25	5	77	1,3 %
Irlande	23	3	29	4	59	1,0 %
Finlande	34	3	12	9	58	1,0 %
Suède	32	4	14	1	51	0,9 %
Total	2 333	851	2 168	505	5 908	100,0 %

Source : ECPA/Associations nationales.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1.3. France : un marché mature

Nous terminerons l'analyse économique du marché par le cas spécifique de la France, premier marché européen.

Le tableau 7 analyse l'évolution du marché français de 1980 à 2002. À l'examen du tableau, la décennie 1980 à 1990 se caractérise par un développement fort du marché avec un quasi-doublement de la valeur totale, alors qu'entre 1990 et 2000, le marché s'est brutalement stabilisé, et a même légèrement baissé. Cette tendance se poursuit puisqu'en 2002 le marché a encore baissé. Pour la décennie 80-90, l'intensification des cultures, le développement des fongicides sur céréales et la mise en marché de nouvelles familles (triazoles, pyréthrinoïdes, sulfonylurées...) expliquent la croissance. Pour la période post-1990, les conséquences de la réforme de la politique agricole commune (1992) et le développement de l'agriculture raisonnée sont les principaux facteurs explicatifs de la baisse du marché.

Tableau 7 ■ Évolution du marché Français pour les produits phytosanitaires de 1980 à 2002 (en millions de €).

Marché Français	**1980**	**1985**	**1990**	**1995**	**2000**	**2002**
Herbicides	319	581	758	675	679	742
Insecticides	100	212	321	216	211	170
Fongicides	177	415	717	650	744	748
Autres	43	90	158	202	245	209
Total	639	1 298	1 954	1 743	1 879	1 869

Source : UIPP (Union des industries de la protection des plantes).

Les fongicides des céréales restent le segment leader. Le tableau 8 permet une analyse croisée culture/type de produits pour l'année 2002. Les fongicides, avec près de 44 % du marché total représentent le premier segment, largement dominé par les fongicides céréales qui, à eux seuls, avoisinent près de 25 % du marché français. Nous noterons également que les céréales à paille, vigne et maïs, représentent 75 % de ce marché.

Nous avons vu précédemment, que le marché français était en phase de maturité, en valeur depuis le début des années 90. En parallèle, à cette situation, il faut noter que les quantités de produits phytosanitaires appliquées ont également baissé de manière significative : exprimé en tonnes de matières actives, le marché est resté globalement entre 100 000 et 120 000 tonnes entre les années 1990 et 2000. Depuis 2000, une baisse s'est confirmée, pour atteindre 82 500 tonnes en 2002. Cette forte baisse s'explique en partie par les efforts réalisés par les entreprises de la protection des plantes pour mettre au point de nouvelles substances s'utilisant à de plus faibles doses, mais aussi, par un raisonnement de plus en plus systématique au niveau des agriculteurs, ce qui permet d'optimiser les interventions et les doses

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau 8 ■ Répartition du marché français par culture en 2002 (en %).

Culture	Herbicides	Fongicides	Insecticides	Autres	Total
Céréales	13,9 %	23,2 %	1,1 %	5,8 %	44,0 %
Maïs	7,7 %		1,4 %	3,4 %	12,5 %
Vergers	0,2 %	1,4 %	1,5 %	0,0 %	3,1 %
Vigne	2,8 %	13,5 %	2,3 %	0,0 %	18,6 %
Colza	3,7 %	1,4 %	0,8 %	1,0 %	6,9 %
Maraîchage	0,8 %	1,1 %	0,4 %	0,1 %	2,4 %
Betterave	3,1 %	0,9 %	0,6 %	0,2 %	4,8 %
Pomme de terre	0,5 %	1,2 %	0,1 %	0,5 %	2,3 %
Pois	1,1 %	0,7 %	0,4 %	0,2 %	2,4 %
Tournesol	1,7 %	0,1 %	0,1 %	1,2 %	3,1 %
Total	35,4 %	43,6 %	8,7 %	12,5 %	100 %

Source : UIPP/BVA.

appliquées. Les chiffres préliminaires 2003 confirment cette tendance, avec des quantités qui sont sous le seuil des 80 000 tonnes.

2. *L'industrie phytosanitaire : un secteur en cours de consolidation*

Le secteur phytosanitaire est caractérisé par la recherche et le développement (R&D) de solutions nouvelles, permettant de répondre aux besoins des agriculteurs du monde entier tout en prenant en compte la demande de l'opinion publique, les contraintes réglementaires et environnementales. Dans ce contexte où la majorité des problèmes techniques et agronomiques sont résolus, on assiste en général à des solutions qui se substituent à d'autres et il est extrêmement difficile de valoriser les innovations. On assiste donc depuis la fin des années 70 à un phénomène de concentration du nombre des acteurs.

2.1. Les principaux acteurs au niveau mondial

Au niveau mondial, 15 sociétés sont impliquées dans la recherche et le développement de produits phytosanitaires. Le tableau 9 décrit le poids spécifique des principaux acteurs : on notera que les leaders dans le domaine de la protection des plantes, sont également impliqués dans le secteur semencier et dans les biotechnologies.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Six sociétés représentent les trois quarts du marché mondial des produits phytosanitaires : Bayer, Syngenta, Monsanto, BASF, Dow et DuPont avec des chiffres d'affaires de 1,8 à 6 milliards de USD. Viennent ensuite, avec des chiffres allant de 500 à 800 millions de USD des sociétés présentes, en général sur des segments de cultures ou de zones géographiques plus ciblées : Sumitomo, Makhteshim, FMC et Nufarm.

Tableau 9 ■ Classement des sociétés phytosanitaires en 2002 au niveau mondial (ventes en millions USD).

Rang	Société	Phytosanitaires	Semences et biotechnologies	CA Total
1	Syngenta	5 260	937	6 197
2	Bayer	6 001	175	6 176
3	Monsanto	2 848	1 585	4 433
4	DuPont	1 793	2 016	3 809
5	BASF	2 795	0	2 795
6	Dow	2 525	192	2 717
7	Sumitomo	802	0	802
8	MAI Makteshim-Agan	776	0	776
9	FMC	615	0	615
10	Nufarm	564	0	564
11	Griffin	352	0	352
12	Kumiai	324	0	324
13	Cheminova	284	0	284
14	Ishihara	280	0	280
15	Hokko	268	0	268

Source : Phillips Mc Dougall AgriService.

2.2. Un secteur en permanente évolution

Le marché s'est stabilisé nettement à partir des années 90. En parallèle, les coûts de développement et homologation ont augmenté, l'approche « semences et phytosanitaire » ont fait l'objet d'une accélération forte et certains groupes ont voulu se spécialiser. Il s'en est suivi, entre 1990 et 2002, comme dans d'autres secteurs d'activités, des restructurations fortes et nombreuses. C'est ainsi qu'en 1990, treize sociétés représentaient 80 % du marché, alors qu'elles ne sont plus que six en 2002, Le tableau 10 les énumère et précise les budgets consacrés à la R&D.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau 10 ■ Montants consacrés à la recherche/développement (hors semences et biotechnologies) en 2002 (en millions USD).

Société	Budget R/D	% des ventes
Bayer CropScience	665	11,1 %
Syngenta	425	8,1 %
BASF	270	9,7 %
Dow Agrosciences	208	7,6 %
DuPont	185	10,7 %
Sumitomo Chemical	70	8,7 %

3. *L'industrie phytosanitaire : un secteur strictement réglementé*

3.1. L'approche européenne

La mise sur le marché des produits phytosanitaires est strictement réglementée. Si la loi d'homologation au plan national date de 1943, une directive européenne (directive 91/414/CEE) est venue en prendre le relais en 1993.

Transposé en droit français par un décret en mai 1994, ce texte européen édicte les règles de mise sur le marché des produits phytosanitaires sur le territoire européen.

On peut résumer les points principaux en regardant les conséquences pour les industriels de la protection des plantes :

– les autorisations pour les spécialités commerciales sont données au plan national. Pour les industriels cela implique de déposer des dossiers dans chaque État membre. Si l'on peut parler d'un marché communautaire unique, en revanche il convient de souligner que l'on a maintenant 25 espaces phytosanitaires juxtaposés.

– pour qu'un État membre puisse donner une autorisation pour un produit, il faut que la (ou les) substance(s) active(s) le constituant soit(ent) inscrite(s) sur une liste positive européenne. Le dossier « substances actives » fait donc l'objet d'une évaluation communautaire incluant l'ensemble des États membres. Cet état de fait allonge bien entendu les délais d'évaluation ;

– les exigences pour soumettre les dossiers sont clairement listées et identifiées : pour les dossiers « substances actives », au niveau de l'annexe II de la directive 91/414/CEE et pour les spécialités commerciales, au niveau de l'annexe III de la même directive 91/414/CEE, seuls les dossiers complets peuvent être évalués ;

– la directive prévoit dans son article 8, la révision de l'ensemble des substances actives présentes sur le marché au moment de son entrée en vigueur (juillet 1993). Ceci a impliqué pour les industriels des choix pour déterminer quelles molécules ils

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

décideraient de soutenir. Le coût d'un dossier étant de 30 millions d'euros, il est certain qu'un arbitrage économique intervient. Par ailleurs, les capacités des laboratoires pouvant conduire les études n'étant pas « extensibles », des abandons de molécules sont incontournables. On estime ainsi qu'à la fin 2008 (date à laquelle le travail de révision devrait être terminé), le nombre de substances actives avoisinerait les 350, au lieu des 900 initialement.

3.2. Une évolution constante des exigences

Le principe des dossiers qui sont soumis aux autorités que ce soit pour les substances actives ou pour les produits formulés est simple : regrouper l'ensemble des résultats des études permettant d'aboutir à une juste évaluation des risques pour l'homme (consommateur et applicateur) et l'environnement. Par environnement on entend à la fois le devenir des produits phytosanitaires dans les différents compartiments, air, sol, eau et l'impact sur l'ensemble des écosystèmes.

Les études nécessaires sont, comme nous l'avons déjà mentionné, listées dans les annexes II et III de la directive 91/414/CEE. Ce qu'il convient de souligner c'est que ces listes ne sont pas « figées » et sont évolutives pour prendre en compte de façon continue l'avancée des connaissances : c'est ce qu'on appelle, en termes réglementaires, les « adaptations au progrès technique ». Si l'on remonte en arrière, dans les années 70, la partie écotoxicologique des dossiers était relativement faible, tandis qu'aujourd'hui elle représente, en coût, près du tiers des dépenses nécessaires à la constitution d'un dossier d'homologation. Depuis sa publication en 1991, la directive 91/414 a été complétée par de nombreuses directives pour parfaire ses annexes II et III.

À cet égard, si l'industrie accepte cette évolution à la hausse des exigences, elle le fait sans restriction quand cette dernière correspond au besoin réel de l'évaluation : « nécessité de savoir » (*need to know*) . En revanche, elle attire l'attention sur le danger potentiel d'accroître les exigences par le simple fait d'augmenter la connaissance sans amélioration de l'évaluation des risques : « intéressant mais pas fondamental » (*nice to know*).

3.3. De l'évaluation des risques à la gestion des risques

Il faut rappeler que les dossiers permettent de conduire l'évaluation des risques, préalable indispensable à l'obtention d'autorisation de mise sur le marché. Pour passer de cette évaluation des risques à la mise en marché, il convient de savoir si le risque est acceptable et quelles mesures de gestions de risque sont appropriées. C'est le rôle de l'autorité nationale responsable de répondre à ces questions.

En France, le Comité d'homologation sous la responsabilité du ministère de l'Agriculture joue ce rôle. Une décision d'homologation, c'est la définition d'un usage, d'une dose d'emploi mais aussi les mesures de gestion de risque appropriées (on peut citer le délai de traitement avant récolte, le port de vêtement de protection, l'indicateur de zones non traitées). Ces mesures sont bien sûr essentielles et nous y reviendrons dans la quatrième partie de notre texte (*cf.* 4.2.).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

3.4. Une recherche « plurielle »

Face à des exigences toujours croissantes, les industriels essaient d'apporter des réponses adaptées grâce à leurs activités de recherche, à laquelle ils consacrent chaque année 10 % de leur chiffre d'affaires. C'est ainsi que, bon an mal an, une dizaine de substances actives nouvelles font leur apparition sur le marché mondial avec une priorité clairement définie : offrir des profils toxicologiques et écotoxicologiques toujours plus favorables.

En revanche, résumer la recherche des industriels aux solutions chimiques est grandement limitatif sachant que l'ensemble des solutions de protection des plantes est exploré, que ce soit les moyens biologiques (utilisation de micro-organisme par exemple), ou les voies nouvelles ouvertes par les biotechnologies. Quelle que soit la voie de recherche, les maîtres mots sont efficacité et innocuité : efficacité des solutions proposées et associées à la moindre toxicité possible pour l'homme et l'environnement. Ces orientations que s'imposent depuis de nombreuses années les industriels, sont au final parfaitement en accord avec celles imposées par la réglementation.

4. Des entreprises de plus en plus impliquées pour une gestion responsable des produits

D'une manière générale, la réglementation des produits phytosanitaires évolue vers un usage plus contraignant des produits, avec notamment le programme européen sur « l'utilisation durable des pesticides ». En parallèle et depuis quelques années, les entreprises du secteur de la protection des plantes font évoluer leurs stratégies, leur organisation et leurs offres, afin d'intégrer cette nouvelle donne.

4.1. Les services à côté des produits

Depuis quelques années, les entreprises vont au-delà de la recherche, développement, homologation et communication des produits. En effet, il existe maintenant dans la majorité des entreprises, des équipes dont la mission est d'accompagner les produits et d'optimiser leurs usages auprès des acteurs de la filière (agriculteurs, distributeurs, instituts techniques). Pour dialoguer et travailler avec les acteurs, les services se sont multipliés avec la mise en œuvre d'outils d'information et de pédagogie. Nous citerons par exemple le développement :

– les sites internet, au niveau communication, avec la mise à disposition d'informations spécifiques, par un accès personnalisé sur extranet ;

– les services d'aide à la décision, avec la mise au point d'outils d'aide à la décision (OAD), outils qui permettent d'optimiser les traitements, les programmes et les suivis techniques ;

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

– les services d'assistance en ligne, avec les numéros verts où des spécialistes répondent aux questions sur les produits, les données de sécurité et les utilisations spécifiques des produits ;

– les services spécifiques à la qualité des productions qui existent dans un grand nombre d'entreprises, grâce aux laboratoires d'analyse, aux outils de traçabilité. La formation fait l'objet d'efforts particuliers avec la création de centres de formations destinés aux distributeurs, techniciens et agriculteurs.

4.2. La priorité aux Bonnes pratiques phytosanitaires

À côté des initiatives spécifiques aux entreprises, les organisations professionnelles de la protection des plantes, que ce soit au niveau européen ou au niveau national, mettent en place des programmes qui contribuent à la promotion des Bonnes pratiques phytosanitaires.

Au niveau européen, depuis 1999, l'ECPA a mis en place un projet « *safe use initiative* » (initiative pour une utilisation sécurisée des produits) dans le sud de l'Espagne, dans la zone d'Almeria. Après une phase d'audit préalable sur les pratiques phytosanitaires (raisonnement du traitement, mise en œuvre, réglage du pulvérisateur, protection de l'agriculteur), des formations spécifiques ont été organisées et associées à des actions de communication et d'informations pour les agriculteurs.

À ce jour, grâce à cette initiative, des améliorations significatives sont notées sur la mise en œuvre des produits et le projet sera opérationnel à partir de fin 2004 dans d'autres pays de l'Europe.

Au niveau français, depuis les années 90, l'UIPP (Union des industries de la protection des plantes) a mis en place des actions spécifiques afin de contribuer à une meilleure utilisation des produits phytosanitaires. En général, ces actions sont volontaires et impliquent d'autres acteurs de la filière agricole. On peut citer quatre initiatives :

– la démarche FARRE (Forum de l'agriculture raisonnée et respectueuse de l'environnement). Il s'agit d'une association interprofessionnelle qui a pour vocation de faire connaître les avantages de l'agriculture raisonnée et de contribuer à sa généralisation. Afin de prendre en compte le raisonnement des interventions phytosanitaires de manière plus systématique et de promouvoir les Bonnes pratiques phytosanitaires, les entreprises de la protection des plantes ont toutes participé, au travers de l'UIPP à la mise en place de FARRE en 1993. L'agriculture raisonnée est désormais reconnue au niveau national grâce à un décret publié en avril 2002. Elle compte 402 fermes de démonstration et plus de 1 000 membres. L'UIPP travaille plus particulièrement avec une cinquantaine de fermes, afin de tester des démarches spécifiques pour la prise en compte des mesures prophylactiques, la bonne utilisation des produits et l'évaluation du risque avant toute intervention ;

– l'action « bassins versants ». Afin de concilier production agricole et qualité de l'eau, l'UIPP participe avec d'autres acteurs (Arvalis Institut du végétal, la région Bretagne, le ministère de l'Agriculture, l'Institut de recherche pour l'ingénierie de

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

l'agriculture et de l'environnement (toujours connu sous le nom de CEMAGREF)) à des actions d'expérimentation, de développement et d'aménagement sur le Bassin Versant de la Fontaine du Theil, au nord de l'Ille-et-Vilaine (Bretagne). Cette opération, en place depuis 1997, porte ses fruits et contribue, sans aucun doute, grâce à une dynamique de groupe exemplaire, à la restauration de la qualité de l'eau et à une meilleure mise en œuvre des produits : 88 % du parc des pulvérisateurs est contrôlé, 67 % des pulvérisateurs sont équipés de cuves de rinçage contre 44 % en 1999 et enfin une diminution drastique des teneurs en résidus détectés dans l'eau est notée, puisque nous retrouvons la présence de résidus dans 2 % des échantillons en 2002 contre 22 % en 1999 ;

– l'action ADIVALOR (agriculteurs distributeurs industriels pour la valorisation des déchets agricoles). L'UIPP est à l'origine d'une filière nationale de collecte et d'élimination des emballages plastiques vides et des produits phytosanitaires (EVPP) non utilisables et des produits phytosanitaires non utilisables (PPNU). En 2003, 1 750 tonnes d'EVPP ont été collectées (taux de collecte de 27 %) ainsi que 1 500 tonnes de PPNU, ce qui porte la collecte de PPNU à 3 000 tonnes depuis la mise en place de ce programme). Les objectifs de la filière sont de parvenir à 50 % de taux de collecte pour les EVPP en 2006, ainsi que d'achever le programme de déstockage des PPNU et mise en place d'un dispositif de collecte pérenne autofinancé en 2006. Parmi les perspectives, des procédures de collecte pour les autres types d'emballages (gros bidons, fer, papier, carton) sont à l'étude et seront progressivement mises en place ;

– l'école des Bonnes pratiques. L'UIPP souhaite mettre en place un projet de formation sur les Bonnes pratiques phytosanitaires, en liaison avec les acteurs de la filière. L'objectif est d'apporter les éléments nécessaires aux techniciens et agriculteurs pour la mise en œuvre du produit (depuis l'achat jusqu'à l'élimination des déchets) permettant de mieux maîtriser les risques pour l'environnement et la santé de l'utilisateur et du consommateur. En 2004, s'est développée une phase pilote qualitative, sur trois exploitations agricoles, au cours de laquelle les modules ont été testés auprès de 200 à 600 agriculteurs.

Conclusion

Dans les lignes qui précèdent, nous avons vu que le secteur phytosanitaire, soumis à la demande de l'opinion publique, aux contraintes économiques, réglementaires et environnementales était potentiellement remis en question. Les entreprises de la protection des plantes sont convaincues de leur contribution décisive à l'agriculture durable au service de l'économie des filières agricoles, grâce aux solutions pour une croissance soutenue et une compétitivité améliorée. Elles se préoccupent également de l'environnement pour la sauvegarde des ressources naturelles, et l'optimisation des profils pour les produits et les solutions. Enfin, pour ce qui est de la société, elle favorise une politique de transparence et de dialogue ainsi que la citoyenneté d'entreprise.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

41

Biopesticides : réalités et perspectives commerciales

Catherine Regnault-Roger, Christine Silvy, Claude Alabouvette

Il existe dans la nature de nombreuses molécules ou organismes biologiques susceptibles de contrôler les phytoravageurs et les phytopathogènes. Toutefois, le chemin est long entre la constatation de ces effets, l'étayement scientifique, et la mise en place d'une démarche visant, à partir de ces observations, au développement de spécialités phytopharmaceutiques commercialisables. Celle-ci doit en effet prendre en compte plusieurs aspects liés :

– à l'intérêt technique et aux qualités agronomiques des nouveaux produits proposés ;

– aux contraintes économiques du marché ainsi qu'à la réglementation en vigueur.

Actuellement, divers débats animent la communauté scientifique sur la commercialisation de telles formulations. Comment doivent-elles être considérées ? Quels sont leurs impacts écologiques et économiques ? Quelles réglementations faut-il leur appliquer ? Nous nous proposons dans ce chapitre de nous faire l'écho de ces préoccupations et d'alimenter cette réflexion.

1. Biopesticides : un concept en débat

Plusieurs définitions ont été proposées pour définir les biopesticides. En effet, sur un plan sémantique, le mot inclut, à côté de « pesticides » qui veut dire « tuer les pestes » le préfixe « bios » qui signifie « vie » en grec. Ces deux parties de ce mot sont antinomiques et soulignent que les biopesticides s'inscrivent dans la lutte contre les organismes fléaux et sont basés sur l'utilisation d'agents ou facteurs liés à la vie.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Que recouvrent les termes généraux « d'agents ou facteurs liés à la vie » ? C'est là où se situe un premier débat. Faut-il en effet ne considérer que les seuls organismes vivants ? Dans leur entier, ou une partie d'eux-mêmes ? Les molécules biosynthétisées et les composés extraits d'un organisme vivant, quels qu'ils soient, sont-ils « bio » ? Une origine biologique suffit-elle à les faire prendre en considération sous le vocable de biopesticides? En d'autres termes : quelles sont les limites du concept « biopesticide » ?

Au cours des vingt dernières années, de nombreuses définitions ont été proposées pour préciser le concept de biopesticides parmi lesquelles celles de Hintz (2001), Philogène *et al.* (2002), ainsi que de Silvy et Riba (2003). Hintz a d'ailleurs ouvert un débat sur cette définition au sein du groupe de travail de contrôle biologique de la Société canadienne de malherbologie qu'il préside. Il a recensé les positions de plusieurs auteurs :

– celle de Watson qui en 1991 fait référence à l'utilisation planifiée d'ennemis naturels détruisant ou réduisant une population d'organismes nuisibles jusqu'à ce qu'elle ne présente plus de problème ;

– celle de Van Driesche et Bellows qui précisent en 1995 qu'il s'agit d'utiliser des parasitoïdes, prédateurs, pathogènes ou des populations antagonistes ou compétitives.

Pour ces auteurs, le terme de « biopesticide » doit être réservé à la seule utilisation d'organismes vivants.

Hintz (2001) cite également Smith, qui, à la même époque, élargit cette définition à l'utilisation d'agents biologiques susceptibles, directement ou indirectement, de contrôler les bio-agresseurs. Il abonde dans ce sens en définissant le contrôle biologique des mauvaises herbes comme « *l'utilisation délibérée d'organismes vivants qui, directement ou indirectement, réduisent la vigueur, la capacité de reproduction ou les effets des adventices* », et il indique que le terme de biopesticides peut s'appliquer aux composés dérivés des plantes ainsi que, dans une acceptation plus large, à toute substance issue d'organismes vivants qui exerce un effet protecteur sur les plantes. Il précise même que les biopesticides sont trouvés dans la nature ou peuvent être le résultat de la synthèse chimique.

Cette dernière précision peut surprendre, car le produit d'une synthèse chimique peut-il être qualifié de biologique ? Cette opinion rejoint cependant la définition du groupe de travail « produits naturels » de la commission « méthodes alternatives de lutte » de l'Association française de protection des plantes (AFPP). La définition qu'il a retenu des produits naturels est la suivante. Ce sont des « *substances présentes dans le milieu naturel, d'origine minérale ou organique* » mais aussi « *des produits issus de la synthèse chimique si la molécule reproduit à l'identique le produit naturel* » (Descoins *et al.*, 2003). Un des mots-clés de cette assertion est bien l'expression « *à l'identique* ». En effet, comment différencier les activités physicochimiques et biologiques de deux molécules parfaitement identiques ? Néanmoins, à la notion d'identité parfaite entre le produit naturel et le « produit naturel de synthèse », il serait sans doute prudent d'ajouter la prise en compte du degré de pureté du « produit naturel de synthèse », afin que les deux produits ne

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

puissent être, tant sur le plan physicochimique que sur celui de leur présentation, distingués l'un de l'autre, quel que soit le procédé d'obtention employé (synthèse ou hémisynthèse, extraction à partir d'organismes vivants).

Ainsi, il ressort du débat suscité par Hintz et de l'analyse des activités du groupe « produits naturels » de l'AFPP, que tous les produits naturels ne sont pas des biopesticides et que les biopesticides, s'ils ont tous une identité biologique à l'origine, ne sont pas forcément naturels. Cette précision est d'importance pour le développement de ces produits phytosanitaires. En effet, quand les sources d'approvisionnement naturelles sont restreintes, la copie synthétique de molécules identifiées dans les organismes vivants devient le recours. C'est d'ailleurs le cas des phéromones sexuelles commercialisées qui sont des molécules de synthèse (*cf.* chapitres 31, 32 et 33).

Pour compléter cette discussion sur le concept de « biopesticides », deux cas particuliers d'organismes vivants ou de composés biologiques actifs contre les bio-agresseurs doivent être évoqués : les stimulateurs de défenses naturelles des plantes (SDN) ou éliciteurs, et les organismes génétiquement modifiés (OGM) ainsi que les molécules synthétisées par ces organismes. Peuvent-ils être considérés comme des biopesticides ?

Les éliciteurs sont des composés biotiques ou abiotiques qui stimulent les défenses naturelles des plantes (*cf.* chapitres 2, 26, 34, 35 et la définition donnée dans le chapitre 30). Aussi, pour autant qu'ils soient de nature biotique, on ne voit pas ce qui s'opposerait à les considérer comme des biopesticides car ils rentrent parfaitement dans la définition proposée par Hintz. Se pose alors la question : comment considérer les éliciteurs abiotiques dont on connaît la diversité puisqu'il peut s'agir d'agents physiques ou minéraux ? En réalité, les SDN sont, pour le moment, catalogués en France par la Commission des matières fertilisantes et des supports de culture (CMFSC) du ministère de l'Agriculture français comme « phytostimulants ». Ce vocable recèle deux catégories de produits différents : sont considérés comme phytostimulants des substances qui « *modifient soit le métabolisme végétal secondaire de certaines parties de plantes, ce qui permet à ces plantes de résister à des stress abiotiques ou à des attaques de certains bio-agresseurs, soit le métabolisme de micro-organismes des sols qui exacerbent alors la production de métabolites particuliers favorisant la nutrition minérale des plantes* » (CMFSC, 2004). On le voit, cette définition regroupe à la fois des éliciteurs et des matières fertilisantes (biostimulants, biofertilisants). Tous les phytostimulants ne s'inscrivent donc pas dans l'éventail des moyens de lutte contre les ravageurs et les pathogènes. La CMFSC constate que la plupart des phytostimulants ont une origine biotique, et propose que soit créé pour ces composés un statut particulier, qui les placerait dans « *une catégorie d'intrants agricoles ou horticoles à part entière, distincte des phytopharmaceutiques et des matières fertilisantes et supports de culture* ». Avant leur mise sur le marché, ces substances seraient tenues de satisfaire aux tests de toxicologie et d'écotoxicologie et de prouver leur innocuité comme les autres matières fertilisantes et supports de culture, ce qui *in fine* les dispenserait de la procédure d'homologation des produits phytopharmaceutiques.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Les OGM, et les molécules qu'ils synthétisent, sont des organismes vivants, ou des produits issus de processus métaboliques d'êtres vivants après modification de leur génome. *Stricto sensu*, d'après la définition énoncée ci-dessus, les substances synthétisées par des OGM et inclus dans des formulations phytopharmaceutiques, seraient donc des biopesticides. Mais faut-il considérer les plantes génétiquement modifiées, dont la culture devrait limiter les intrants agrochimiques associés à la production végétale, comme des « organismes biopesticides » ? Ce qui amène la question suivante : l'utilisation des biopesticides a-t-elle des avantages par rapport à la lutte chimique classique et aux autres formes de lutte ?

L'approche mettant en jeu les biopesticides s'appuie sur les progrès accomplis, au cours des trente dernières d'années, dans la connaissance des relations interspécifiques. Basée sur l'utilisation d'organismes vivants (antagonistes ou compétiteurs) ou de composés biosynthétisées pour un meilleur contrôle des bio-agresseurs, elle fonde l'espoir de méthodes phytosanitaires plus respectueuses de l'environnement dans la mesure où on puise dans la nature même les instruments mis en œuvre. Le contrôle ponctuel, au niveau des champs cultivés, de bio-agresseurs par d'autres espèces qui co-existent dans le biotope ou par des composés biologiques biodégradables ne doit pas affecter durablement l'équilibre global des écosystèmes.

En revanche, les études sur les effets non intentionnels de l'utilisation des OGM dans l'agriculture et l'environnement sont actuellement loin – et c'est un euphémisme – d'être achevées (Rissler et Mellon, 1996 ; *cf.* chapitres 36 et 37). Bien qu'ils soient biologiques, ces OGM ne sont pas le point d'aboutissement d'un processus naturel de co-évolution des espèces. Réalisés artificiellement par génie génétique en s'affranchissant parfois de la barrière des espèces, de nombreuses inconnues subsistent à leur égard. C'est pourquoi, dans l'état actuel de nos connaissances, il apparaîtrait hasardeux de les intégrer dans le concept de « biopesticides », dans la mesure où l'idée-force de ce concept est de permettre la satisfaction des besoins alimentaires de l'espèce humaine en toute sécurité, tout en préservant l'environnement. Or, ces deux points, sécurité alimentaire et impacts environnementaux, ne sont pas, pour les OGM, assurés aujourd'hui. Par conséquent, il est plus que jamais indispensable que soient poursuivies, en s'entourant des précautions d'usage régissant les études scientifiques, les bio-essais en laboratoire ou en conditions naturelles (*cf.* chapitre 37). Ces expériences apporteront des réponses aux préoccupations que génère cette nouvelle approche de protection des cultures.

Ces débats sur le concept de biopesticides, trouvent un écho dans les règlements phytosanitaires qui ont été édictés ces dernières années dans différents pays. L'administration américaine, dont on connaît les positions favorables à l'égard des OGM, à travers son organisme en charge de la protection de l'environnement, l'EPA (*Environmental Protection Agency*), distingue les biopesticides des autres pesticides à partir de critères précis (tableau1), et les classe en trois catégories :

– les biopesticides microbiens, dont l'élément actif est un micro-organisme ;

– les composés protecteurs des plantes (*plant incorporated protectant*), qui sont des substances pesticides produites par les plantes dont le génome a été modifié ;

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

– les pesticides biochimiques qui sont des substances naturelles et qui contrôlent les bio-agesseurs par des mécanismes non toxiques comme les phéromones par exemple.

Tableau 1 ■ Définition et critères retenus par l'Agence de protection de l'environnement (EPA : *Environnemental Protection Agency*, États-Unis) pour les biopesticides. (D'après http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides (2004).)

Définition	Certains pesticides dérivés de matériaux naturels comme les animaux, les plantes, les bactéries et certains minéraux.
Critères	– Habituellement et par sa nature moins toxique que les pesticides chimiques (*conventional*). – Actif seulement sur sa cible ou des organismes qui lui sont étroitement apparentés. – Efficace en très petite quantité. – Se décompose souvent rapidement. – Quand il est utilisé comme agent dans les programmes de la lutte intégrée, il provoque une forte diminution de l'utilisation des pesticides chimiques tandis que les rendements agricoles restent élevés.

On voit que la réglementation américaine considère que les molécules biosynthétisées par les OGM sont des biopesticides. Bien plus, sous le vocable de pesticides d'origine végétale (*plants pesticides*), l'EPA ne prend en considération que « *les substances des plantes issues de l'addition de matériel génétique à la plante* » et précise que, par exemple, dans une plante transgénique modifiée par *Bacillus thuringiensis*, seuls le cristal (inclusion parasporale protéique à caractère protoxique) issu du transgène et le transgène lui-même sont soumis à la réglementation spécifique des biopesticides, mais pas la plante en elle-même (EPA, 2004).

En Europe, la situation est différente. La directive 91/414/CEE du 15 juillet 1991, qui s'applique à tous les produits phytopharmaceutiques, sans distinguer les produits d'origine biologique, a été complétée par la directive 2001/36/CE du 16 mai 2001. On considère désormais qu'il existe deux catégories : les substances chimiques (dont les substances naturelles) et les micro-organismes. Par conséquent, il n'existe pas pour la réglementation européenne une catégorie spécifique de biopesticides : seuls sont distingués du lot commun les pesticides microbiens (*cf.* chapitres 26 et 46). On précisera cependant que la spécificité des biopesticides est actuellement débattue dans les instances européennes en vue d'adopter de nouvelles mesures prenant en compte leurs particularités (Alabouvette, 2003). Par ailleurs, les OGM ont fait l'objet de directives, règlements et décisions distincts, qui demandent aux États membres de prendre toutes les mesures appropriées pour éviter les effets négatifs, sur la santé humaine et l'environnement, pouvant résulter de la dissémination volontaire ou de la mise sur le marché d'OGM (*cf.* chapitre 46). Ainsi, les OGM et produits des OGM font l'objet d'une réglementation spécifique en Europe. Ils ne sont pas concernés par la réglementation appliquée à l'ensemble des substances antiparasitaires et phytosanitaires.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Cette discussion sur le concept de « biopesticides » montre bien que le terme « bio » prime sur celui de « pesticide ». Loin d'une mauvaise interprétation qui pourrait conduire à considérer qu'un biopesticide « tue la vie », le biopesticide est préconisé pour un meilleur respect des biocénoses et de l'environnement. Il en est pour preuve que certains de leurs modes d'action n'ont aucun effet létal sur les populations de pathogènes ou de prédateurs. C'est pourquoi certains chercheurs et utilisateurs de biopesticides pensent préférable de ne pas utiliser ce terme et préfèrent parler de « *produits de protection des plantes à base d'agents biologiques ou de produits naturels* ». Mais substituer un seul nom par une périphrase n'est pas de nature à populariser l'emploi de cette dernière.

2. *Biopesticides : état de l'art*

Des considérations précédentes, il ressort qu'il existe plusieurs catégories de biopesticides :

– les biopesticides à base d'organismes vivants parasites, antagonistes ou compétiteurs ;

– les biopesticides basés sur des substances biologiques naturelles.

La figure 1 montre l'importance des différentes catégories de biopesticides recensés sur le marché mondial (en y incluant les produits issus de la transgénèse).

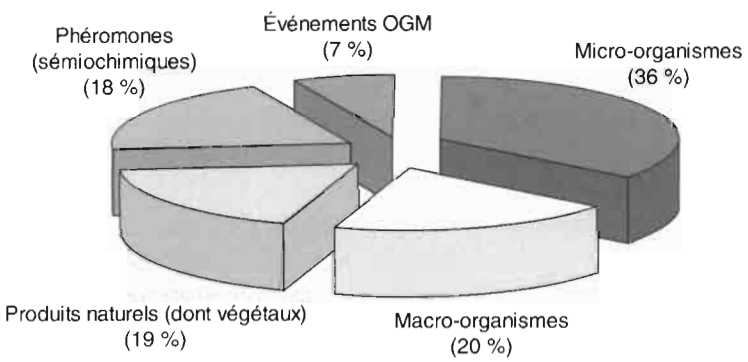


Figure 1 ■ Importance des catégories de biopesticides commercialisés basée sur le dénombrement des matières actives (selon Copping, 2001).

2.1. Biopesticides à base d'organismes vivants

Une revue très complète a été réalisée récemment (Silvy et Riba, 2003) sur les principaux biopesticides commercialisés à base d'organismes vivants. Une grande diversité d'organismes biologiques est utilisée dans des formulations.

On y trouve :

– des bactéries entomopathogènes, ou antagonistes de champignons pathogènes ;

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

– des virus entomopathogènes, ou des mycovirus entrainant une hypovirulence des souches fongiques et des phages lysant des bactéries ;
– des champignons entomopathogènes, herbicides, ou antagonistes ;
– des protozoaires entomopathogènes ;
– des arthropodes parasitoïdes et prédateurs ;
– des nématodes entomopathogènes ou mycophages.

Le tableau 2 donne quelques exemples d'organismes vivants utilisés dans la lutte biologique.

Si de nombreuses espèces sont potentiellement biopesticides, il faut cependant constater que les succès rencontrés sur le terrain ont des fortunes diverses. Ainsi, Silvy et Riba (2003) observent qu'à peine 10 % des 6 000 programmes de lutte biologique utilisant des parasitoïdes contre les insectes ont été couronnés de succès tandis que l'utilisation de prédateurs, beaucoup moins spécifiques, s'est, elle, révélée plus efficace.

Par ailleurs, le micro-organisme le plus utilisé, *Bacillus thuringiensis* (90 % des formulations bioinsecticides commercialisées) provoque déjà des cas de résistance. En effet, sur les 50 000 souches isolées dans le monde, seules quelques variétés correspondant à un nombre restreint de sérotypes (parmi lesquels les sérotypes *kurstaki, aizawa* et *morrisoni* occupent une place de choix), sont commercialisées. Ces résistances restent cependant des cas marginaux, puisque seules 15 espèces d'insectes (sur plus d'un million d'espèces recensées dont environ 10 000 nuisibles) seraient concernées.

Quand la lutte biologique repose sur l'application d'une population d'agents antagonistes aux modes d'action divers, il est vraisemblable que l'apparition d'une résistance à l'agent de lutte sera beaucoup plus lente. Comme nous l'avons vu précédemment, la plupart des agents biologiques utilisés pour lutter contre des maladies fongiques possèdent plusieurs modes d'action s'exprimant simultanément ou successivement (*cf.* chapitres 2 et 26). Il devient alors difficile pour la population cible de développer des stratégies d'adaptation à ces différents modes d'action. De plus, au sein de la population d'agents de lutte, même correctement sélectionnée, il existe une certaine diversité qui, elle aussi, s'oppose à une adaptation rapide de la population cible. Enfin, quelle que soit l'espèce antagoniste utilisée, et même si le mode d'action prédominant n'est ni la compétition pour les sources trophiques, ni l'induction de résistance chez la plante, ces deux modes d'action ne sont jamais totalement exclus. Ce sont deux mécanismes complexes pour lesquels il est difficile de mettre en œuvre des stratégies de contournement ou d'adaptation. Cependant, les chercheurs se préoccupent déjà de la durabilité des méthodes de lutte biologique et des programmes de recherche ont été engagés dans plusieurs pays.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau 2 ■ Biopesticides à base de macro-organismes et micro-organismes commercialisés en France en 2004.
(D'après l'*Index phytosanitaire ACTA* 2004 (Association de coordination technique agricole) (Couteux et Lejeune, 2004).)

A. Insectes entomophages

Insectes	Spécialité	Société	Cible	Cultures
Adalia bipunctata	Adalia bipunctata Adalia-system	Biotop Biobest	Pucerons	Cultures fruitières et ornementales
Anagrus atomus	Ana-line a Anagsure Anagrus System	Syngenta Bioline Certis/BCP Biobest	Cicadelle de la tomate (*Hauptidia maroccana*)	Cultures sous serre
Anthocoris nemoralis	Anthocoris-system Anthocoris nemoralis	Biobest Biotop	Psylles	Cultures fruitières
Aphelinus abdominalis	Aphelinus-system Aphelline ab Aphelinus abdominalis Aphilin Aphelsure	Biobest Syngenta Bioline Biotop Koppert Certis/BCP	*Macrosiphum euphorbiae* (puceron vert de la tomate)	Cultures légumières et ornementales sous serre
Aphidius colemani	Aphidius-system Aphi-line c Aphipar Aphidius colemani Aphisure	Biobest Syngenta Bioline Koppert Biotop Certis/BCP	Pucerons (*Myzus persicae*, *Aphis gossypii*)	Cultures légumières et ornementales sous serre
Aphidius colemani *& Aphidius ervi*	Aphidimix-250-systems Aphidimix-500-systems	Biobest	Pucerons	Cultures légumières et ornementales sous serre
Aphidoletes amphidimyza	Aphidoletes-system Aphidoline a	Biobest Syngenta Bioline	Pucerons	Cultures légumières et ornementales sous serre

	Aphidend Aphidoletes amphidimyza Aphidosure a	Koppert Biotop Certis/BCP		
Atheta coriaria	Atheta-system Staphyline c	Biobest Syngenta Bioline	Mouche des terreaux (*Scatella sp.*, *Bradysia sp.*)	Cultures ornementales
Chrysoperla carnea	Chrysopa MC-500 system Chrysoperla Chrysoline c Chrysopure	Biobest Koppert Syngenta Bioline Certis/BCP	Pucerons	Cultures ornementales
Cryptolaemus montrouzieri	Cryptolaemus-system Cryptoline m Cryptobug	Biobest Novartis Koppert	Cochenilles (*Planococcus*, *Pseudococcus*)	Agrumes et cultures ornementales sous serre
Dacnusa sibirica	Dacnusa-system Dacline s Minusa Dacnusa sibirica Dacsure	Biobest Syngenta Bioline Koppert Biotop Certis/BCP	Mouche mineuse des feuilles (*Liriomyza sp.*)	Cultures légumières et ornementales sous serre
Delphastus pusillus	Delphastus-system Delsure	Biobest Certis/BCP	Aleurode des serres (*Trialeurodes vaporariorum*)	Cultures légumières sous serre
Diglyphus isaea	Diglyphus-system Digline i Diglyphus isaea Miglyphus Digsure	Biobest Syngenta Bioline Biotop Koppert Certis/BCP	Mouche mineuse des feuilles (*Liriomyza sp.*)	Cultures légumières et ornementales sous serre
Diglyphus isaea *& Dacnusa sibirica*	Dacnusa mix-system Minex Dacdigline si Dacsure	Biobest Koppert Syngenta Bioline Certis/BCP	Mouche mineuse des feuilles (*Liriomyza sp.*)	Cultures légumières et ornementales sous serre

Tableau 2 (suite) ■ Biopesticides à base de macro-organismes et micro-organismes commercialisés en France en 2004.
(D'après l'*Index phytosanitaire ACTA* 2004 (Association de coordination technique agricole) (Couteux et Lejeune, 2004).)

A. Insectes entomophages (suite)

Insectes	Spécialité	Société	Cible	Cultures
Encarsia formosa	Encarsia system Encarline f Encarsia Formosa En-strip Encarsia Encsure	Biobest Syngenta Bioline Biotop Koppert GIE La Croix Certis/BCP	Aleurode des serres (*Trialeurodes vaporariorum*)	Cultures légumières et ornementales sous serre
Encarsia formosa *& Eretmocerus eremicus*	Enermix Encarline Mix Eretmix-system	Koppert Syngenta Bioline Biobest	Aleurode des serres (*Trialeurodes vaporariorum*)	Cultures légumières et ornementales sous serre
Episyrphus balteatus	Episyrphus-system	Biobest	Pucerons	Cultures légumières et ornementales sous serre
Eretmocerus eremicus	Eretmocerus-system Eretmocerus eremicus Eretsure Ercal Eretline c	Biobest Biotop Certis/BCP Koppert Syngenta Bioline	Aleurode des serres (*Trialeurodes vaporariorum*)	Cultures légumières et ornementales sous serre
Eretmocerus mundus	Mundus-system Eretmocerus mundus Bemipar	Biobest Biotop Koppert	Aleurode (*Bemisia tabaci*)	Cultures légumières et ornementales sous serre
Feltiella acarisuga	Therodiplosis-system Theroline p Feltiella acarisuga	Biobest Novartis BCM Biotop	Acariens	Cultures légumières et ornementales sous serre

	Felsure Spidend Theroline p	Certis/BCP Koppert Syngenta Bioline		
Harmonia axyridis	Harmonia-system Harmonia	Biobest Biotop	Pucerons	Cultures légumières et ornementales sous serre
Leptomastix dactylopii	Leptomastix-system Leptoline d Leptomastix dactylopii Leptosure	Biobest Syngenta Bioline Koppert Certis/BCP	Cochenilles (*Planococcus citri*)	Cultures ornementales sous serre
Macrolophus caliginosus	Macrolophus-system Macrolophus-N-system Mirical Macrosure c Macrolophus caliginosus Macroline c	Biobest Biobest Koppert Certis/BCP Biotop, GIE La Croix Syngenta Bioline	Aleurodes	Cultures légumières sous serre
Muscidifurax raptor	Biopar	Koppert	Mouche domestique (*Musca domestica*)	Locaux d'élevage poules pondeuses, logements animaux domestiques
Ophyra aenescens	Bio-fly	Koppert	Mouche domestique (*Musca domestica*)	Locaux d'élevage poules pondeuses, logements animaux domestiques
Orius insidiosus, majusculus, laevigatus	Orius-system Orius laevigatus /Orius majusculus Oriline Thripor Orisure	Biobest Biotop Syngenta Bioline Koppert Certis/BCP	Thrips (*Frankliniella occidentalis*)	Cultures légumières et ornementales sous serre

Tableau 2 (suite) ■ Biopesticides à base de macro-organismes et micro-organismes commercialisés en France en 2004.
(D'après l'*Index phytosanitaire ACTA* 2004 (Association de coordination technique agricole) (Couteux et Lejeune, 2004).)

A. Insectes entomophages (suite)

Insectes	Spécialité	Société	Cible	Cultures
Ophyra aenescens	Bio-fly	Koppert	Mouche domestique (*Musca domestica*)	Locaux d'élevage poules pondeuses, logements animaux domestiques
Podisus maculiventris	Podisus-system	Biobest	Chenilles défoliatrices	Cultures légumières et ornementales sous serre
Stethorus punctillum	Stethorus-system	Biobest	Acariens	Concombre, fraisier
Trichogramma evanescens	Tricholine e Trichogramma evanescens Tricho-strip Evanescens-system	Syngenta Bioline Biotop Koppert Biobest	Chenilles défoliatrices (*Mamestra brassicae*, *Chrysodeixis chalcites*, *Laconebea oleracea*)	Cultures légumières sous serre et plein champ
Trichogramma evanescens & Trichogramma brassicae	Trichogramme-serre	Biotop	Chenilles défoliatrices	Cultures légumières et ornementales
Trichogramma maidis	Pyratyp TR16	BASF Agro SAS INVIVO/Biotop	Pyrale du maïs (*Ostrinia nubilalis*)	Maïs

B. Acariens entomophages et acarophages

Acariens	Spécialité	Société	Cible	Cultures
Amblyseius californicus	Californicus-system Ambsure Amblyseius californicus	Biobest Certis/BCP Biotop	Acariens phytophages	Cultures légumières et ornementales, sous serre et plein champ

	Ambly-line cal Spical	Syngenta Bioline Koppert		
Amblyseius cucumeris	Amblysieus-breeding-system Amblyseius-system Amblyseius-vermiculite-system Ambly-line cu Ambly-line cu CRS Thripex Thripex plus Amblyseius cucumeris Ambsure	Biobest Biobest Biobest Syngenta Bioline Syngenta Bioline Koppert Koppert Biotop Certis/BCP	Thrips	Cultures légumières et ornementales sous serre
Amblyseius degenerans	Degenerans-system Ambly-line d Thripans Ambsure Amblyseius degenerans	Biobest Syngenta Bioline Koppert Certis/BCP Biotop	Thrips	Cultures légumières et ornementales. Poivrons
Hypoaspis aculeifer	Aculeifer-system	Biobest	Acariens	Concombre, fraisier
Hypoaspis miles	Hypoaspis-system Hypo-line m Hyposure Hypoaspis miles	Biobest Syngenta Bioline Certis BCP Biotop	*Sciaridae*	Cultures légumières sous serre
Phytoseiulus persimilis	Phytoseiulus-system, Phytoseiulus-T-system Phyto-line p Spidex Phytosure Phytoseiulus persimilis	Biobest Biobest Syngenta Bioline Koppert Certis/BCP Biotop	Tétranyques (*Tetranychus urticae*)	Cultures légumières et ornementales, sous serre et plein champ

Tableau 2 (suite) ■ Biopesticides à base de macro-organismes et micro-organismes commercialisés en France en 2004.
(D'après l'*Index phytosanitaire ACTA* 2004 (Association de coordination technique agricole) (Couteux et Lejeune, 2004).)

C. Virus entomopathogènes

Virus	Spécialité	Société	Cible
Virus de la granulose du carpocapse des pommes et des poires	Carpovirusine 2000	Calliope/NPP	Carpocapse des pommes et des poires
Virus de la polyédrose nucléaire de *Mamestra brassicae*	Mamestrin	Calliope/NPP	Noctuelle du chou (*Mamestra brassicae*)

D. Nématodes

Nématodes	Spécialité	Société	Cible	Cultures
Heterorhabditis megidis	Heterorhabditis-system Larvanem Exhibitline HM Heterosure	Biobest Koppert Syngenta Bioline Certis/BCP	*Otiorhynchus sulcatus*	Fraisier Cultures légumières et ornementales
Heterorhabditis bacteriophora	B-GREEN Larvanem	Biobest Koppert	Coléoptères	Cultures fruitières, ornementales, gazons
Phasmarhabditis hermaphrodita	Phasmarhabditis-system	Biobest	Limaces	Cultures légumières et ornementales
Steinernema carpocapsae	Exhibitline SC	Syngenta Bioline	Otiorhynques	Cultures ornementales (plein champ, pépinières)
Steinernema feltiae	Steinernema-system Entonem Exhibitline SF	Biobest Koppert Syngenta Bioline	*Sciaridae*, Mouches des terreaux	Cultures légumières et ornementales (plein champ, pépinières)

Steinernema kraussei	Exhibitline SK	Syngenta Bioline	Otiorhynques du fraisier	Fraisier, cultures ornementales (plein champ, pépinières)

E. Champignons entomopathogènes

Champignons	Spécialité	Société	Cible	Cultures
Beauveria bassiana 147 (spores)	Ostrinil	Calliope/NPP	Pyrale du maïs (*Ostrinia nubilalis*)	Maïs
Beauveria tenella 96	Betel	Betel Réunion	Ver blanc de la canne à sucre (*Hoplochelus marginalis*)	Canne à sucre
Paecilomyces fumosoroseus	Preferal	Biobest	Aleurode des serres	Concombre, tomate, cultures florales

F. Préparations commerciales à base de champignons utilisés contre les agents phytopathogènes

Champignons	Spécialité	Société	Cible	Cultures
Coniothyrium minitans	Contans WG	Belchim Crop Protection	*Sclerotinia sclerotiorum*, *S. minor*, *S. trifoliorum*	Colza
Cryphonectria (*Endothia*) *parasitica*	Endothia parasitica	CNICM	Chancre du châtaignier (*Endothia parasitica*)	Châtaignier

Tableau 2 (suite) ■ Biopesticides à base de macro-organismes et micro-organismes commercialisés en France en 2004.
(D'après l'*Index phytosanitaire ACTA* 2004 (Association de coordination technique agricole) (Couteux et Lejeune, 2004).)

G. Préparations commerciales à base de *Bacillus thuringiensis*

Nom	Spécialité	Société	Cible	Cultures
Bacillus thuringiensis sérotype 3a 3b	Delfin	AgriSense/Certis	Pyrale du riz	Riz, vigne, cultures fruitières, Cultures légumières, cultures forestières
	Biobit 2X	BASF Agro SAS/ Valent Biosciences	Tordeuses de la vigne Tordeuses, mineuses, carpocapse, chenilles défoliatrices des arbres fruitiers	
	Scutello	Biobest	Processionnaire du pin	
	Scutello 2x	Biobest/Valent Biosciences	Bombyx disparate	
	Batik, Batik UBV	Calliope/NPP	Tordeuse grise du mélèze	
	Bactifog	Dreyfus-Herschtel	Tordeuse verte du chêne	
	Bacivers	Laboratoires Goëmar/ Valent Biosciences	Chenille processionnaire du chêne	
	Dipel poudre mouillable	Plantin		
	Dipel 8L, Dipel PM Jardin,	Valent Biosciences		
	Insectobiol, Insectobiol 2X,	Samabiol		
	Insectobiol L, Insectobiol M	Samabiol		
	Foray 48B, Foray 96B	Valent Biosciences		
	Bactura	Valent Biosciences/Koppert		
	Dipel DF	Valent Biosciences/Philagro France		
	Dipel 2X	Valent Biosciences/Philagro France/Plantin		
Bacillus thuringiensis sp. tenebrionis	Novodor FC 3%	Valent Biosciences/Koppert/Biobest	Doryphores	Pomme de terre, aubergine

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

2.2. Biopesticides à base de substances biologiques naturelles

Il s'agit essentiellement des composés sémiochimiques. Les phéromones et les molécules allélochimiques de plantes représentent actuellement une part importante des composés développés commercialement. Certains auteurs anglo-saxons y rangent également les éliciteurs biotiques (Copping, 2001). Dans un souci de logique scientifique, nous procéderons de la même façon, même si ces substances ne sont pas classées, d'un point de vue administratif, parmi les produits phytosanitaires (*cf.* 1.).

2.2.1. Les phéromones

Les phéromones, qui interviennent dans la communication intraspécifique, sont principalement utilisées pour perturber le comportement des insectes ou les attirer dans des pièges (*cf.* chapitres 31, 32 et 33). Deux stratégies sont essentiellement mises en œuvre basées sur :

– l'utilisation d'hormones sexuelles qui visent à gêner le renouvellement des générations en empêchant les accouplements (technique de la « confusion sexuelle ») ou en décimant les mâles (piégeage sexuel par une hormone femelle sexuelle associée à un piège englué qui capture le mâle : cette utilisation des phéromones vise aussi à la détection des ravageurs dans les cultures) ;

– l'utilisation d'une phéromone d'agrégation qui attire mâles et femelles dans un piège contenant, outre la phéromone, un insecticide puissant (technique « *lure and kill* »).

Plusieurs familles de molécules sont identifiées comme phéromones, parmi lesquels des dérivés d'acides gras, d'alcaloïdes et de terpènes (Strebler, 1989 ; Howse *et al.*, 1998). Toutefois, ce sont des phéromones de synthèse qui sont commercialisées (*cf.* 1.), et seul un petit nombre de molécules fait l'objet de ces synthèses. La fabrication de phéromones de synthèse n'est assurée que par un nombre restreint de sociétés : 80 % de la production sont assurés par 20 sociétés (Redbond, 2003). Les sociétés japonaises ont été pionnières dans le secteur (société Shin-Etsu Chemicals Co Ldt). Avec le développement de ces composés, d'autres sociétés, comme la société canadienne Phero Tech Inc., se sont spécialisées dans la production d'hormones de synthèse et de pièges. Cette société par exemple commercialise le QMP® (*queen mandibular pheromone*) et le Nasonov®. La société américaine Hercon Environmental Inc. commercialise aussi des produits à base de phéromones comme le Disrupt® ou le Luretape® et des pièges associés comme les Scout® Insect Traps (http:// Hercoenviron.com/products.stm). En France, BASF Agro, avec la gamme des produits Rak®, occupe un segment important du marché. L'*Index phytosanitaire* de l'Association de coordination technique agricole ACTA (Couteux et Lejeune, 2004) dénombre sur le marché français moins de dix molécules actives pour la confusion sexuelle et phéromones d'aggrégation commercialisées (tableau 3), tandis que Copping (2001) en répertorie un peu plus d'une cinquantaine dans le monde entier.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau 3 ■ Biopesticides à base de phéromones commercialisés en France en 2004.
(D'après l'*Index phytosanitaire ACTA* 2004 (Association de coordination technique agricole) (Couteux et Lejeune, 2004).)

Spécialité	Substances actives	Type de phéromone	Société	Cible
Rak 5	Acétate de-8 dodécényle	sexuelle	COMPO horticulture	Tordeuse orientale de l'abricotier et du pêcher
Rak 2	E7-Z9-dodécadiényl acétate	sexuelle	BASF Agro SAS	Tordeuse de la vigne
Rak 1	Z9-dodécényl acétate	sexuelle	BASF Agro SAS	Tordeuse de la vigne
Rak 1+2	Z9-dodécényl acétate + E7-Z9-dodécadiénylacétate	sexuelle	BASF Agro SAS	Tordeuse de la vigne
Ecopom	E8, E10-dodécadiène-1-ol (codlémone)	sexuelle	Biotop	Carpocapse du pommier, du poirier, du cognassier, du nashi
Ginko Isomate-C	E8, E10-dodécadiène 1-OL + 1-dodécanol + 1-tétradécanol	sexuelle	SumiAgro	Carpocapse du pommier, du poirier, du cognassier, du nashi
Phéroprax	Méthyl-buténol + S-6-verbénol	Phéromone d'agrégation	BASF Agro SAS	Scolyte de l'épicéa

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

*2.2.2. Composés sémiochimiques allélochimiques végétaux (***botanicals***)*

Les composés allélochimiques sont impliqués dans la communication interspécifique et sont abondants dans les plantes (*cf.* chapitre 29). Les plus commercialisés sont actuellement le pyrèthre et la roténone. Ces composés végétaux, utilisés depuis très longtemps (Philogène *et al.*, 2002), connaissent depuis une dizaine d'années un regain d'intérêt avec le développement de l'agriculture biologique qui en autorise l'emploi. Plus récemment, de nouvelles sources de composés d'origine végétale se développent dans différents pays avec des fortunes diverses qui sont largement fonction des procédures d'homologation en vigueur (*cf.* 3.4.) : le tableau 4 recense les extraits végétaux commercialisés actuellement en France.

Le produit phare de cette nouvelle génération est indubitablement le « neem », margousier ou *Azadirachta indica* dont le principe actif est l'azadirachtine, largement commercialisé en Asie et qui se développe de plus en plus sur le marché nord-américain. En réalité, l'extrait de neem contient une centaine de molécules parmi lesquelles une douzaine d'analogues à l'azadirachtine. Mais seuls deux composés ont une activité significative comme inhibiteur de croissance. Tous les composés identifiés dans l'extrait brut de neem ne présentent d'ailleurs pas la même activité : ainsi les salanines et les nimbines sont des antiappétants (Isman, 1997). Déjà testé sur plus de 300 insectes parmi lesquels les noctuelles, les cicadelles, les tordeuses et les Curculionidés, ou le doryphore (Coléoptère), l'azadirachtine est maintenant commercialisée sous un grand nombre de formulations dans de plus en plus de pays : Azatin®, Turplex®, Align® (société Agridyne, États-Unis), Margosan-O® (société Grace Sierra, États-Unis), Neem-Azal® (société Trifolio-M GmbH, Allemagne), Neemix 4.5® (Thermo Trilogy Corporation, Canada), etc.

À partir des recherches effectuées sur les propriétés entomotoxiques des molécules végétales, comme les glucosinolates et les substances soufrées des *Allium*, ou les terpènes, de nouveaux produits ont été mis sur le marché : des extraits d'ail purement insecticides portent les noms de Bio Crack® au Mexique, Guardian Spray® devenu ENVIRepel®, Garlic Barrier® en Californie, ECOguard® et ALSA® en Europe (Auger et Thibout, 2002), des composés terpéniques comme le Cinméthyline® à base de 1,8-cinéole (Chiapussio *et al.*, 2002), ou encore le Beetleball Technical® (Taensa Inc.) à base d'estragole (EPA, 2004).

Enfin, une dernière catégorie d'extraits végétaux, les huiles essentielles, connaît actuellement un développement spectaculaire, en dépit du fait de leur hétérogénéité sur le plan chimique puisqu'un extrait recèle plusieurs dizaines de molécules et que sa composition est affectée par de nombreux facteurs (Regnault-Roger, 2002). Les huiles essentielles sont utilisées dans la lutte phytosanitaire et leurs usages se développent en particulier aux États-Unis, puisqu'elles sont exemptées de la procédure d'homologation auxquelles sont soumis les produits phytosanitaires (Isman, 2002). Les produits des sociétés Bioganic Safety Brands® (http://bioganic.com/products) ou EcoPCO® (http:// ecopco.com/products) en sont des exemples.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau 4 ■ Molécules allélochimiques et extraits végétaux commercialisés en France en 2004.
(D'après l'*Index phytosanitaire ACTA* 2004 (Association de coordination technique agricole) (Couteux et Lejeune, 2004).)

Extrait/ composé végétal	Nom spécialité	Société	Usage
Molécules allélochimiques seules ou en association			
Pyréthrine	Batineb Bio jardin U.L.V.	Phagogène AEDES	Arbres fruitiers et d'ornement, cultures florales (pucerons) Insectes des locaux de stockage des cultures et bâtiments d'élevage
Pyréthrine + perméthrine	Fumithrine P	L.C.B.	traitement des locaux de stockage des cultures et bâtiments d'élevage (insecticide)
Pyréthrine + butoxyde de pipéronyle	Aquapy Pybuthrin 2/16 Predex PB Pyretrex Fogger Batineb bio pulvé Batineb bio aérosol	Bayer Hygiène Bayer Hygiène Edialux Edialux Phagogène Phagogène	Insectes du tabac (*Ephestia* et *Lasioderma*) et des céréales (alucite et charançons) Traitement des locaux de stockage, matériel agricole et bâtiments d'élevage (insecticide)
Pyréthrine + butoxyde de pipéronyle + *Bacillus thuringiensis* (*Bt*)	Bactospeine Jardin liquide sovico	Scotts France SAS	Arbres et arbustes d'ornement (pucerons, bombyx disparate), rosier (pucerons, noctuelles), arbres fruitiers (pucerons, cheimatobie, hyponomeute), chou (piéride)
Roténone	Phytrol Rote-macc'66 Roténobiol Cubérol poudrage Cubérol pulvérisation	Euphytor Nufarm SA Samabiol Scotts France SAS Scotts France SAS	Viticulture (cicadelle de la flavescence dorée) Cultures légumières et ornementales (pucerons, doryphore)

Roténone + pyrèthres + butoxyde de pipéronyle	Biophytoz L 2 Pyrétol 8	Euphytor Euphytor	Cultures légumières (pucerons, doryphore, piéride du chou) Cultures florales et arbres d'ornement (pucerons)
Terpinéol + 2 benzyl 4 chlorophénol + p-chloro-m-crésol + 2 phényl-phénol	Saniterpen 80	Action Pin	Traitement des bâtiments et matériel d'élevage (bactéricide, fongicide)

Composés lipidiques , huiles végétales seules ou en association

Huile de colza	Naturen EV Huile végétale insecticide RPJ	Bayer espaces verts Scotts France SAS	Cultures fruitières et vigne (stade hivernant des ravageurs) Plantes d'ornement (cochenille)
Huile de colza estérifiée	Actirob B Colsurf	CropScience Surfagri	Adjuvant pour bouillie (herbicide, insecticide) Maïs (pyrale)
Huile de Pin	Mastic à cicatriser Lhomme-Lefort	CP Jardin	Plaies de taille
Huile de pin + dichlorvos + malathion	Meri Mults 80	Mériel	Traitement des bâtiments et matériel d'élevage (insecticide)
Huile de Pin + ammonium quaternaire + glyoxal + formol + glutaraldéhyde	Saniterpen	Action Pin	Traitement des bâtiments et matériel d'élevage (bactéricide)
Huile de Pin + dérivés d'acides gras végétaux	Mediator Pro Eco Adjuvant Actilandes	Action Pin/ Nufarm SA PCF/Action Pin Samabiol/Action Pin	Adjuvant pour bouillies Adjuvant pour bouillies Herbicide

Tableau 4 (suite) ■ Molécules allélochimiques et extraits végétaux commercialisés en France en 2004.
(D'après l'*Index phytosanitaire ACTA* 2004 (Association de coordination technique agricole) (Couteux et Lejeune, 2004).)

Extrait/ composé végétal	Nom spécialité	Société	Usage
Composés lipidiques , huiles végétales seules ou en association			
Huiles végétales + résines	Mastic Lacbalsam Mastic Pelton à cicatriser 2 Mastic Pelton à greffer 2 Lacbalsam armé SDA Lacbalsam SDA	Scotts France SAS Scotts France SAS Scotts France SAS SDA SDA	Plaies de taille Plaies de taille Plaies de taille Plaies de taille Plaies de taille
Lécithine de soja	Elton Elvis LI 700 Transit	Agridyne Agridyne Agridyne Agridyne	Adjuvant pour bouillie (herbicide) Adjuvant substance de croissance

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

2.2.3. Les SDN ou éliciteurs

L'utilisation des éliciteurs dans la protection des cultures est une démarche très récente. Elle est basée sur les progrès accomplis dans la connaissance des mécanismes d'action de la résistance induite des plantes aux bio-agresseurs. À côté d'éliciteurs d'origine végétale (*cf.* chapitre 30), il existe des éliciteurs de nature fongique ou bactérienne dont nous nous ferons l'écho ici.

L'examen des molécules élicitrices recensées par le *Scottish Crop Research Institute* (Lyon et Newton, 2003) montre qu'un nombre restreint de molécules a été étudié à ce jour, même s'il existe une grande diversité d'agents connus, pour leurs propriétés de stimulation des mécanismes de défense de la plante. On peut citer parmi elles l'acide salicylique, l'ADCS : acide 3,5-dichlorosalicylique, le DCINA : méthyl-2,6-dichloroisonicotinate qui pourraient présenter une activité contre la tavelure du pommier (Lateur, 2002). On ne sera donc pas surpris que seuls quelques composés soient actuellement commercialisés. Certains de ces éliciteurs, présents sur le marché ou en cours de développement, stimulent globalement la SAR (*systemic acquired resistance*), d'autres induisent la production de phytoalexines.

Une des molécules les plus remarquées ces dernières années est une protéine d'origine bactérienne, l'harpine, mise sur le marché aux États-Unis sous le nom de Messenger® (EDEN Bioscience). Cette protéine isolée d'une bactérie pathogène *Erwinia amylovora*, et dont la synthèse résulte de l'expression d'un gène du groupe *hrp*, interviennent comme agent d'élicitation de la réponse hypersensible de la plante. Elle induit l'expression de certains gènes de défense et agit sur la SAR. Pour fabriquer le principe actif sans danger, on a transféré le gène codant la biosynthèse de cette protéine dans une bactérie non pathogène (un *Escherichia coli* de laboratoire : K-12), de manière à lui faire produire cette protéine en fermenteur industriel. On a découvert récemment deux nouvelles harpines codées par des gènes appartenant au même groupe (Kim et Bauer, 1999). Le Messenger® est agréé sur un grand nombre de cultures majeures ou mineures : agrumes, tomates, concombres, riz, fraises, poivrons, tabac, ainsi que sur des plantes ornementales, et contre un large éventail de maladies virales, fongiques, bactériennes ainsi que contre les nématodes. Il a bénéficié de la procédure d'homologation allégée car il est considéré comme un biopesticide à risque réduit (Classe IV de l'EPA) (Copping, 2001).

D'autres éliciteurs sont commercialisés depuis peu. L'acibenzolar-S-méthyl, dérivé de l'acide carbothioïque commercialisé sous le nom d'Actiguard® et de Boost®, active la SAR des bananes, des tomates et du tabac contre plusieurs maladies bactériennes, fongiques et virales (www.syngenta.com). Des extraits d'algues à base de glucanes (oligosaccharides), les laminarines, ont récemment été homologués en France pour la protection du blé tendre contre les septorioses, oïdium et piétin verse (Iodus ® 40 de la société Goemar : www.goemar.com). Une autre molécule, le probénazole (dérivé insaturé de l'acide α-linolénique), d'origine végétale (secrétée par le riz), stimule la production de phytoalexine *via* l'acide jasmonique. La société Meiji Seika Kaisha Ldt étudie son développement comme activateur de défense des plantes (Iwata, 2001). Une chitosane (poly-D-glucosamine),

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

dérivée des exosquelettes de crustacés, commercialisée sous le nom d'Elexa 4® (SafeScience) ou Clandosan® (IGENE), est utilisée contre les mildious des cultures fruitières et légumières ainsi que dans les serres et pépinières aux États-Unis. Cette molécule provoque les mêmes réponses que celles induites par une attaque fongique et stimule une réponse génétique et biologique incluant la production de phytoalexines.

Ces quelques exemples montrent que les éliciteurs biotiques relèvent bien, en ce qui concerne leur activité, de la définition des biopesticides.

3. *Le marché des biopesticides : entre timidité et espoir*

De l'avis général, les différentes estimations indiquent que le marché des biopesticides est promis à un avenir prometteur. Mais qui part de très bas ne peut que progresser rapidement !

3.1. Quelques chiffres et estimations

En 1998, si le marché des pesticides était évalué à 31,2 milliards USD dont 9 pour les seuls insecticides, celui des biopesticides s'élevait seulement à 294 millions USD (Jones, 1998). Les bio-insecticides y sont prépondérants, avec 274 millions USD (figure 2) et loin derrière on trouve les biofongicides (13 millions USD) suivi des bioherbicides et les bionématicides pour moins de 7 millions USD.

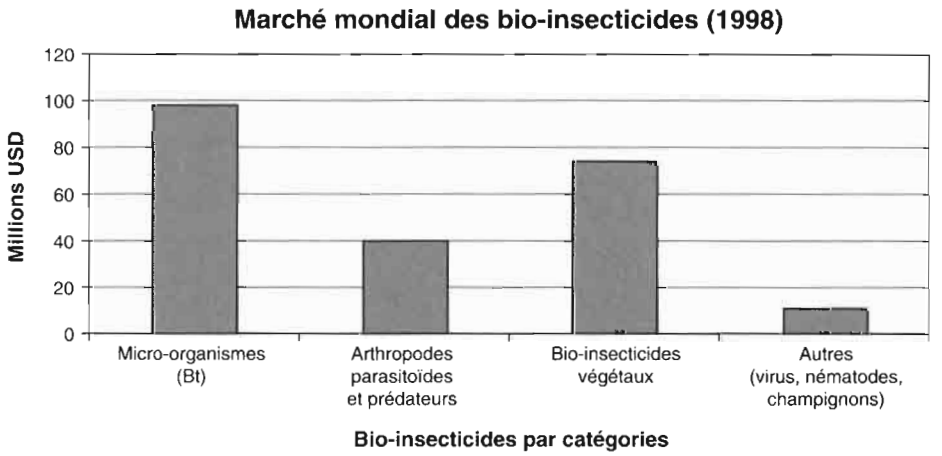


Figure 2 ■ Importance des différentes catégories de bio-insecticides en 1998 exprimées en millions USD (selon Jones, 1998).

C'est donc une toute petite part (moins de 1 %) du marché mondial des produits phytopharmaceutiques qu'occupent actuellement les biopesticides. En Europe,

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

en 2000, la vente des biopesticides (hors produits d'origine végétale) représente 97 millions USD, soit 2 % du marché européen des pesticides (Ravensberg et Elad, 2002) dont l'essentiel se répartit en trois catégories de produits (figure 3). Depuis, le marché global des arthropodes bénéfiques paraît avoir fortement progressé en raison de la mise au point de nouvelles spécialités qui portent à une centaine le nombre des espèces commercialisées pour environ une soixantaine de sociétés productrices. Il est estimé en 2003 à 120-150 millions d'euros (Redbond, 2003).

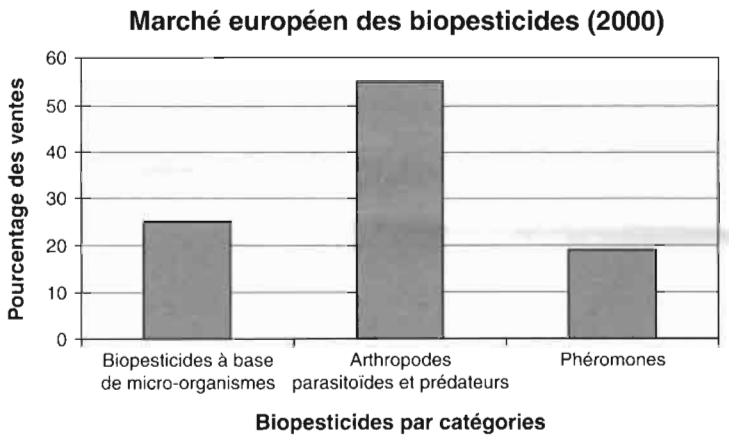


Figure 3 ■ Vente des biopesticides (hors produits d'origine végétale) en Europe en 2000. (D'après Jones, 2002 ; Ravensberg et Elad, 2002.)

Si l'on se réfère au marché des phéromones (*semiochemicals*), on constate que le monde se divise en trois grandes zones de marchés d'ordre voisin : l'Amérique du Nord (35,5 millions USD), l'Europe et la zone méditerranéenne (30 millions USD) et l'Asie (Chine, Japon et Inde) (25 millions USD). Si le marché européen des phéromones est le moins important comparé à ceux des arthropodes parasitoïdes et prédateurs et des micro-organismes (principalement *Bt*), il doit, selon les projections, doubler entre 2000 et 2007 pour atteindre une valeur de 36,3 millions USD. Il est prévu une forte progression en France de l'ordre de 22 % (4,1 millions USD) suivie de l'Italie (19,7 % soit 3,7 millions USD) et de la péninsule ibérique (17,5 % soit 3,1 millions USD), l'Allemagne et le Benelux étant gratifié d'une croissance de 13,6 % (2,6 millions USD), et le Royaume-Uni avec l'Irlande de 6,2 % (1,1 million USD) (Jones, 2002). Ces estimations pour le marché européen des phéromones, et l'expansion qu'elles prédisent, se retrouvent globalement sur le marché mondial, puisqu'un taux de croissance de 10 à 15 % est prévu pour les biopesticides contre 2 % pour les pesticides de synthèse (Philogène *et al.*, 2002). Une autre projection estime qu'en 2040, le marché des biopesticides atteindra 20 % du marché mondial des produits de protection des plantes (Redbond, 2003).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

3.2. Marchés niches et qualité des produits

Plusieurs observations expliquent l'étroitesse du marché actuel. En premier lieu, les biopesticides ont les qualités de leurs défauts : leurs avantages écologiques, en particulier la spécificité et la biodégradabilité, sont des arguments commerciaux négatifs. En effet, une phéromone ou un biopesticide entomophage, actifs uniquement sur une seule espèce, ou un mycoherbicide spécifique d'une seule sorte d'adventice, se développent sur des marchés tellement ciblés et étroits qu'ils n'incitent qu'à un investissement industriel prudent puisque la rentabilité des investissements de recherche et développement (R&D) est loin d'être assurée.

De la même manière, des biopesticides, biodégradables en deux ou trois jours, ont une persistance courte et nécessitent des épandages plus fréquents. Leur utilisation engendre l'achat d'une quantité plus grande de produits phytosanitaires si l'infestation se prolonge, ainsi qu'un surcroît de travail pour l'agriculteur. Il a ainsi été souligné que l'usage de phéromones, s'accompagne notamment d'un niveau élevé de contraintes pour l'agriculteur (Regnault-Roger, 2002). Enfin, les résultats obtenus en conditions expérimentales (laboratoire ou serre) et ceux observés en production agricole sur une plus large échelle, ne sont pas toujours superposables. Une plus grande dispersion est notée dans le contexte de la production intensive (Khetan, 2001). Par exemple, la lutte microbienne basée sur l'emploi des bactéries *Pseudomonas* a démontré que ces micro-organismes étaient instables au cours d'une production de masse ou pendant la conservation, car ils sont très sensibles aux facteurs environnementaux, notamment la température et les UV (Brannen et Kenney, 1997 ; Silvy et Riba, 2003). La demi-vie des pesticides microbiens est en général relativement courte et les spécialités doivent être conservées dans des conditions particulières qui ne sont pas toujours disponibles : chambre froide, flaconnages opaques et hermétiquement fermés, etc. (Van der Pas *et al.*, 2000). Ainsi, l'efficacité des traitements effectués avec des biopesticides à base d'organismes vivants pourrait-elle être plus aléatoire que ceux utilisant des molécules définies, chimiques ou biologiques.

Pour Khetan (2001), une des clés pour que les biopesticides à base d'organismes vivants s'imposent commercialement réside en la maîtrise de la technologie fermentaire, de la stabilité des formulations et de leur conservation pendant la phase de transport et de stockage. Toutefois, sans nier les difficultés spécifiques liées à la production et à la formulation de ces spécialités à base de micro-organismes, il semble que des solutions puissent être trouvées dès lors que l'on prend la peine de développer des programmes de R&D dans ce domaine. Si les *Pseudomonas* étaient aussi fragiles que certains le prétendent, ils ne se conserveraient pas aussi facilement dans les sols et un mode de production-formulation très simple consisterait à les produire dans une tourbe stérilisée selon le procédé employé pour la production des *Rhizobia sp.* Olivain *et al.* (2004) ont démontré qu'un inoculum produit en tourbe, et stocké pendant plus d'un an à la température du laboratoire, est aussi efficace qu'un inoculum fraîchement récolté à partir d'une culture. La société allemande Prophyta a ainsi développé un procédé de production de spores

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

de champignons, en fermentation sur milieu solide et en conditions aseptiques, qui lui a permis de mettre sur le marché une préparation à base de spores de *Coniothyrium minitans* qui se conserve pendant plusieurs mois (Constans® WG). Ce procédé est tout à fait adaptable à la production d'autres agents de lutte biologique comme les champignons du genre *Trichoderma*. Enfin, si l'on considère que les producteurs d'insectes auxiliaires sont capables de commercialiser à l'échelle d'un continent des insectes vivants, il n'existe pas de difficulté majeure pour faire de même avec des micro-organismes.

Les services R&D des sociétés phytopharmaceutiques spécialisées dans la production de biopesticides multiplient, d'ailleurs, leurs efforts pour améliorer la qualité des formulations. Ainsi, pour remédier à l'inactivation des cristaux de *Bacillus thuringiensis* par les rayons ultra-violets, des techniques d'encapsidation sont étudiées (Silvy et Riba, 2003). On s'attache également à stabiliser les productions de mycoherbicides ou de biofongicides et leur durée de conservation. En effet, leur effet létal ne se manifeste, dans certains cas, qu'après un délai de trois à sept jours (Fargues, 2002). Pour pallier l'action lente et la fugacité de l'effet des baculo-virus, une amélioration des souches existantes par recombinaison génétique est à l'étude. L'amélioration des formulations de biopesticides d'origine végétale passe également par une stabilisation de la composition des extraits végétaux et une meilleure définition des profils phytochimiques d'efficacité. Il faut, en effet, comme pour les formulations à base d'organismes vivants, s'assurer d'une qualité uniforme et constante des produits mis sur le marché. Cette démarche est indispensable pour le succès de la commercialisation des biopesticides.

3.3. La restructuration du secteur

A contrario, plusieurs éléments vont dans le sens du développement de ce marché : les profonds mouvements de restructuration des sociétés de l'agrochimie survenus ces dix dernières années. Ils ont, par le biais des fusions-acquisitions, étroitement imbriqué les deux secteurs d'activités de la production de pesticides organiques de synthèse et des biopesticides. À titre d'exemple, la société française de taille moyenne Calliope, à laquelle se rattache la PME (petite et moyenne entreprise) *Natural Plant Protection* (NPP), spécialisée dans la production des biopesticides actifs comme : la Carpovirusine® (à base de virus), l'Ostrinil® (à base du champignon *Beauveria bassiana*) ou le Batik® (à base de la bactérie *Bacillus thuringiensis kurstaki*), est tombée dans l'escarcelle d'un groupe japonais Nichimen qui, lui-même, a fusionné avec un autre groupe japonais, Tomen, pour former la société Arysta LifeScience, classée en 2004 au 11e rang mondial dans le secteur de l'agrochimie (http://www.calliope-sa.com). Au terme de ce processus de rapprochement industriel, la société Arysta LifeScience, qui développe de nouvelles molécules pesticides de synthèse, est devenue aussi un producteur important, en Europe, de pesticides chimiques génériques par le biais de la société Calliope, et possède une palette de biopesticides diversifiés par le biais de sa filiale NPP. De la même façon, on note que les deux premières sociétés de l'agrochimie, Bayer CropScience et

© Lavoisier - La photocopie non autorisée est un délit

Syngenta, occupent une place prépondérante tant sur les marchés des pesticides organiques de synthèse que des biopesticides. Ces différents cas démontrent que ces sociétés polyvalentes peuvent, à tout moment, sauvegarder leurs intérêts en réagissant aux différentes demandes du marché, et en modulant la production des pesticides « bio » ou classiques selon les exigences du moment.

3.4. La nécessité d'une réglementation claire et précise

Pour porter leurs fruits, les efforts d'amélioration des formulations de biopesticides, dont nous nous sommes fait l'écho (*cf.* 3.2.) et qu'illustre le chapitre 42, doivent s'accompagner d'une réglementation qui prenne en compte la spécificité de ces produits, notamment en matière de préconisations et d'usages.

La procédure d'homologation des produits phytopharmaceutiques est en effet très coûteuse (*cf.* chapitre 40). Aussi, les industriels producteurs de biopesticides souhaiteraient une procédure réduite, puisque les recherches biologiques ont montré les avantages des biopesticides par rapport aux pesticides organiques de synthèse, et que leur retour sur investissement est actuellement plus aléatoire en raison de segments de marché plus étroits. Un débat est en cours pour savoir s'il conviendrait d'alléger les demandes d'autorisation de mise sur le marché (AMM) pour cette catégorie de produits, à l'instar de la réglementation qui existe aux États-Unis. Dans ce pays, les biopesticides sont soumis à des procédures particulières indiquées dans le code 40 CFR d'application du FIFRA (*Federal Insecticide, Fungicide and Rodenticide Act*) de l'EPA, qui réglemente les produits phytosanitaires dans les sections de 150 à 180. Et un certain nombre de substances naturelles comme le géraniol ou l'eugénol, les huiles essentielles de menthe, thym, citronnelle ou cannelle, qui ne bénéficient pas de cette procédure allégée, sont cependant classés comme produits GRAS (*generally regarded as safe*). Ils sont de ce fait inscrits sur une liste d'exemption (la liste « *25b minimum risk pesticides* »), les dispensant de la procédure d'homologation (EPA, 2004). Cette exemption est d'ailleurs devenue un argument publicitaire pour promouvoir ces produits, par exemple les produits de la gamme Eco Exempt® (EcoPCO®, 2004). Paulizt et Bélanger (2002) confirment que cet assouplissement de la procédure d'homologation en Amérique du Nord a pour conséquence de diversifier la gamme des biopesticides proposés aux utilisateurs.

Parmi les arguments avancés pour demander l'allégement de la réglementation pour les biopesticides en Europe, figure la constatation que nombre de principes actifs de ces spécialités se trouvent au quotidien dans notre environnement domestique et alimentaire. On est donc porté à conclure qu'il serait déraisonnable de demander la constitution de lourds et coûteux dossiers d'homologation pour ces produits dont on n'a pas mis en évidence d'effets pervers. Cependant, les argumentaires basés sur l'usage *a priori* sans danger, se sont parfois vu opposer la réalité d'effets non intentionnels et indésirables qui s'expriment dans des conditions particulières et exceptionnelles. C'est pourquoi et sans prétendre trancher dans ce débat, il apparaît indispensable que les biopesticides commercialisés, sont, comme les autres produits phytosanitaires, tenus de satisfaire aux exigences :

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

– d'innocuité pour les utilisateurs et les consommateurs, ainsi que pour l'environnement ;

– d'efficacité et de sélectivité pour les cultures traitées.

C'est à ce prix que pourra être demandé un assouplissement de la réglementation européenne pour les biopesticides. Se pose toutefois le problème de pouvoir disposer de méthodes d'évaluation standardisées et adaptées à la spécificité des différentes catégories de biopesticides, pour établir clairement leur efficacité et leur innocuité. Ce point est d'ailleurs l'objet des travaux de plusieurs commissions dans les instances européennes et nationales.

La procédure de réhomologation des produits phytopharmaceutiques, qui se déroule au sein de l'Union européenne, a distingué 4 groupes de substances actives. La répartition des produits en instance d'examen est la suivante : 82 % concerneraient des pesticides organiques de synthèse, 8 % les phéromones, 7 % les extraits de plantes et 3 % les spécialités à base de micro-organismes (Redbond, 2003). Les substances naturelles sont répertoriées dans la liste 4, celle qui sera examinée plus tardivement, ce qui laisse plus de temps pour définir les critères réglementaires qui seront retenus pour les composés de cette liste. Les préparations à base de micro-organismes bénéficient déjà d'autorisations de mise sur le marché particulières (*cf.* chapitre 26). De la même façon, un effort d'harmonisation concernant l'importation et le lâcher des agents exotiques de lutte biologique a fait l'objet d'un code de conduite diffusé par la FAO (*cf.* chapitre 24), de manière à renforcer les législations nationales qui seraient « *insuffisantes* » en la matière et à édicter « *des procédures acceptables par tous les organismes publics ou privés concernés* ». Les normes qui y sont énoncées « *visent à encourager les pratiques commerciales responsables et généralement acceptées* » (FAO, 1996).

Conclusion

Les prévisions optimistes de 10 à 15 % de parts de marché pour les biopesticides sont fondées sur le fait qu'il existe une demande de plus en plus forte de produits phytosanitaires dits « verts ». Le public veut des produits sans danger, c'est-à-dire :

– sans effets non intentionnels au niveau des chaînes trophiques, et sans effet sur les insectes pollinisateurs ;

– sans résidus, donc satisfaisant l'objectif de sécurité alimentaire.

Ces préoccupations écologiques et environnementales, autant que sanitaires, poussent donc dans le sens du développement des biopesticides.

Au stade de nos connaissances actuelles, le développement de biopesticides s'inscrit dans le cadre de l'agriculture et du développement durables, en proposant des solutions alternatives ou complémentaires à l'utilisation des pesticides organiques de synthèse pour la protection des cultures.

Toutefois, pour promouvoir l'essor commercial de cette catégorie de produits phytopharmaceutiques, des efforts sont nécessaires, tant sur le plan d'une clarification

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

réglementaire et des méthodes d'évaluation qui y sont associés, que sur celui de l'amélioration de la qualité des formulations des biopesticides. Cette réflexion indispensable doit engager autant les industriels (*cf.* chapitre 40) et les praticiens de la protection des plantes (*cf.* chapitre 42) que les législateurs (*cf.* chapitre 46). Il s'agit là d'un point clé pour que les biopesticides occupent une place significative dans les stratégies phytosanitaires.

Références bibliographiques

Alabouvette C. (2003). Encadrements réglementaires de moyens de lutte biologique Journée d'information AFPP, Paris 16 octobre 2003, CD Rom AFPP.

Auger J., Thibout E. (2002). Substances soufrées des *Allium* et des crucifères et leurs potentialités phytosanitaires. *In* Regnault-Roger C., Philogène B. J.R., Vincent C., *Biopesticides d'origine végétale*. Lavoisier Tec & Doc, Paris, 77-96.

Brannen P.M., Kenney D.S. (1997). Kodiak® – a successful biological-control product for suppression of soil-borne plant pathogens of cotton, *J Ind Microbiol Biotechnol*, **19** :169-171.

Chiapussio G., Gallet C., Dobremez J.-F., Pelissier F. (2002). Composés allélopathiques : herbicides de demain ? *In* Regnault-Roger C., Philogène B. J.R., Vincent C., *Biopesticides d'origine végétale*. Lavoisier Tec & Doc, Paris, 151-168.

CMFSC (Commission des matières fertilisantes et des supports de culture) (2004), bilan des activités du groupe de travail « Phytostimulants ». http:// www.agriculture.gouv.fr

Copping L.G. (2001). *The Biopesticide Manual*, 2nd *edition*. British Crop Protection Council, Farnham.

Couteux A., Lejeune V. (2004). *Index phytosanitaire ACTA 2004*, Association de coordination technique agricole, Paris.

Descoins C., Francois P., Rousel G., Trouvé C., Joubert J.-M., Mercier T. (2003). Les produits naturels : une chance à saisir. *Phytoma*, **564** : 9-12.

EcoPCO® (2004). A new area in professional pest management. http:// ecopco.com/products.htm

EPA (2004). U.S. Environmental Protection Agency. http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides

FAO, 1996, Publications n° 3, 1-23. http://www/spc.org/pps/ipp

Fargues J. (2002). La lutte biologique avec des micro-organismes contre les insectes ravageurs des cultures : contraintes, bilan et perspectives. *In Annales 2e conférence internationale sur les moyens alternatifs de lutte contre les organismes végétaux*, FREDEC Nord-Pas-de-Calais, Lièvin, 49-61.

Hintz W. (2001). Working Group Report of Biological Canadian Weed Science Society. http://www.cwss-scm.ca/biological_control.htm

Howse P., Stevens I., Jones O. (1998). *Insect Pheromones and their use in Pest Management*. Chapman et Hall, New-York.

Isman M. (1997). Neem insecticides. *Pesticide Outlook*. **8** : 32-38.

Isman M. (2002). Problèmes et perspectives de commercialisation des insecticides d'origine botanique. *In* Regnault-Roger C., Philogène B. J.R., Vincent C., *Biopesticides d'origine végétale*. Lavoisier Tec & Doc, Paris, 300-312.

Iwata M. (2001). Probenazole – a plant defense activator. *Outlooks on pest management*, **12** : 28-31.

Jones O.T. (1998). The commercial exploitation of semiochemicals and others plants derived pest managements chemicals. *Pestic Sci*, **54** : 293-296.

Jones O.T. (2002). Commercialization of semiochemicals (an analysis of potential barriers to the commercial development of semiochemicals for crop protection). *Crop Protection monthly*, **148** : 1-14. http://www.crop.protection-monthly.co.uk

Khetan S.K. (2001). *Microbial Pest Control*. Marcel Dekker, New-York.

Kim J.F., Bauer D.W. (1999). Secreted enigmatic proteins of *Erwinia amylovora*. *Acta Hortic*, **489** : 371-374.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Lateur M. (2002). Perspectives de lutte contre les maladies des arbres fruitiers à pépins au moyen de substances naturelles inductrices d'une résistance systémique. *Biotechnol Agron Soc Environ*, **6** : 67-77.

Lyon G., Newton A. (2003). Compounds that stimulate plant resistance to infection when applied exogenously. http://www.scri.sari.ac.uk/TIPP/sar

Olivain C., Alabouvette C., Steinberg C. (2004). Production of a mixed inoculum of *Fusarium oxysporum* Fo47 and *Pseudomonas fluorescens* C7 to control fusarium diseases. *Biocontrol Sci Techn*, **14** : 227-238.

Paulitz T.C., Bélanger R.R. (2001). Biological control in green house systems. *Annu Rev Phytopathol*, **39** : 103-133.

Philogène B. J.R., Regnault-Roger C., Vincent C. (2002). Produits phytosanitaires insecticides d'origine végétale : promesses d'hier et d'aujourd'hui. *In* Regnault-Roger C., Philogène B. J.R., Vincent C., *Biopesticides d'origine végétale*. Lavoisier Tec & Doc, Paris, 1-18.

Ravensberg W., Elad Y. (2002). The reality – a commercial perspective to plant disease biocontrol. *IOBC wprs bulletin*, **25** : 125-130.

Redbond M. (2003). Biocontrol 2003. *Pesticide Outlook*, **4** : 168-170.

Regnault-Roger C. (2003). Plant Biopesticides: a future for IPM? *Proceedings 33th Congrès GFP/3rd Symposium MGPR Unicum Colloquium*, Aix-en-Provence, Mai 2003, CD-Rom GFP.

Regnault-Roger C. (2002), De nouveaux phyto-insecticides pour le troisième millénaire ? *In* Regnault-Roger C., Philogène B. J.R., Vincent C., *Biopesticides d'origine végétale*. Lavoisier Tec & Doc, Paris., 10-40.

Regnault-Roger C., Philogène B. J.R., Vincent C. (2002). *Biopesticides d'origine végétale*. Lavoisier Tec & Doc, Paris.

Rissler J., Mellon M. (1996). *The ecological risks of engineered crops*. The MIT press, Cambridge, Mass (USA).

Silvy C., Riba G. (2003). Biopesticides contre maladies, insectes et mauvaises herbes. *In* ACTA, *Pesticides et protection phytosanitaire dans une agriculture en mouvement*. Association de coordination technique agricole, Paris, 347-401.

Strebler G. (1989). *Les médiateurs chimiques*. Lavoisier Tec & Doc, Paris.

Van der Pas R.K., Waddington C.J., Ravensberg W. (2000). Commerzialisation of microbial pesticide "challenges and constraints", *IOBC wprs Bulletin*, **23** : 15-18.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

42

Le développement de nouvelles spécialités phytosanitaires biologiques : processus et perspectives

Hervé Quénin

Le développement de nouvelles spécialités phytosanitaires, qu'elles soient biologiques ou de synthèse, comprend trois étapes distinctes :

– en premier lieu intervient une évaluation des principes actifs, sur les plans réglementaire et technique. Cette étape se déroule avant décision de développement (durée : d'un à trois ans) ;

– puis le développement, proprement dit, conduit à l'obtention des données nécessaires à l'homologation (durée : de cinq à six années). Cette étape permet également l'acquisition des données d'efficacité d'où découleront les futures préconisations d'utilisation (doses, nombre et période d'application) ;

– enfin, s'effectue la mise sur le marché qui s'appuie sur une prescription/recommandation adaptée de la spécialité (durée : d'une à deux années).

Depuis les années 90, chacune de ces étapes a évolué afin de répondre aux nouvelles exigences techniques des producteurs, soucieux de satisfaire au mieux leurs clients consommateurs, en leur proposant des produits de première qualité, sans dégâts de ravageurs ou de maladies, pour un coût acceptable. Une nouvelle réglementation (91/414 CEE) a ainsi été mise en œuvre destinée à mieux « encadrer » la mise en marché des intrants de protection des plantes.

Plus récemment, deux exigences supplémentaires sont apparues : celles du citoyen et des agriculteurs qui s'intéressent de plus en plus aux aspects environnementaux, et accentuent la demande pour les spécialités biologiques en protection des cultures ; celles du Ministère de l'agriculture qui souhaite minimiser l'impact des produits phytosanitaires sur les utilisateurs, en favorisant les produits biologiques non toxiques.

Le « cahier des charges » nécessaire à la mise en marché d'une nouvelle spécialité se trouve ainsi grandement complexifié. Le savoir faire « traditionnel » de

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

l'industrie phytosanitaire évolue donc. Le développement de nouvelles spécialités phytosanitaires devient un métier de convergence de compétences agronomiques, réglementaires, environnementales, qualité sanitaire de production (résidus, toxines, saveurs) et pratiques (mise en œuvre des protections des cultures). Et il ne faut pas oublier les contraintes économiques du marché.

Cette évolution technique et réglementaire engendre un coût du développement de plus en plus important (coût de R&D multiplié par dix durant les dix dernières années). Pour faire face à de tels investissements, la plupart des sociétés phytosanitaires recentrent leurs molécules sur les cultures majeures au plan mondial (céréales, oléagineux et protéagineux). Parallèlement, on observe que le besoin en molécules biologiques s'exprime de plus en plus sur des cultures plus « spécialisées » comme l'arboriculture fruitière, les cultures légumières et la vigne.

Dans ce contexte, le présent chapitre a pour but, à partir d'un exemple choisi, d'illustrer la phase de développement d'une spécialité biologique. Dans un premier temps, nous présenterons des études réglementaires, destinées à prouver l'efficacité de la préparation ; puis, dans un deuxième temps, les études complémentaires, non officielles, destinées à améliorer la connaissance de la spécialité considérée. Cette étape est primordiale dans la réussite future du concept de protection biologique. Enfin, des perspectives de développements actuelles et futures seront présentées, pour montrer la nécessité du suivi des études sur l'efficacité d'une spécialité biologique. Ces dernières permettent une préconisation actualisée de la spécialité en fonction de l'évolution technique de son segment de marché.

1. Acquisition de données biologiques pour l'homologation d'une spécialité phytosanitaire

Les nouvelles spécialités phytopharmaceutiques biologiques sont généralement formulées à partir de substances actives produites de façon naturelle ou par synthèse chimique (*cf.* encadré « Définitions »). Ainsi, ces nouvelles préparations renferment des spores ou des mycéliums de champignons, des virus ou de nématodes, des toxines ou des spores bactériennes, des substances phéromonales d'insectes, des extraits végétaux.

Définitions

- **Spécialité ou produit phytosanitaire** : formulation commerciale, utilisable par l'agriculteur, renfermant un ou plusieurs principe(s) actif(s) et des adjuvants, ou « co-formulants », sans activité biologique propre mais destinés à la mise en œuvre du produit.
- **Substance ou principe actif** : molécule possédant l'activité biologique proprement dite et conférant au produit formulé son efficacité. La formulation du principe actif permet sa mise en œuvre dans la pratique.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Lorsque la substance active d'une préparation phytosanitaire est d'origine biologique, ne convient-il pas de juger de son activité au travers des méthodologies usuelles reconnues ? Ces dernières régissent l'autorisation de mise sur le marché des préparations phytopharmaceutiques dans leur ensemble. Il semble en effet normal de vouloir juger les performances des nouvelles préparations (qu'elles soient biologiques ou chimiques) selon les mêmes protocoles. Cependant, le mode d'action de ces substances est parfois plus complexe qu'il n'y paraît, en partie car il est différent de celui des molécules de synthèse. L'exemple suivant va permettre d'illustrer ce point.

1.1. Le virus de la granulose du carpocapse

Le virus de la granulose du carpocapse est un virus qui appartient à la famille des *Baculoviridae*. Il est spécifique des Lépidoptères et sa transmission à d'autres familles n'a jamais été démontrée.

Ce virus possède une activité larvicide, de même type que l'activité insecticide des molécules de synthèse (pyréthrinoïdes, organophosphorés notamment). Plusieurs préparations à base de virus de la granulose sont autorisées en protection des plantes en Europe. Toutes ces préparations renferment des virus vivants, nécessitant des méthodes de conservation particulières (transport, stockage). Les résultats présentés dans cette publication ont été obtenus avec la préparation Carpovirusine 2000®.

Après ingestion par la larve de l'insecte, les conditions spécifiques rencontrées au cours du transit intestinal (pH alcalin, enzymes protéolytiques) activent la phase virale qui conduit à l'intégration de l'ADN du virus dans les cellules de la larve et à la multiplication de ce dernier. Cette multiplication des virus dans la larve conduit à l'arrêt d'alimentation puis la mort de la chenille cible. Cette activité permet de maîtriser des populations de carpocapse des pommes, des poires et des noix (*Cydia pomonella*) de niveau moyen à faible.

1.2. Expérimentations préliminaires

Dans le cadre d'un programme européen coordonné par l'Institut national de la recherche agronomique (INRA), des essais ont été engagés entre 1989 et 1993, avec le concours du Centre technique interprofessionnel des fruits et légumes (CTIFL), de la Protection des végétaux (PV) et de l'Association de coordination des techniques agricoles (ACTA).

Ces essais ont été conduits dans des vergers commerciaux ou en stations d'expérimentation, sur la base de dispositifs grandes parcelles (sans répétition), sans parcelles témoin incluses et sans programme de traitement de référence. Du fait de l'utilisation d'un tel dispositif expérimental, aucune analyse statistique n'a pu être conduite sur les résultats obtenus.

Les efficacités obtenues à la fin de ce programme d'expérimentation ont montré une grande variabilité. Les notations à la récolte montrent en effet des pourcentages de fruits attaqués variant entre zéro et 40 % dans des programmes mixtes « virus

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

+ insecticide de synthèse », et variant entre zéro % et 23 % dans les programmes à base du seul virus.

Lors de ces essais, dans les conditions de la pratique agricole, il a été nécessaire d'appliquer jusqu'à sept traitements de Carpovirusine® en programme mixte « virus + insecticide de synthèse » et jusqu'à 12 traitements de Carpovirusine® en programme « bio ». Ce nombre de traitements important s'explique par la nécessité d'assurer une protection au moment des éclosions du carpocapse. D'un point de vue économique, même pour des efficacités acceptables, ils ne peuvent représenter une solution économiquement acceptable pour la majorité des arboriculteurs.

1.3. Expérimentations conventionnelles

Des expérimentations en verger, selon les méthodes d'expérimentation couramment employées en développement agricole (méthodes de la Commission des essais biologiques (CEB) ou de l'Organisation européenne pour la protection des plantes (OEPP)) permettent, de mesurer cette activité larvicide. L'utilisation systématique d'une parcelle témoin non traitée donne le pourcentage de réduction des attaques sur fruits à la récolte dont on peut déduire le pourcentage d'efficacité. L'inclusion d'une préparation chimique standard dans le dispositif expérimental (spécialité dans le cas du carpocapse : Zolone®, principe actif : phosalone – famille chimique des organophosphorés) permet également de quantifier le niveau d'efficacité de la préparation testée par rapport aux autres préparations autorisées sur ce ravageur. Ces essais biologiques sont réalisés en station d'expérimentation ou en verger commercial, sur des arbres homogènes et adultes (plus de cinq ans), dont l'« historique carpocapse » est reconnu. Les populations de carpocapse sont endémiques ou introduites par lâcher de papillons (permettant ainsi une excellente maîtrise des stades larvaires traités). Un minimum de trois arbres est traité par parcelle élémentaire. Chaque condition est répétée trois fois minimum dans le verger, selon un dispositif aléatoire. Le témoin non traité est inclus comme une condition.

Les observations portent sur un échantillon de 250 fruits (sur les arbres et fruits tombés au sol) par parcelle élémentaire, soit 1 000 fruits par condition testée et par notation. Ces échantillons sont récoltés sur les arbres centraux de chaque parcelle élémentaire pour éviter les effets de bordure. Un contrôle de la dynamique de vol et de l'évolution des populations par piégeage sexuel est généralement réalisé.

En 2001 puis en 2002, trois essais sont conduits par la société Calliope selon ce protocole (tableau 1). Les traitements sont réalisés en deuxième génération du ravageur afin de connaître le niveau de population des parcelles traitées. Avant traitements, un verger présente un fort niveau de population (3,4 % de fruits attaqués en 2001 et 6,2 % en 2002). Les deux autres vergers présentent des niveaux de population moyens (1,2 à 1,7 % de fruits attaqués).

Trois ou quatre traitements sont réalisés pour couvrir l'intégralité de la deuxième génération du carpocapse, en 2001 comme en 2002.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau 1 ■ Expérimentations en verger conduites en France en 2001 et 2002 par la société Calliope pour étudier l'efficacité de la Carpovirusine®.

	% fruits attaqués en fin de première génération		**% efficacité à la récolte[1]**	
	Avant traitement		**Carpovirusine®**	
	2001	**2002**	**2001**	**2002**
Villeneuve du Paréage (09)	3,40	6,20	68,50	35,50
St-Pierre de Chevillé (72)	1,70	1,50	90,00	92,34
St-Paterne Racan (37)	1,20	0,60	73,00	87,11

1. % efficacité = $\frac{\text{nombre de fruits attaqués sur parcelles traitées}}{\text{nombre de fruits attaqués sur parcelles témoins}}$.

Les pourcentages d'efficacités calculés de la Carpovirusine® sur ces trois vergers à la récolte montrent une bonne efficacité pour les vergers à faible pression (entre 73 et 92,3 % d'efficacité). Sur le verger à forte pression, la protection à l'aide du seul virus de la granulose montre 68,5 % d'efficacité en 2001. La pression ayant fortement augmenté l'année suivante sur ce même verger, cette protection montre seulement 35,5 % d'efficacité en 2002. Lors des essais 2002, une comparaison du niveau d'efficacité entre un programme de protection à base de virus de la granulose et un programme à base de phosalone (tableau 2) est mesurée. Pour un niveau d'attaque de plus de 50 % dans les parcelles témoins non traitées, la phosalone montre un niveau d'efficacité supérieur à la Carpovirusine® (73,38 % contre 35,48 %). Par contre, dès que les niveaux de population des vergers traités sont inférieurs à 50 %, les pourcentages d'efficacités calculés entre ces deux programmes de protection sont identiques (plus de 87 % d'efficacité). Le niveau d'efficacité du virus de la granulose est donc dépendant du niveau de population, au même titre qu'une spécialité de synthèse, mais avec un seuil de « décrochage » plus faible.

Tableau 2 ■ Comparaison de l'efficacité de deux traitements (phosalone et Carpovirusine®) sur une expérimentation conduite en verger en 2002 en France par la société Calliope.

	% fruits attaqués à la récolte			**% efficacité à la récolte[1]**	
	Témoin non traité	**phosalone**	**Carpovirusine®**	**phosalone**	**Carpovirusine®**
Villeneuve du Paréage (09)	51,67	13,43	32,95	73,38	35,48
St-Pierre de Chevillé (72)	34,62	2,57	2,65	92,57	92,34
St-Paterne Racan (37)	45,23	4,85	5,83	89,28	87,11

1. % efficacité = $\frac{\text{nombre de fruits attaqués sur parcelles traitées}}{\text{nombre de fruits attaqués sur parcelles témoins}}$.

© Lavoisier - La photocopie non autorisée est un délit

Après ces nombreuses années d'expérimentation en verger, il existait suffisamment de données pour permettre l'obtention de l'homologation de la Carpovirusine® en France. Toutefois, en comparaison des spécialités chimiques couramment utilisées dans la lutte contre le carpocapse (comme le Zolone®), l'action larvicide de cette spécialité montrait une activité moyenne, surtout en condition de pression forte du ravageur. Cette activité n'a pas permis d'imposer le produit sur le marché.

Cependant, la réalisation d'un grand nombre d'essais avait conduit les expérimentateurs à mettre en évidence, dans 66 % des cas, une diminution des populations de carpocapse en verger après traitement à base de virus de la granulose. Pour tenter d'expliquer cette baisse de population au verger, des études complémentaires en laboratoire ont été initiées.

2. *Poursuite du développement en complément des exigences réglementaires*

Après identification et séquençage du gène de la granuline, une méthode de détection du virus de la granulose par *PCR (polymerase chain reaction)* a été développée à l'INRA (Perchat, 1998). Une étude a alors été conduite en laboratoire (Biache *et al.*, 1998) sur une souche de carpocapse provenant de vergers français. Six cents chenilles ont été élevées en conditions standards à 25 °C puis séparées en deux lots expérimentaux au troisième stade larvaire : un lot est traité avec une dose correspondant à la DL_{50} du virus au stade L3 et un lot est non traité. La figure 1 décrit le protocole d'étude au laboratoire.

Après accouplement et ponte, une nouvelle population de carpocapse est obtenue, descendante de la population ayant reçu le traitement. Afin d'activer la réactivation du virus, un choc thermique (une heure à 5 °C, puis une heure à 32 °C) a été réalisé sur les larves des deux descendances au stade L3. Des analyses PCR sont réalisées tous les deux à trois jours durant 11 jours après le choc thermique.

La population descendant du lot traité montre une mortalité de 50,8 % alors que celle du lot non traité n'est que de 9,5 %. Le choc thermique a provoqué un stress faisant progresser la mortalité dans la descendance de la population traitée de 17,6 à 50,8 %. Dans la descendance des larves traitées, 40 % des larves vivantes sont d'ailleurs « porteuses saines » du virus.

Cette étude a permis la mise en évidence de la transmission du virus d'une génération traitée à la génération suivante. Cette conclusion a révélé que le virus était capable de se maintenir dans une population sans s'exprimer, de se transmettre et de se disperser dans les générations suivantes, puis de se réactiver à l'occasion d'un stress (traitement phytosanitaire, variation climatique) provoquant ainsi une mortalité des populations « filles » du ravageur.

Parallèlement à la conduite de cette étude en laboratoire, les observations de baisse de population en verger ont suscité dès 1995 le lancement d'une nouvelle phase de développement technique de cette spécialité, par mise en place d'expérimentations

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

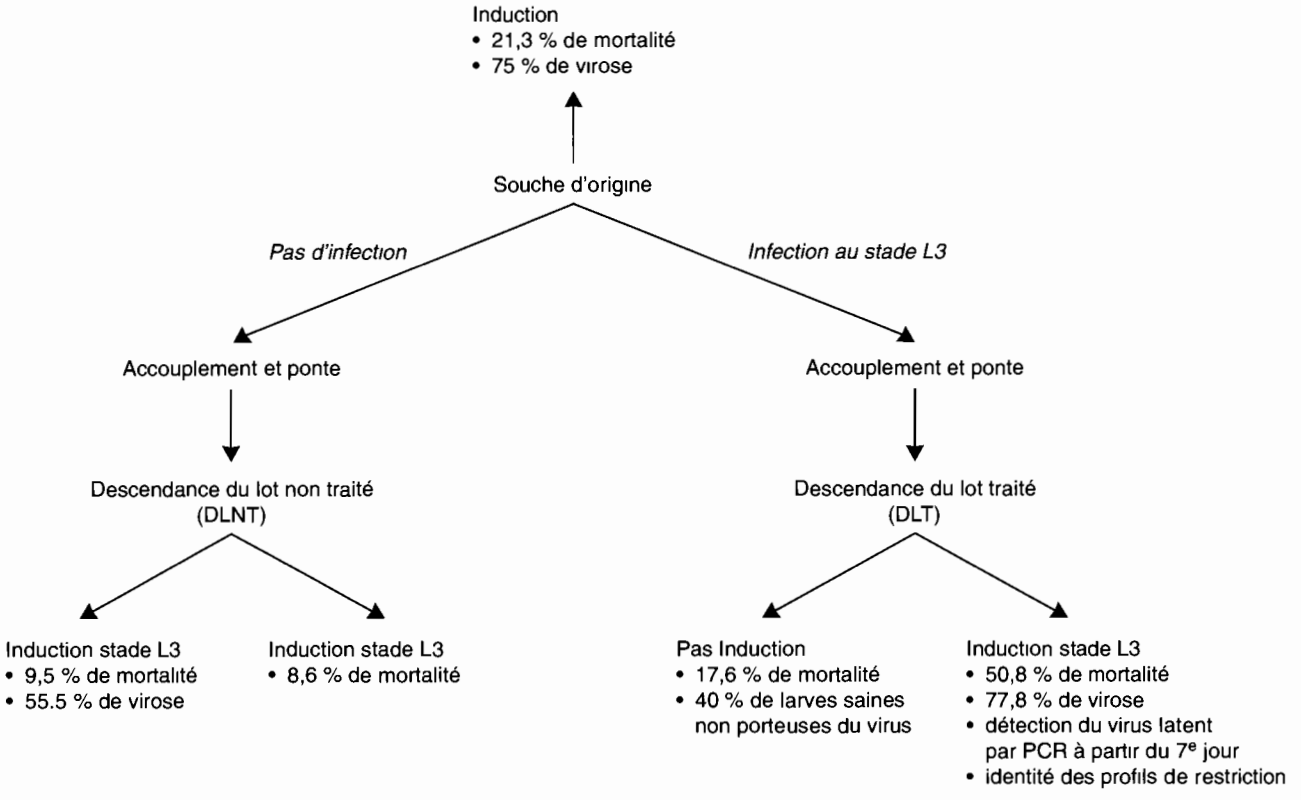


Figure 1 ■ Schéma explicatif sur la transmission du virus de la granulose entre deux générations d'une population de *Cydia pomonella*.

en verger, conduites selon une méthodologie différente des méthodes officielles précédemment décrites.

Un dispositif grandes parcelles, sans répétition, a été sélectionné pour cette nouvelle campagne d'expérimentation, dans des vergers qui sont en production de pomme et de poire.

Les résultats présentés ici sont issus d'une expérimentation conduite sur six années (1996 à 2001), dans le sud est de la France, par le réseau des prescripteurs de la région Provence-Alpes-Côte-d'Azur (réseau PACA).

Un verger de poiriers, âgé de 35 ans, a été divisé en deux blocs : un bloc d'une superficie de 2 ha destiné à recevoir une protection chimique contre le carpocapse et un bloc de 1 ha destiné à recevoir une protection chimique et la Carpovirusine®. Dans ce second cas, les traitements de Carpovirusine® ne sont pas réalisés en mélange avec les insecticides de synthèse, mais dans un programme alternant les produits, passé leur délai de rémanence préconisé.

L'année précédant la mise en place de l'expérimentation (1995), le pourcentage de fruits présentant des dégâts de carpocapse à la récolte atteignait 0,7 %, se répartissant de manière uniforme dans ce verger. Des bandes pièges en carton, destinées à recueillir les larves de carpocapse avant leur diapause, sont enroulées sur 100 troncs d'arbres de chacun des deux blocs. Ces bandes pièges, mises en place avant la récolte et ramassées en automne, représente une méthode très fiable pour quantifier le niveau de population du carpocapse et suivre son évolution.

Comme présentés dans le tableau 3, durant six années, 6 à 12 traitements pour le programme chimique et 9 à 11 traitements pour le programme intégrant intrants chimiques et virus ont été appliqués.

Durant les deux premières années, les pourcentages de fruits attaqués à la récolte n'ont pas présenté de différence importante, variant entre 0,3 et 1,6 %. Dans le même temps, le nombre de larves observées dans le bloc traité chimiquement a été dix fois plus élevé que pour la protection intégrée. La troisième année, le niveau de dégâts à la récolte s'est avéré plus important pour la parcelle traitée par la lutte intégrée que pour la parcelle traitée chimiquement. Malheureusement, la détérioration du matériel bande pièges n'a pas permis la mesure du niveau de population larvaire du verger.

Les deux années suivantes, les pourcentages de fruits attaqués à la récolte ont montré une plus grande progression pour la récolte issue du bloc protégé chimiquement (4,7 à 4,9 % de fruits attaqués contre 1,5 à 3,9 % pour le bloc protection intégrée). Dans le même intervalle de temps, le nombre de larves récoltées dans les bandes-pièges montre une augmentation logique pour la partie traitée chimiquement (1,4 à 1,9 larve/bande piège), alors que dans la partie intégrant des traitements Carpovirusine®, ce nombre reste stable (0,08 à 0,1 larve/bande-piège).

De manière globale, sur l'ensemble de l'expérimentation, le pourcentage de fruits attaqués à la récolte est supérieur en moyenne sur la parcelle traitée chimiquement (2,35 % contre 1,88 % pour l'autre). Le niveau de population mesuré par le nombre de larves par bande piège est inférieur dans le bloc traité en alternant des spécialités

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau 3 ■ Comparaison de l'efficacité de deux types de traitements phytosanitaires sur un verger de poirier dans une expérimentation réalisée entre 1996 à 2001 par le réseau PACA.

	Parcelle en protection chimique uniquement			**Parcelle en protection intégrée : chimique + Carpovirusine.**		
Année	**fruits attaqués à la récolte**	**Nombre de traitements (nature)**	**Nombre de larves par bande piège**	**fruits attaqués à la récolte**	**Nombre de traitements (nature)**	**Nombre de larves par bande piège**
1996	1,6 %	6 (chimique)	1,6	1 %	2 (chimique) 9 (virus)	0,14
1997	0,3 %	10 (chimique)	0,14	0,3 %	1 (chimique) 9 (virus)	0,04
1998	1,1 %	12 (chimique)	non disponible	2,8 %	2 (chimique) 9 (virus)	non disponible
1999	4,7 %	7 (chimique)	1,6	1,5 %	1 (chimique) 8 (virus)	0,1
2000	4,9 %	10 (chimique)	1,4	3,9 %	9 (virus)	0,08
2001	1,5 %	8 (chimique)	1,9	1,8 %	9 (virus)	1,5

chimiques et Carpovirusine® : 0,37 larve par bande-piège en moyenne contre 1,32 dans le bloc chimique, soit une réduction mesurée de la population larvaire d'environ 72 %.

3. *Prise en considération de la résistance aux insecticides dans le développement de la Carpovirusine®*

En 1993, une étude conduite par la Protection des végétaux et l'INRA de Montfavet (Vaucluse) a permis de mettre en évidence un phénomène de résistance du carpocapse à une molécule de synthèse : le diflubenzuron (Sauphanor *et al.*, 1994). Dès 1994, des essais conduits dans le sud-est de la France montrent des chutes importantes d'efficacité des insecticides de synthèse les plus répandus. Un mécanisme de résistance dite « croisée positive » affecte l'ensemble des spécialités chimiques testées. Ce mécanisme est caractérisé par le calcul d'un facteur de résistance qui est le rapport entre la CL_{50} de la souche sensible de référence sur la CL_{50} de la souche résistante étudiée. Les facteurs de résistance publiés dans cette étude varient de cinq à plus de 300. Les principales familles chimiques utilisées pour le contrôle du carpocapse en verger sont touchées : les benzoylphénylurées, les pyréthrinoïdes et les organophosphorés (Malézieux *et al.*, 1995). Du fait de ces résistances et de conditions climatiques favorables au développement du ravageur, les populations n'ont cessé d'augmenter durant la dernière décennie. L'ensemble des acteurs de la prescription en France ont alors souhaité intégrer les méthodes de lutte alternatives aux programmes conventionnels afin de réduire la pression de sélection du ravageur orientée vers les insecticides concernés par la résistance.

Une première étude conduite au laboratoire de l'INRA de La Minière en 1995 (Biache *et al.*, 1996) a comparé l'activité insecticide du virus de la granulose sur trois populations de carpocapse : deux populations sensibles et une résistante vis-à-vis des insecticides chimiques.

Les souches sensibles sont des souches de laboratoire n'ayant pas reçu de traitement depuis au moins cinq années. La souche résistante aux insecticides chimiques provient du laboratoire de l'INRA de Montfavet. La résistance de cette souche est connue : le diflubenzuron (rapport de résistance : 4 000), les pyréthrinoides (rapport de résistance : 50 à 100) et les organophosphorés (rapport de résistance : trois à dix). Chaque souche est testée avec cinq concentrations de suspension virale (deux répétitions, 100 chenilles néonates de carpocapse par souche). Le traitement est effectué par dépôt sur le milieu nutritif de cinq concentrations.

Les trois souches sont élevées durant six jours en enceinte climatisée à 25 °C, avec 50 % d'hygrométrie et une photopériode de 16 h lumière/8 h obscurité. Un dénombrement des larves vivantes et mortes permet alors le calcul des DL_{50} (exprimée en nombre de granules par mm^2) par la méthode des probits (méthode de Finney).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Les résultats montrent que la population sensible exprime une sensibilité au virus de la granulose identique aux deux populations résistantes (tableau 4).

Un programme de lutte basé sur des insecticides chimiques et le virus de la granulose est donc possible. Toutefois, le mode d'action du virus (par ingestion) doit être préservé. Il ne faut pas d'association avec des larvicides bloquant l'alimentation des larves, mais plutôt des traitements en alternance. L'utilisation d'insecticides régulateurs de croissance des insectes est également mentionnée.

Tableau 4 ■ Étude de la sensibilité de 3 souches de carpocapse au virus de la Carpovirusine®.

Origine de la souche	DL_{50} calculée	Intervalle de confiance à 5 %
Avignon (sensible)	7,8	4,9-12,4
Le Magneraud (résistante)	2,1	1,7-2,6
Avignon (résistante)	2,2	1,6-3,1

DL_{50} exprimée en granules viraux par mm^2.

Des études complémentaires en laboratoire ont été entreprises afin de caractériser les risques de résistance du carpocapse vis-à-vis du virus (Biache *et al.*, 1998).

Des traitements ont été effectués avec une pression de sélection de 70 % (c'est-à-dire une dose de virus pour une DL_{70}) sur une population de carpocapse prélevée dans une région à résistance déclarée aux insecticides courants. Les survivants de cette population sont élevés, accouplés et donnent la génération suivante. Toutes les trois générations, un test biologique est réalisé pour permettre le calcul de la DL_{50} sur la population d'insectes. Plus les générations se succèdent, plus la valeur de la DL_{50} diminue (tableau 5). Après neuf générations traitées par le virus de la granulose, la souche de ravageur s'est éteinte par perte de sa fécondité et de sa fertilité : œufs peu nombreux et stériles.

Tableau 5 ■ Activité de la Carpovirusine® sur plusieurs générations d'une souche de carpocapse.

Génération traitée	DL_{50} calculée	Intervalle de confiance à 5 %
G3	5,3	2,8-10,6
G6	3,7	1,7-9,2
G9	0,5	0,2-2,1

DL_{50} exprimée en granules viraux par mm^2.

Ce résultat ne permet pas de conclure à une absence possible de résistance du carpocapse au virus de la granulose (de tels mécanismes ayant déjà été démontrés

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

avec d'autres ravageurs et d'autres baculovirus), mais indique toutefois une grande sécurité dans l'utilisation du virus comme « outil de gestion de résistance ». En effet, contrairement aux familles chimiques de synthèses permettant le contrôle du ravageur en verger, l'utilisation d'un organisme vivant ayant un mode d'action différent confère une pérennité de l'efficacité larvicide.

Conclusion

Avec l'étude de ces trois éléments clés (efficacité larvicide en verger, transmission du virus d'une génération sur l'autre, gestion possible de la résistance aux insecticides chimiques), le développement de cette spécialité a conduit à l'établissement de recommandations pertinentes.

Cette spécialité, destinée à l'origine à la seule production agrobiologique, se révèle finalement un outil de contrôle du ravageur aussi bien utilisé en agrobiologie qu'en arboriculture conventionnelle. Dans ce deuxième cas, les applications de Carpovirusine® sont intégrées dans les programmes de traitements chimiques, se substituant aux larvicides de synthèse lorsque le niveau des populations le permet.

D'une manière générale, il apparaît que le développement des spécialités biologiques diffère de celui des spécialités de synthèse par deux points principaux :

– d'une part, le niveau de connaissance requis pour préconiser une spécialité « bio » est d'autant plus important que le mode d'action de cette dernière est différent des standards connus, généralement issus des études de molécules de synthèse. En quelque sorte, il convient de faire abstraction des expériences connues, tout en conservant les méthodes conventionnelles d'expérimentation et de travail permettant le développement des produits phytosanitaires ;

– d'autre part, la combinaison possible de différentes méthodes de lutte permet quelquefois un meilleur contrôle des parasites par rapport à l'utilisation d'une méthode unique. C'est le cas de la combinaison « insecticide de synthèse et virus de la granulose » précédemment exposé, mais aussi de la combinaison « confusion sexuelle et virus de la granulose » actuellement en développement.

Différant sur ce point des spécialités de synthèse, les méthodes de protection biologique se révèlent de ce fait plus complexes à développer qu'il n'y parait, ce qui nécessite une phase de développement longue, dépassant bien souvent la date de mise en marché. Pour certaines de ces spécialités biologiques, un développement long, donc coûteux, couplé à une nécessité de technicité plus grande de l'agriculteur utilisateur, peut expliquer certains échecs de commercialisation.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Références bibliographiques

Biache G., Sauphanor B., Sévérini M. (1996). La sensibilité du carpocapse à la granulose : contrôle d'une population résistante aux insecticides chimiques. *Phytoma*, **482** : 25-26.

Biache G., Sévérini M., Guillon M., Quénin H. (1998). Traitements avec la granulose : effects secondaires sur le carpocapse. *Phytoma*, **504** : 43-44.

Malezieux S., Speich P., Martinet C. (1995). Le carpocapse des pommes dans le sud est de la France : un cas complexe de résistance aux insecticides. *Phytoma*, **471** : 18-21.

Perchat S. (1998) *Transmission verticale du virus de la granulose de* Cydia pomonella, *à l'état latent, chez le carpocapse des pommes* (Cydia pomonella L.). Université des sciences et techniques de Lille. Mémoire de DESS.

Sauphanor B., Benoit M., Bouvier J.-C., Perron G., Malezieux S. (1994). Un cas de résistance du carpocapse des pommes au diflubenzuron dans le sud est de la France. *Phytoma*, **458** : 46-49.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

43

Quelle place pour les cultures transgéniques en protection des plantes ? Aspects agro-économiques

Sylvie Bonny

En matière de protection des plantes, choisir des variétés résistantes aux maladies ou aux insectes paraît constituer une solution fort intéressante. De longue date, elle a été utilisée de façon empirique et, durant les dernières décennies, elle a été aussi assez souvent mise en œuvre dans les programmes d'amélioration des plantes. Mais la mise au point et l'emploi de variétés résistantes rencontraient diverses limites, par exemple le manque de variétés cultivées ou sauvages présentant des caractères de résistance à introduire par croisement, une certaine corrélation avec des rendements un peu moins élevés, parfois un coût trop important d'obtention de telles variétés par rapport à d'autres méthodes possibles de lutte phytosanitaire. Aussi, dans les années 80, l'annonce de la réussite du transfert de gènes, en particulier de gènes de résistance, fut souvent considérée comme très prometteuse : cela augmentait nettement les possibilités d'insertion ciblée de gène(s) d'intérêt plutôt que de fragments chromosomiques. Mais la transgénèse végétale fut perçue par certains comme source de risques environnementaux, sanitaires ou socio-économiques et se heurta à des problèmes d'acceptabilité. Jusqu'à fin 2003, ces derniers ont quasiment interdit la culture de plantes transgéniques dans l'Union européenne (UE), Espagne exceptée, et dans divers autres pays. Par contre, en d'autres lieux, les premières cultures transgéniques commercialisées ont connu une expansion rapide.

Ce chapitre vise précisément à présenter l'état des lieux, les premiers résultats et les enjeux de l'emploi de cultures transgéniques en matière de protection des plantes dans les pays développés. En préalable le contexte actuel de l'agriculture est brièvement rappelé. Puis une deuxième partie présente la situation de l'adoption des cultures transgéniques à but phytosanitaire en 2003. Les essais au champ d'organismes génétiquement modifiés (OGM) aux États-Unis sont analysés ensuite afin de disposer d'indications sur les prochains développements possibles. Une quatrième

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

partie aborde l'importance économique actuelle du secteur et les grands types de firmes impliquées. *In fine* une étude de cas traite du soja tolérant à un herbicide, culture transgénique la plus répandue aujourd'hui, et en fait une évaluation agro-économique à l'échelle des exploitations pour analyser les facteurs explicatifs de son importante diffusion aux États-Unis.

Au préalable, il convient de souligner que, même si l'on se restreint au seul thème de leur emploi en protection des plantes, la littérature sur les OGM est considérable. Mais, compte tenu de l'ampleur de la controverse en la matière, les multiples sources d'information disponibles – journaux, médias, sites internet, articles scientifiques, ouvrages – sont fort hétérogènes, assez discordantes et souvent biaisées, parfois involontairement, d'où les difficultés à les utiliser. Cette contribution cherchera à s'appuyer sur des articles scientifiques et des données validées et à éviter autant que possible les points de vue manichéens opposant par exemple soit des OGM funestes et une nature « bonne », soit des OGM miraculeux et une nature « ennemie » ou simple objet à exploiter et mettre à profit.

1. *Le contexte agricole*

L'agriculture française est soumise actuellement à de nombreux facteurs de changement et de fortes contraintes : d'une part l'évolution du contexte socio-économique national et international et la mondialisation de l'économie, d'autre part les impacts et les retombées de diverses innovations scientifiques et techniques, et enfin l'évolution de la demande qui lui est adressée avec comme maîtres mots : qualité et sécurité des aliments, respect de l'environnement, meilleure compétitivité, entretien du territoire, etc.

Le modèle « productiviste » des décennies qui ont suivi la Deuxième Guerre mondiale est souvent l'objet de critiques en matière de techniques utilisées, de qualité des produits, d'environnement, d'aides reçues. De ce fait, il est fréquemment préconisé de viser une agriculture plus durable, c'est-à-dire :

- respectueuse de l'environnement et préservant les ressources naturelles ;
- rentable pour les agriculteurs et praticable à long terme ;
- assurant la suffisance et la qualité de l'alimentation à tous ;
- équitable, et socialement acceptable.

En matière de protection des plantes, cela se traduit notamment par des objectifs de réduction des risques de pollution chimique et un accroissement des réglementations, tout en assurant une absence de toute attaque d'insectes ou de maladies sur le produit final commercialisé, une productivité du travail suffisante et des coûts de production modérés. Selon les cas, sont ainsi préconisées des méthodes de lutte raisonnée, de lutte intégrée, des aides à la décision pour traiter à bon escient et non en intervention systématique, l'agriculture de précision pour apporter la dose utile juste au bon endroit et au bon moment (ACTA, 2002).

Quelle place peut revenir aux cultures transgéniques dans ce contexte ? Mieux utiliser, valoriser et tirer parti des potentialités du monde vivant paraît une option

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

fort intéressante, et les cultures transgéniques peuvent être considérées comme une forme de mise en œuvre de cette option (BCPC, 2003). En effet, au lieu de recourir aux pesticides chimiques de synthèse, on utilise la capacité des organismes vivants à élaborer des mécanismes de défense. Plus largement, les biotechnologies constituent un nouveau paradigme technologique car avec elles on passe de l'emploi des ressources fossiles et chimiques épuisables – qui a caractérisé la révolution industrielle du XIX^{e} siècle et la dernière révolution agricole – à l'utilisation du monde vivant à partir d'une meilleure connaissance de son fonctionnement. Cet emploi croissant de techniques d'action d'ordre biologique peut être une voie vers une plus grande durabilité à condition qu'elles soient bien utilisées. Les biotechnologies peuvent constituer un moyen pour naturaliser les techniques, et pas seulement pour artificialiser davantage le vivant, mais cela dépend de la façon dont elles sont orientées, mises en œuvre et réglementées.

Cependant, beaucoup d'associations écologistes, anti-mondialistes ou de l'agriculture biologique ont vu au contraire dans les OGM de nombreux risques et dangers d'ordre environnemental, économique, social, sanitaire, et refusent cette option. Leurs arguments très fortement médiatisés ont rencontré un large écho, ce qui a entraîné la méfiance d'une grande partie du public, en particulier dans l'UE (Bonny, 2003 ; Evenson et Santaniello, 2004). Par contre, dans d'autres pays, certaines cultures transgéniques se sont bien diffusées.

2. *État de développement des cultures transgéniques à but phytosanitaire dans le monde*

Jusqu'en 2003 la quasi-totalité des espèces transgéniques autorisées cultivées par des agriculteurs en champ (et non en parcelles expérimentales pour des essais) a été porteuse d'un caractère de tolérance à un herbicide ou de résistance à des insectes. Dans le cas d'une culture génétiquement modifiée (GM) tolérante à un herbicide total comme le glyphosate, on peut appliquer cet herbicide pour détruire toutes les adventices sans affecter la plante qui a reçu par génie génétique un gène de tolérance à ce désherbant. Ce type de transgénèse a déçu à son apparition car il fut jugé comme source d'accroissement de l'emploi de désherbant chimique et comme une stratégie de maintien de leur marché par les firmes agrochimiques. Par contre, la création par génie génétique de plantes résistantes à des insectes semblait *a priori* plus intéressante pour la société, l'environnement et la santé. Mais les opposants aux OGM jugent qu'il s'agit là de « plantes à pesticides » présentant aussi de possibles risques pour l'environnement ou la santé. Dans ce cas, la plante GM sécrète une toxine inoffensive pour l'homme, mais toxique pour le (ou les) insecte(s) cible(s). Les plantes GM cultivées à grande échelle, dans le monde au début des années 2000, sont en particulier le maïs et le coton tolérant à certains insectes ravageurs.

Ainsi, en 2003, diverses cultures transgéniques étaient utilisées en protection des plantes. Elles représentaient déjà près de 68 Mha, soit une progression sensible par

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

rapport aux 58,7 Mha de 2002 (James, 2003a, 2003b). Mais le nombre d'espèces, de caractères et de pays concernés était assez limité. En effet, trois productions seulement (soja, maïs, coton) représentaient 94 % de la surface mondiale en OGM. Un caractère, la tolérance à un herbicide (TH), était présent dans près de 73 % des surfaces en cultures transgéniques tandis que la résistance à un insecte l'était dans 19 %, et que 8 % de ces surfaces possédaient simultanément ces deux nouveaux caractères, ce qui accroît la proportion des caractères précédents. Enfin, trois pays (États-Unis, Argentine, Canada) totalisaient à eux seuls 90 % des surfaces mondiales en cultures transgéniques (tableau 1). Autrement dit, en 2003, l'emploi d'OGM en protection des plantes était notable seulement pour quelques cultures, quelques pays et un faible nombre de couples plantes/ennemis des cultures et représentait un peu moins de 5 % de l'ensemble des terres arables de la planète (cultures permanentes et pâturages exclus). Néanmoins son importance était déjà considérable pour le soja par exemple dont près de 55 % des surfaces mondiales sont occupées par du soja transgénique tolérant au glyphosate. Il en était de même pour le coton : un cinquième des superficies était cultivé soit avec du coton *Bt* résistant à certains insectes, soit avec du coton tolérant à un herbicide, soit avec du coton ayant ces deux nouveaux caractères à la fois. Dans une moindre mesure la situation est semblable pour le colza (16 % de surfaces TH) et pour le maïs (11 % des surfaces en variétés *Bt*, TH ou portant ces deux caractères simultanément). Cette concentration actuelle des cultures transgéniques en un faible nombre de caractères tient entre autres à la plus ou moins grande faisabilité pratique de la transgénèse selon les espèces (notamment pour les premiers travaux), à la possibilité de déboucher sur des applications commerciales et aux différences d'acceptation selon les pays.

3. *Le foisonnement des tests au champ de nouveaux OGM aux États-Unis*

Si les cultures transgéniques commerciales concernent pour l'instant peu d'espèces et de caractères introduits, les essais au champ à visée expérimentale portent sur un nombre beaucoup plus élevé de traits modifiés et surtout d'espèces. Autrement dit, les recherches en matière de plantes transgéniques déjà suffisamment avancées pour faire ou avoir fait l'objet de tests au champ, touchent de nombreux végétaux. Le tableau 2 donne un aperçu en la matière pour les États-Unis, pays où a été mené le plus grand nombre d'expériences et où les données répertoriées sont accessibles sans délai (APHIS, 2003). Dans l'UE le nombre d'essais a fortement décliné ces dernières années, ce qui diminue l'intérêt d'en faire un bilan puisque beaucoup datent déjà un peu. Aux États-Unis de 1987 à 2003, plus d'une centaine d'espèces de plantes ont été testées au champ à la suite de l'introduction d'un nouveau caractère par transgénèse. Ces essais ont concerné plus souvent certaines espèces phares (maïs, pomme de terre, soja, coton et tomate), et d'autres bien plus rarement, mais la gamme se diversifie de plus en plus (tableau 2).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau 1 ■ Répartition des cultures transgéniques dans le monde en 2002-2003 (James, 2003).

Pays	Mha 2002	Mha 2003	% 2002	% 2003	Culture	Mha 2002	Mha 2003	% 2002	% 2003
États-Unis	39,0	42,8	66	63	Soja	36,5	41,4	62	61
Argentine	13,5	13,9	23	21	Maïs	12,4	15,5	21	23
Canada	3,5	4,4	6	6	Coton	6,8	7,2	12	11
Brésil	–	3	–	4	Colza	3,0	3,6	5	5
Chine	2,1	2,8	4	4	Pomme de terre	< 0,1	nc	< 1	< 1
Afrique du Sud	0,3	0,4	1	1	Courge	< 0,1	nc	< 1	< 1
Australie	0,1	0,1	< 1	< 1	Papaye	< 0,1	nc	< 1	< 1
Inde	< 0,1	0,1	< 1	< 1					
TOTAL	58,7	67,7	100	100	TOTAL	58,7	67,7	100	100

Caractère transgénique	Mha 2002	Mha 2003	% 2002	% 2003
Tolérance à un herbicide (HT)	44,2	49,7	75	73
Résistance à des insectes (*Bt*)	10,1	12,2	17	19
Résistance à des insectes et tolérance à un herbicide	4,4	5,8	8	8
Résistance à des virus ou autre	< 0,1	< 0,1	< 1	< 1
TOTAL	58,7	67,7	100	100

Mha : Millions ha.

Tableau 2 ■ Les essais au champ d'OGM aux États-Unis de 1987 à 2003.

A. Espèces visées par le plus grand nombre d'essais (classées par nombre décroissant)

Nombre d'essais	Nombre d'espèces concernées	Espèces	Nombre total d'essais/espèce
plus de 500	5	Maïs	4 309
		Pomme de terre	726
		Soja	710
		Coton	638
		Tomate	529
de 100 à 305	8	Blé	304
		Tabac	217
		Luzerne	201
		colza	184
		Riz	165
		Betterave	152
		Agrostis stolonifère	151
		Melon	115
de 30 à 99	10	Laitue	76
		Peuplier	70
		Canne à sucre	43
		Courge	40
		Fraise	40
		Orge	40
		Raisin	34
		Pomme	34
		Tournesol	32
		Pois	30
de 10 à 29	18	Pâturin des prés	
		Arachide	
		Pin	
		Concombre	
		Copalme d'Amérique	
		Pétunia	
		Papaye	
		Chou	
		Stenotaphrum (gazon)	
		Arabette des dames	
		Carotte	
		Poivre	
		Noix	
		Framboisier	
		Fétuque	
		Pastèque	
		Cynodon dactylon (gazon)	
		Peuplier noir d'Amérique	
de 1 à 9	Plus de 60		

Source : calculs de l'auteur à partir de la base APHIS au 15 décembre 2003 (2003).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau 2 (suite) ■ Les essais au champ d'OGM aux États-Unis de 1987 à 2003.

B. Caractères transgéniques testés au champ de 1987 à 2003[1]

Caractère	Total 1987 -2003	2003	2002	2001	2000	1999	1998	1997	1996	1995	1994	1993
Tolérance à un herbicide	26,6	31,4	29,1	21,8	30	21	28	31	24	22	26	32
Résistance à des insectes	24,5	18,3	33,2	33,0	25	21	23	21	25	26	19	21
Résistance à un virus	10,5	2,5	2,4	3,5	9	15	13	13	15	14	16	15
Résistance fongique	5,2	4,4	3,2	4,2	6	5	8	6	7	4	3	4
Résistance bactérienne	0,9	0,4	0,1	0,8	1	1	1	1	1	1	0	1
Résistance à un nématode	0,1	0,2	0,0	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0
Caractère qualitatif	17,0	21,5	15,6	13,8	12	15	15	14	17	24	29	21
Propriétés agronomiques	7,0	11,1	8,8	10,1	5	10	7	7	3	4	3	3
Gène marqueur	3,9	6,0	3,9	6,0	5	5	3	3	3	2	2	1
Autre	4,2	4,2	3,5	6,8	6	6	2	3	5	4	2	2
Nombre d'essais[2]	**9 377**	**769**	**1 141**	**1 128**	**937**	**986**	**1 086**	**744**	**626**	**681**	**593**	**306**

1. En % du total chaque année – les 1[res] lignes correspondent aux caractères liés à la protection des plantes.
2. Certains essais portent sur deux (ou plus) caractères ; les pourcentages sont établis en proportion du nombre total de caractères testés (non du nombre d'essais).

Source : calculs de l'auteur à partir de la base APHIS au 15 décembre 2003 (2003).

Les nouveaux caractères introduits par transgénèse testés au champ de 1987 à 2003 ont porté en premier lieu sur des traits liés à la protection des plantes, notamment la tolérance à un herbicide (plus de 3 000 essais), la résistance à des insectes (plus de 2 800 essais), la résistance à des virus (plus de 1 200 essais), la résistance fongique (près de 600 tests), enfin, la résistance à des maladies bactériennes et à des nématodes (tableau 2 ; figure 1). Au total les 9 400 essais environ effectués de 1987 à 2003 ont servi à tester plus de 11 550 nouveaux traits (certains OGM ayant deux ou trois nouveaux traits insérés simultanément), parmi lesquels 68 % étaient liés à la protection des plantes. Dans l'avenir, cette proportion pourrait peut-être diminuer quelque peu car on fixe souvent aux OGM de deuxième génération l'objectif de bénéficier en premier lieu aux consommateurs en en escomptant une meilleure acceptabilité là où elle fait défaut.

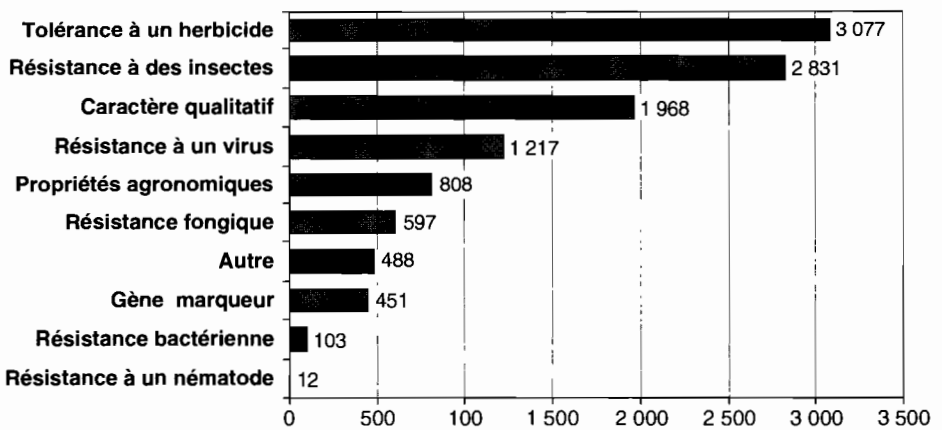


Figure 1 ■ Caractères testés dans les essais au champ de plantes transgéniques aux États-Unis entre 1987 et le 15 décembre 2003 (en nombre d'essais).
(D'après la base APHIS, 2003.)

4. *Marchés et firmes impliquées*

Le développement d'une nouvelle technique, en particulier quand elle nécessite de lourds investissements en matière de recherche, d'évaluation, de réglementation et de mise en marché, suppose que des acteurs s'y mobilisent fortement pendant une durée assez longue. Au niveau industriel, de nombreux groupes se sont de fait intéressés aux biotechnologies végétales, notamment au tout début certaines industries pétrolières, plus tard des firmes pharmaceutiques et agrochimiques, et bien sûr le secteur semencier. Cependant, les difficultés rencontrées, en particulier les contraintes de rentabilité financière imposées par la financiarisation de l'économie, ont amené à un retrait de certains groupes et ont contribué ensuite à un important mouvement de concentration dans l'agro-industrie : dans les années 1995 à 1999 ont eu lieu de

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

nombreuses opérations de rachat, fusion, acquisitions et alliances. De grandes firmes de la pharmacie ou de l'agrofourniture ont notamment investi dans les semences et les biotechnologies agricoles (Bijman, 2001). Mais cette approche globale des sciences de la vie, associant activités pharmaceutiques et agrochimiques, a elle-même rencontré des difficultés, et celles-ci se sont séparées au tout début des années 2000.

De la sorte en 2003, les grandes entreprises investies dans les biotechnologies appartiennent aux secteurs semencier et phytosanitaire (tableau 3). Ces deux domaines ont été fortement marqués par le développement des biotechnologies. Quantifier avec précision leur évolution économique au niveau mondial s'avère un peu délicat car, selon les sources et les délimitations précises retenues, les données peuvent différer. En effet, à l'échelle mondiale, le secteur des semences pris dans son intégralité est très hétérogène : une partie est constituée par des semences de ferme parfois échangées entre producteurs ou commercialisées sur des marchés locaux, une partie peut provenir d'institutions parapubliques, enfin, une fraction croissante relève du secteur commercial. La valeur globale des semences utilisées au niveau mondial était estimée à 50 milliards USD pour l'année 1997 (Le Buanec, 1997 et 1998). La part commerciale qui s'élève à environ 30 milliards USD selon les sources professionnelles en 2002, est elle-même fort hétérogène selon les pays (Le Buanec, 1998 ; ISF, 2003). Très approximativement, la moitié serait détenue par de petites entreprises, l'autre moitié (15 milliards USD) par de grandes firmes de dimension internationale. Ce tout dernier secteur est dominé par quelques groupes ayant souvent à la fois une activité semencière et agrochimique, suite aux fusions et acquisitions réalisées. Ce sont elles qui investissent dans les biotechnologies agricoles.

En particulier, six grands groupes agrochimiques et semenciers y étaient en 2003 fortement impliqués : Bayer CropScience, Syngenta, Monsanto, DuPont/Pioneer et dans une moindre mesure BASF et Dow (tableau 3). Cependant, jusqu'en 2002 et 2003, les plantes transgéniques cultivées dans le monde avaient encore, pour la majorité, des caractères génétiquement modifiés provenant de Monsanto qui avait considérablement investi en la matière dans la décennie précédente.

En 2002, les ventes mondiales de semences transgéniques s'élevaient selon les estimations à 3,3 ou 4 milliards USD, en progression rapide depuis 1996 où elles étaient d'environ 140 millions USD (tableau 4) (CropLife International, 2003 ; James 2003b). Ce montant inclut à la fois le prix des semences et celui des licences d'utilisation à y ajouter si elles sont comptabilisées à part. Mais en termes statistiques le marché des semences transgéniques était encore modeste comparé à d'autres domaines liés, comme le montre l'évaluation des ordres de grandeur approchés du montant des ventes mondiales en 2002 (*cf.* encadré « Montants des ventes mondiales en 2002 dans différents secteurs »).

Cette faible part des semences transgéniques ne saurait surprendre puisque, en dehors du soja, maïs et coton, les cultures transgéniques représentaient en 2002 un pourcentage très modeste des cultures mondiales. Mais les biotechnologies végétales constituent un domaine d'investigation important, dont les applications dépassent de loin les seuls OGM. Par ailleurs l'industrie phytosanitaire et semencière a déjà été fortement touchée par leurs premiers développements, ne serait-ce

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau 3 ■ Évolution entre 1996 et 2002 des ventes mondiales des secteurs semenciers (grands groupes seuls), phytosanitaires et de semences transgéniques.

A. Ventes mondiales de semences des principaux grands groupes (millions USD)

Firmes	1996	Firmes	2002
Pioneer (États-Unis)	1 721	DuPont/Pioneer (États-Unis)	2 000
Novartis (Suisse) – ex-Ciba Geigy & Sandoz	991	Monsanto (États-Unis)	1 600
Limagrain (France)	552	Syngenta (Suisse)	937
Advanta (Zeneca/Van der Have) (Pays-Bas)	493	Seminis (États-Unis)	453
Seminis/ELM (Mexique)	400	Advanta (Pays-Bas)	435
Sakata (Japon)	403	Limagrain (France)	433
Takii (Japon)	396	KWS (Allemagne)	391
Dekalb Plant Genetics (Monsanto) (États-Unis)	388	Sakata (Japon)	376
KWS (Allemagne)	377	Delta & Pine Land (États-Unis)	258
Cargill (États-Unis)	250	BayerCropCscience (Allemagne)	250
Cebeco (Pays-Bas)	170	Dow (États-Unis)	200
Ventes totales des firmes mentionnées	6 141	Ventes totales des firmes mentionnées	7 333
dont semences GM	148	dont semences GM	3 100 à 4 066

Sources : James, 2003 et lettres d'informations de consultants spécialisés (Phillips McDougall, Wood Mackenzie, Allan Woodburn Ass., Agrow World Crop Protection News).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

B. Ventes mondiales de produits phytosanitaires (milliards USD)

Firmes	1996	Firmes	2002
Novartis (Suisse)	4,53	Bayer CropScience y compris Aventis (Allemagne)	6,00
Monsanto (États-Unis)	3,00	Syngenta (Suisse)	5,26
Zeneca (Royaume-Uni)	2,63	Monsanto (États-Unis)	2,85
AgrEvo (Allemagne)	2,49	BASF (Allemagne)	2,80
DuPont (États-Unis)	2,47	Dow (États-Unis)	2,52
Bayer (Allemagne)	2,36	DuPont (États-Unis)	1,79
Rhône-Poulenc (France)	2,21	Sumitomo Chemical (Japon)	0,80
DowElanco (États-Unis)	2,00	MAI Makhteshim-Agan (Israël)	0,78
Cyanamid (États-Unis)	1,99	FMC Corporation (États-Unis)	0,61
BASF (Allemagne)	1,54	Nufarm (Australie)	0,56
C6[1] (%)	57	C6[1] (%)	78 à 84
Ventes totales	30,56	Ventes totales	25,15 à 27,15

1. C6 = part de marché détenue par les 6 plus grandes firmes (mesure la concentration du secteur).
Sources : James, 2003 et lettres d'informations de consultants spécialisés (Phillips McDougall, Wood Mackenzie, Allan Woodburn Ass., Agrow World Crop Protection News).

Tableau 3 (suite) ■ Évolution entre 1996 et 2002 des ventes mondiales des secteurs semenciers (grands groupes seuls), phytosanitaires et de semences transgéniques.

C. Ventes mondiales de produits phytosanitaires, semences et semences transgéniques en 2002 (milliards USD)

Firmes	Produits phytosanitaires (semences GM exclues)	Semences, y compris GM	Ensemble produits phytosanitaires et semences y compris GM
Bayer Cropscience	6,0	0,2	6,2
Syngenta	5,3	0,9	6,2
Monsanto	2,9	1,6	4,5
DuPont/ Pioneer	1,8	2,0	3,8
BASF	2,8	0,1	3,3
Dow	2,5	0,2	2,7
Total des 6 firmes	21,3	5,0	26,7

GM : Génétiquement modifié.
Sources : James, 2003 et lettres d'informations de consultants spécialisés (Phillips McDougall, Wood Mackenzie, Allan Woodburn Ass., Agrow World Crop Protection News).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Montant des ventes mondiales en 2002 dans différents secteurs (ordre de grandeur en milliards USD)

• Semences transgéniques	3,3 à 4,1
• Produits phytosanitaires	25,0
• Semences conventionnelles industrielles (grandes firmes)	12,9
• Ensemble du secteur commercial semences et plants	30,0
• Toutes semences, y compris semences fermières	45,0
• Engrais et fertilisants	70,0
• Secteur de la pharmacie	400,0
• Produits pharmaceutiques et de santé issues des biotechnologies	40,0

que de façon indirecte (Kalaitzandonakes, 2003 ; McDougall et Phillips 2003). Ainsi, les ventes mondiales de produits de protection des cultures ont eu tendance à décliner entre 1996 et 2002, en particulier pour les herbicides (tableau 4). Cela tient entre autres à la stagnation des prix agricoles, au développement des génériques, mais aussi à la concurrence des cultures transgéniques dans le cas du marché américain.

Les firmes du secteur phytosanitaire ont investi dans les biotechnologies végétales et les semences transgéniques car cela leur paraissait une nouvelle voie de développement et une voie d'avenir suite à diverses difficultés du secteur des pesticides. En effet, le marché agrochimique a plutôt stagné entre 1990 et 2002 (tableau 4) alors que les coûts pour découvrir et commercialiser une nouvelle molécule s'accroissaient (McDougall, 2003). Comme beaucoup d'autres, le secteur agrochimique s'est concentré dans la décennie 1990 et les grandes firmes ont racheté des entreprises semencières et des petites et moyennes entreprises (PME) biotechnologiques. Cela a mené à la constitution de grands groupes phytopharmaceutiques et semenciers qui détiennent une part croissante du marché (tableau 3).

Même si la concentration est un peu plus faible dans ce domaine que dans d'autres secteurs économiques, elle suscite des inquiétudes et des critiques : certains se préoccupent de la forte dépendance des agriculteurs, et *in fine* de l'alimentation et des consommateurs, envers quelques grands oligopoles, d'autant plus que ces derniers sont eux-mêmes tributaires des marchés financiers. Ils craignent aussi le risque de perte de diversité des semences commercialisées et un danger d'appauvrissement des agriculteurs des pays les plus pauvres en raison de difficultés d'accès à des semences améliorées et de la concurrence accrue des grands pays exportateurs, voire des risques de biopiratage de certaines ressources génétiques. Cela a contribué au mouvement d'opposition aux OGM. En outre, même si le degré de concentration des firmes est moindre dans les semences que dans d'autres secteurs de l'économie, il est bien plus important pour les semences transgéniques elles-mêmes.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau 4 ■ Évolution du marché mondial des secteurs phytosanitaire et semencier[1] (milliards USD).

A. Vente de produits phytosanitaires, semences industrielles conventionnelles et semences transgéniques de 1996 à 2002

Ventes / Années	Pesticides	Semences industrielles conventionnelles	Semences transgéniques (selon deux estimations)		Ensemble pesticides et semences y compris OGM	
			(a)	James (2003)	(a)	James (2003)
1996	28,39	14,98		0,148	–	43,5
1997	29,09		0,67	0,859	–	–
1998	29,00	14,32	1,64	1,970	45,0	45,3
1999	28,09		2,37	2,947	–	
2000	27,83	13,80	2,67	3,044	44,3	44,7
2001	25,76	13,37	3,01	3,669	44,14	42,8
2002	25,15	12,89	3,31	4,066	41,31	41,5
2002/01 (%)	–2,4 %		+ 10,0 %	+ 11 %		

(a) Estimations de Phillips McDougall (2003) et CropLife International (2003).

1. Les estimations du marché des produits phytosanitaires varient quelque peu selon les sources car la délimitation précise du secteur peut changer selon que sont inclus ou non les produits employés hors de l'agriculture (jardins, espaces verts) et certains pesticides domestiques et même industriels : dans la mesure du possible, les produits de protection des cultures sont seuls pris en compte ici.
Par ailleurs, pour les semences, seules les ventes de l'industrie sont comptées dans les évaluations.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

B. Évolution des ventes de produits phytosanitaires de 1990 à 2002

	Ventes mondiales totales	TCAM (%)	herbicides
1989		2,8	
1990	23,17	−0,5	
1991	23,30	−0,3	
1992	24,03	−1,6	
1993	24,06	−0,5	
1994	25,61	2,2	
1995	28,39	4,3	13,81
1996	29,22	3,7	
1997	29,09	2,1	14,70
1998	29,00	0,1	
1999	28,09	−5,7	14,28
2000	27,83	−1,0	14,14
2001	25,76	−6,8	12,89
2002	25,15	−5,0	12,47

TCAM : taux de croissance annuel moyen.
Sources : associations internationale et européenne des industries de la protection des plantes.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

5. *Étude de cas : le soja tolérant à un herbicide aux États-Unis – Bilan agroéconomique*

Aux États-Unis le soja tolérant au glyphosate dit « *Roundup Ready®* » (RR) s'est rapidement diffusé depuis son lancement sur le marché en 1995-96. En 2004 il y représentait 85 % des surfaces en soja, et même davantage dans certains États (Dakota du Sud : 95 % ; Mississippi : 93 % ; Arkansas et Nebraska : 92 %) (USDA-NASS, 2004). Quels facteurs expliquent que le soja RR ait rapidement remplacé le soja conventionnel et les désherbants utilisés avec, alors qu'ailleurs les OGM étaient assez souvent considérés avec suspicion ? Les éléments de ce succès des OGM aux États-Unis – où se trouvent 63 % des cultures transgéniques mondiales – et en particulier du soja RR sont multiples. Entrent notamment en compte le contexte institutionnel, économique et culturel favorable avec une « foi » importante dans le progrès et le « business », également le soutien de nombreux acteurs, et la stratégie vigoureuse de Monsanto en la matière ainsi que l'intérêt des associations et syndicats agricoles pour cette innovation. Mais pour les « *farmers* » eux-mêmes au niveau des exploitations, quels facteurs ont contribué au choix de ce type de désherbage ? On va s'attacher ici à faire un bilan agroéconomique sur cet aspect car il est mal connu en France.

À l'échelle des exploitations, plusieurs aspects entrent en jeu. Le tableau 5 donne une vue d'ensemble des avantages et inconvénients du soja RR qui doit être affinée dans chaque situation (Bonny, 2002). L'un de ses premiers intérêts pour les agriculteurs provient notamment du fait qu'il simplifie, du moins à court terme, le désherbage. Auparavant les agriculteurs utilisaient plusieurs herbicides et diverses adventices restaient difficiles à contrôler. La culture transgénique permet une gestion plus facile du désherbage car un seul produit peut suffire. Par ailleurs la période où l'on peut traiter est un peu plus longue, ce qui permet une plus grande flexibilité du travail et diminue le risque d'intervenir trop tard si les conditions météorologiques empêchent de le faire à la période adéquate. De plus les herbicides utilisés naguère étaient pour certains assez rémanents et pouvaient affecter les cultures suivantes et même le soja lui-même (UIUC, 1999 ; Carpenter et Gianessi 1999, 2000, 2001, 2002 ; Bullock et Nitsi, 2001 ; Nelson 2001 ; Gianessi *et al.*, 2002).

Avant les variétés transgéniques, en 1995, le soja recevait en moyenne 1,8 traitements herbicides correspondant à 2,7 matières actives différentes (41 % des surfaces recevaient un traitement, 44 %, deux traitements, 12 %, trois traitements) (USDA-ERS, 2003). L'emploi de soja transgénique a souvent permis de réduire le nombre de traitements (Heimlich *et al.*, 2000 ; Fernandez-Cornejo et McBride, 2002). Cette réduction est difficile à chiffrer compte tenu de la diversité des pratiques selon les adventices présentes et de l'emploi possible du glyphosate avec des variétés non transgéniques, notamment en cas de semis sans labour : les statistiques disponibles ne permettent pas de distinguer les divers types d'usage. La diffusion du soja RR a donc entraîné une forte substitution du glyphosate aux autres désherbants. Pour limiter leurs pertes de marché et rester concurrentielles, les firmes agrochimiques qui les produisaient ont baissé leurs prix à partir de 1996,

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau 5 ■ Principaux avantages et inconvénients du soja tolérant au glyphosate.

Avantages	Inconvénients
1. Agroéconomiques – Gestion du désherbage souvent plus facile. – Moindre risque économique de désherbage raté et plus grande flexibilité du travail (on peut traiter pendant une période un peu plus longue). – Diminution assez fréquente du nombre de traitements herbicides. – Réduction du coût des traitements herbicides, d'où légère augmentation possible de la marge. – Réduction du temps de travail et d'utilisation du matériel pour les traitements en général. – Rotation des cultures plus facile : le glyphosate, non rémanent, ne nuit pas à la culture suivante contrairement à d'autres herbicides. – Récolte plus propre (moins de graines d'adventices). – S'associe bien avec les TCS (techniques de conservation des sols). – Rendement similaire au soja conventionnel. **2. Environnementaux** – Glyphosate peu toxique ⇒ diminution de l'impact sur l'environnement des herbicides employés. – Réduction (variable) du nombre de passages de tracteurs ou épandeurs. – Souvent associé aux TCS qui réduisent l'érosion du sol. **3. Sécurité sanitaire** Le glyphosate vient en remplacement d'autres herbicides souvent plus toxiques, d'où réduction des risques.	**1. Agroéconomiques** – Surcoût de la semence. – Marge assez similaire à celle en culture conventionnelle (le prix des autres herbicides ayant diminué). – Plus grande dépendance envers les firmes d'agrofourniture si un contrat d'engagement stipule de ne pas réutiliser une part de récolte comme semence, et/ou d'utiliser le glyphosate préconisé et non un générique. – Plus grande attention nécessaire dans la chaîne de fabrication des semences afin d'éviter la présence accidentelle de graines GM dans un sac de semences certifié « non OGM ». – Pour le soja très faible risque de polliniser des cultures de soja voisines, mais nécessité croissante de bien séparer les diverses récoltes pour éviter des mélanges de graines. – Augmentation de la suspicion de certains consommateurs envers les produits agricoles. – D'où risque de difficulté parfois pour vendre ou exporter. **2. Environnementaux** La croissance de l'emploi du glyphosate (OGM et TCS) risque d'induire le développement d'adventices résistantes à cet herbicide, d'où perte de la possibilité de l'utiliser alors que ce désherbant est peu toxique. **3. Sécurité sanitaire** Risque potentiel d'accumulation de métabolites de dégradation des adjuvants du glyphosate dans la plante ?

d'où une réduction globale des coûts des traitements herbicides pour tous les producteurs de soja, qu'ils utilisent des variétés transgéniques ou non (Bullock et Nitsi, 2001 ; Kalaitzandonakes, 2003).

Pour les agriculteurs, l'intérêt économique du soja RR par rapport au soja conventionnel dépend notamment de leurs marges respectives. La semence transgénique est plus coûteuse mais cela est en général compensé par la réduction des dépenses en herbicides. Aussi les sojas conventionnel et transgénique ont-ils une marge assez proche. Mais divers aspects renforcent l'intérêt du soja RR pour les agriculteurs, parfois de façon importante :

– la gestion du désherbage relativement plus facile et la simplification du traitement herbicide libèrent du temps pour d'autres activités. Cet aspect difficilement chiffrable est notable car le métier d'agriculteur comporte de multiples tâches, parfois en concurrence lors des pointes de travail, *a fortiori* en cas de multifonctionalité, de multiactivité ou de grande surface ;

– la diminution du risque d'un désherbage raté : avec le soja RR la période où l'on peut épandre l'herbicide est un peu plus longue, ce qui est intéressant en cas d'intempéries ou de grande surface. Cependant, un traitement trop tardif nuira au rendement (Knezevic *et al.*, 2003) ;

– la culture de soja RR va souvent de pair avec d'autres techniques comme une culture en rangs plus serrés et les techniques de « conservation des sols » (TCS) (Barnes, 2000). Ces dernières se développent en raison de divers programmes pour limiter l'érosion et préserver les sols. Des enquêtes montrent une liaison entre l'adoption des TCS et du soja RR ;

– l'engagement par contrat de ne pas réutiliser pour la campagne suivante une petite part de sa récolte comme semence renchérit le coût de celle-ci. Aux États-Unis, en 1998, 15 à 20 % des surfaces de soja étaient ensemencées par des graines provenant de la récolte précédente de l'agriculteur et non achetées sur le marché, et dans d'autres pays comme l'Argentine (gros producteur de soja) cette proportion atteignait 25 à 35 % et était accrue par les achats à d'autres agriculteurs hors circuits commerciaux officiels (US GAO, 2000). Mais les firmes ont tenu compte de cet élément dans leur politique de prix des semences transgéniques : ainsi pour le soja RR, ces dernières étaient vendues beaucoup moins cher en 1998 en Argentine qu'aux États-Unis. Cette politique tarifaire a d'ailleurs entraîné des protestations de la part des producteurs américains s'estimant pénalisés ;

– les flux de gènes entre des cultures voisines de soja conventionnel et de soja GM ne posent pas de problème ici. Le soja, plante à 99 % autogame, induit peu de risques de pollinisation fortuite de cultures voisines non OGM de même espèce comme cela est le cas pour le colza et le maïs.

Il est difficile d'évaluer avec précision le différentiel économique entre soja RR et conventionnel compte tenu de l'importance des variations (Foreman et Livezey, 2002). La différence de marge entre les deux types de soja résulte en effet des écarts portant sur les coûts des semences, les dépenses en traitements herbicides, les rendements obtenus et le prix du soja récolté (différentiel de marge = différentiel (valeur du soja produit – herbicides – semences)). Or, chacun de ces éléments

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

varie, pour une année donnée, entre les exploitations et se modifie au fil du temps. Ainsi, l'écart entre soja RR et conventionnel dépend des adventices présentes et des herbicides (ou autres moyens de contrôle) utilisés : en conventionnel l'éventail des possibilités est large ; en transgénique, il existe aussi une certaine gamme selon les formulations, le type d'adjuvant et la concentration. De la sorte, le poste « semences plus herbicides » est plus faible en soja RR pour une part des surfaces, mais pas toujours (Bullock et Nitsi, 2001). De façon globale, approximativement, le surcoût de la semence transgénique était compensé ces dernières années par une moindre dépense en herbicides due à un prix un peu plus bas du glyphosate et à un nombre total de traitements moins élevé, d'où assez souvent des coûts de production un peu plus faibles.

Pour comparer l'intérêt économique relatif de différentes techniques dans divers contextes, on cherche souvent à mettre en regard, dans chaque cas, les coûts de production ou la marge alors que cette approche présente des limites. En effet, la comparaison est très liée aux rapports de prix qui peuvent varier assez nettement, autrement dit son résultat dépend de paramètres externes dont les fluctuations ont de multiples causes. Aussi est-il utile de la compléter par une analyse en termes de quantité de moyens de production employés. De plus, une notion ancienne souvent oubliée doit être rappelée : il faut considérer l'exploitation comme un système et éviter d'étudier une production ou une technique isolément. En particulier, établir le coût de production d'une culture selon différentes techniques, indépendamment des autres productions et de son interaction avec le fonctionnement de l'ensemble de l'exploitation, peut donner une vue erronée. Ainsi, le soja RR peut avoir pour l'agriculteur d'autres avantages que la seule possible amélioration de la marge : simplification du désherbage libérant du temps pour d'autres productions ou activités, association assez bonne avec les TCS ce qui permet le développement de celles-ci (effet de synergie), non-rémanence de l'herbicide. Enfin, le calcul de rentabilité micro-économique néglige souvent les coûts externes environnementaux, économiques ou de plus long terme, et l'on doit de ce fait viser des approches multicritères.

De fait, même si le développement du soja GM parait une « *success story* » aux États-Unis, il va de pair avec divers aspects plus mitigés, d'ailleurs pas toujours liés à cette technique elle-même. On ne mentionnera ici que deux aspects : d'une part le comportement agressif des firmes – d'autant plus que le contexte économique et financier exige un taux fort élevé de rentabilité du capital, d'autre part la croissance notable de l'emploi du glyphosate dans divers usages qui pourrait induire le développement d'adventices résistantes au glyphosate. Cela a déjà été observé de façon limitée (Heap, 2004). Si ce phénomène s'étendait sur une large échelle, le glyphosate ne pourrait plus être utilisé comme herbicide en divers lieux (*cf.* chapitre 36). On devrait employer d'autres désherbants plus polluants, d'où une perte au niveau environnemental pour la société (Bonny et Sausse, 2004).

Cette étude de cas montre qu'évaluer, même au seul niveau des exploitations agricoles, une culture transgénique utilisée en contrôle phytosanitaire requiert la prise en compte de nombreux aspects. Autrement dit on ne peut pas juger de façon

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

globale et définitive les OGM. Cette appréciation est à faire au cas par cas selon la culture, le contexte et selon une durée assez longue. En effet, il faut considérer les types de systèmes de production, les situations locales, les diverses autres possibilités (les techniques alternatives) et leurs impacts, la durabilité des divers moyens (afin d'éviter le contournement des résistances par l'apparition précoce de ravageurs devenus insensibles), les effets environnementaux directs et indirects. On ne peut non plus s'en tenir à de simples comparaisons de marge entre cultures GM et non GM car il faut considérer les interactions.

Conclusion

Au XX^{e} siècle la protection des plantes a obtenu des succès importants, mais aussi des revers notables. Pour ne citer qu'un exemple, dans un certain nombre de pays, aux travaux de sarclage manuels fort pénibles et éreintants a succédé l'emploi d'herbicides qui réduisent beaucoup la peine des hommes. Cependant, on s'aperçut assez rapidement qu'ils avaient également bien des effets négatifs. Aussi un emploi plus précautionneux en est-il désormais recherché. Au tout début du XXI^{e} siècle, les cultures transgéniques se retrouvent au cœur d'un débat similaire bénéfices/risques (Zadoks et Waibel, 2000). Après l'engouement, ou du moins l'intérêt, soulevé par les biotechnologies à leurs tout débuts, a succédé parfois un vif désenchantement, et même une très forte hostilité dans le cas des applications du génie génétique en agriculture.

À la fin des années 70 et au début des années 80, les biotechnologies ont pu être vues comme une nouvelle vague d'innovations techniques, un nouveau paradigme technologique, reposant sur une meilleure valorisation des potentialités du vivant et pouvant contribuer à une agriculture plus durable. Ce nouveau paradigme paraissait susceptible de dépasser diverses limites de la vague précédente d'innovations basée notamment sur la chimie et les énergies fossiles. Mais les premières cultures transgéniques largement répandues, celles tolérantes à un herbicide, ont, de par cette caractéristique, déçu certains. À la fin des années 70, on évoquait en effet beaucoup le potentiel des biotechnologies pour obtenir des plantes plus autonomes susceptibles par exemple de fixer l'azote de l'air ou de se passer de divers pesticides. Or, le soja RR et les plantes TH actuellement les plus répandues vont de pair avec l'usage d'un herbicide, même s'il est considéré comme moins nocif que bien d'autres.

Face à la vive controverse actuelle souvent très manichéenne sur les OGM, quelques points doivent être rappelés :

– les impacts des techniques ne sont pas déterminés *a priori*, mais dépendent fortement des buts qui leur sont donnés, des orientations de leurs applications et de leurs conditions d'utilisation, c'est-à-dire de la façon dont elles sont mises en œuvre, réglementées, employées en pratique. Elles dépendent donc du contexte socio-économique, culturel et institutionnel de leur emploi. Ainsi, sont surtout en question la gestion et la conduite de l'innovation et des techniques – au sens le plus large de ces termes ;

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

– il serait utile de mieux distinguer ce qui relève des OGM eux-mêmes de ce qui relève de la façon dont ils sont orientés et employés actuellement, vu les mécanismes économiques dominants qui induisent diverses contraintes pour tous les acteurs. Les OGM sont en effet parfois accusés de divers impacts ne provenant pas réellement du génie génétique en lui-même, mais plutôt du système économique et financier, comme par exemple la marchandisation croissante de divers biens, les brevets, la concentration des entreprises ou la recherche par celles-ci de rentabilité rapide ;

– il faut selon les situations locales analyser les diverses solutions envisageables et mettre en œuvre autant que possible plusieurs méthodes simultanément pour éviter une trop forte dépendance d'une part envers une technique pouvant induire des effets négatifs si elle est surutilisée, d'autre part envers une option majoritaire entraînant une perte de compétences dans les autres voies ;

– les cultures transgéniques sont récentes et les applications des biotechnologies modernes en sont à leurs débuts. Les OGM actuels sont, en quelque sorte, des prototypes. Or, une innovation évolue toujours considérablement entre les tout premiers produits apparus et ceux développés ensuite, en raison des avancées scientifiques et techniques, des évolutions socio-économiques d'ensemble et des réactions des acteurs impliqués. Dans le cas du génie génétique, divers développements pourraient ainsi réduire certains risques craints.

Les premières cultures transgéniques se sont développées dans un contexte économique marqué par la financiarisation de l'économie qui a entraîné une recherche de rentabilité très rapide parfois peu compatible avec certains objectifs de développement durable affichés, ou avec le niveau souvent bas des prix agricoles. Plus généralement la compétition exacerbée et la recherche de profits élevés et rapides exigés par les marchés financiers sont-elles compatibles avec l'objectif d'orientation vers un développement durable, notamment en agriculture ? Le développement durable n'est pas seulement la réduction des pollutions, il repose aussi sur des relations économiques et sociales plus harmonieuses, et par là sans doute sur des comportements plus coopératifs entre les divers acteurs.

Références bibliographiques

ACTA (2002). *Pesticides et protection phytosanitaire dans une agriculture en mouvement.* ACTA (Association de coordination technique agricole) et MEDD (Ministère de l'écologie et du développement durable), Paris.

APHIS (2003). *USA Environmental Releases Database* (information on field tests of genetically modified organisms). USDA, APHIS (Animal and Plant Health Inspection Service). Searchable Database available at the Information Systems for Biotechnology (ISB). http://www.isb.vt.edu/

Barnes R.L. (2000). Why the American Soybean Association supports transgenic soybeans. *Pest Manag Sci*, **56** : 580-583.

BCPC (2003). *Biotech 2020. Crop biotechnology in the world of 2020.* BCPC (British Crop Protection Council), Farnham (UK).

Bijman W.J.J. (2001). How biotechnology is changing the structure of the seed industry. *Int J Biotechnology*, **3** : 82-94.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Bonny S. (2002). Le succès des cultures transgéniques aux USA : facteurs explicatifs et perspectives. *Économie Rurale*, **267** : 91-105.

Bonny S. (2003). Why are most Europeans opposed to GMOs? Factors explaining rejection in France and Europe. *EJB Electronic Journal of Biotechnology*, **6** : 20-41. http://www.ejbiotechnology.info/content/vol6/issue1/full/4/index.html

Bonny S., Sausse C. (2004). Les cultures transgéniques permettent-elles de réduire l'usage des produits phytosanitaires ? Considérations à partir du cas du soja tolérant au glyphosate. *OCL-OL corps gras Li*, **11** : 85-91.

Bullock D., Nitsi E. (2001). Roundup Ready Soybean Technology and Farm Production Costs: Measuring the Incentive to adopt GM seeds. *Am Behav Scientist*, **44** : 1283-1301.

Carpenter J., Gianessi L. (1999). Herbicide Tolerant Soybeans: Why Growers are adopting Roundup Ready Varieties. *AgBioForum*, **2** : 65-72.

Carpenter J., Gianessi L. (2000). *Agricultural Biotechnology. Benefits of Transgenic Soybeans.* NCFAP (National Center for Food and Agricultural Policy), Washington.

Carpenter J., Gianessi L. (2001). *Agricultural Biotechnology: Updated Benefit Estimates.* NCFAP (National Center for Food and Agricultural Policy), Washington.

Carpenter J., Gianessi L. (2002). Case Study in Benefits and Risks of Agricultural Biotechnology: RR Soybeans. *In* Santaniello V., Evenson R.E., Zilberman D., *Market Development for Genetically Modified Food.* CABI Publishing, Wallingford, 227-243.

CropLife International (2003). *Facts and Figures 2002.* CropLife International (Fédération internationale de l'industrie de la protection de plantes), Bruxelles. http://www.croplife.org/

Evenson R.E., Santaniello V. (2004). *Consumer Acceptance of Genetically Modified Foods.* CABI Publishing, Wallingford.

Fernandez-Cornejo J., McBride W.D. (2002). *Adoption of Bioengineered Crops.* Agricultural Economic Report (810), USDA-ERS (USDA, Economic Research Service), Washington.

Foreman L., Livezey J. (2002). Characteristics and Production Costs of U.S. Soybean Farms. *USDA-ERS Statistical Bulletin* N SB974-4.

Gianessi L.P., Silvers C.S., Sankula S., Carpenter J.E. (2002). *Plant biotechnology current and potential impact for improving pest management in U.S. agriculture: an analysis of 40 case studies.* NCFAP, Washington.

Heap I. (2004). *International survey of herbicide resistant weeds.* Herbicide Resistance Action Committee (HRAC), North American Herbicide Resistance Action Committee, & Weed Science Society of America. www.weedscience.org

Heimlich R.E. *et al.* (2000). Genetically Engineered Crops: Has Adoption Reduced Pesticide Use? *Agricultural Outlook*, **273** : 13-17.

ISF (2003). *Seed Statistics.* ISF (International Seed Federation) Nyon (Suisse). http://www.worldseed.org/

James C. (2003a). *Global Status of Commercialized Transgenic Crops: 2002.* ISAAA Briefs No 27. ISAAA (International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications), Ithaca, New York.

James C. (2003b). *Preview: Global Status of Commercialized Transgenic Crops: 2003.* ISAAA Briefs No. 30. ISAAA: Ithaca, New York.

Kalaitzandonakes N. (2003). *The Economic and Environmental Impacts of Agbiotech A Global Perspective.* Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.

Knezevic S.Z., Evans S.P., Mainz M. (2003). Yield penalty due to delayed weed control in corn and soybean. *Crop Management.* http://www.plantmanagementnetwork.org/cm/2003.asp

Le Buanec B. (1997). An overview of the world seed market. *Newsletter – International Herbage Seed Production Research Group*, **27** : 12-15.

Le Buanec B. (1998). L'industrie des semences et les biotechnologies : résultats et préoccupations. *Le Sélectionneur Français*, **49** : 3-13.

McDougall P. (2003). *The Cost of New Agrochemical Product Discovery, Development and Registration in 1995 and 2000.* ECPA (European Crop Protection Association), Bruxelles.

McDougall J., Phillips M. (2003). The Impact of Agricultural Biotechnology on the Conventional Agrochemical Market. *In* Kalaitzandonakes N., *The Economic and Environmental Impacts of Agbiotech A Global Perspective.* Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 19-41.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Nelson G.C. (ed) (2001). *Genetically Modified Organisms in Agriculture, Economics and Politics.* Academic Press, London.

UIUC (1999). *Illinois Agronomy Handbook 1999-2000.* Dep. of Crop Sciences, University of Illinois, Urbana-Champaign.

US GAO (2000). *Information on prices of genetically modified seeds in the United States and Argentina.* US General Accounting Office, Washington.

USDA-ERS (2003). *AREI Agricultural Resources and Environmental Indicators 2001.* USDA-ERS (USDA Economic Research Service), Washington. www.ers.usda.gov/publications/arei/arei2001/

USDA-NASS (2004). *Crop Production – Acreage – Supplement.* USDA-NASS (National Agricultural Statistics Service), Washington.

Zadoks J.C., Waibel H. (2000). From pesticides to genetically modified plants: history, economics and politics. *Neth J Agric Sci*, **48** : 125-149.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

44

Le commerce international des organismes génétiquement modifiés : entre sécurité alimentaire, réglementation phytosanitaire et protectionnisme

Antoine Bouët

La production d'organismes génétiquement modifiés (OGM) a initialement eu peu de retentissement. Mais les opinions publiques se sont progressivement mobilisées ; si dans certains pays (États-Unis, Canada, Argentine), la production et la consommation de ces produits sont largement admises, dans d'autres, leur culture est vigoureusement combattue (Union européenne, et notamment France). Une forte polémique est aussi engagée sur la possibilité d'échanger ou non des OGM, librement au niveau mondial.

L'adoption de cette biotechnologie et la commercialisation de produits qui en sont issus constituent un enjeu économique d'importance. Cette technique de production génère un gain de productivité ; elle peut donc être source de progrès économique. Comme toute innovation technologique, la commercialisation à grande échelle permet d'amortir les coûts initiaux de recherche et développement (R&D). Le libre-échange mondial de ces produits est donc un enjeu.

Dans l'absolu, il est souhaitable qu'un pays puisse déterminer librement sa politique sanitaire et phytosanitaire en fonction de ses objectifs éthiques, sanitaires, environnementaux. Ce principe est au centre de la souveraineté politique des nations. Même l'Organisation mondiale du commerce (OMC) affirme ce droit.

Mais cette question politique se complique par le jeu des interdépendances économiques. Toute décision politique, qui a des conséquences économiques, se répercute sur l'ensemble des pays partenaires. Et ceci est d'autant plus vrai pour un grand pays. À cet égard, la décision européenne de suspendre les autorisations de mise sur

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

le marché de nouveaux produits OGM a des répercussions profondes sur l'ensemble de la communauté internationale. Elle affecte évidemment les producteurs et exportateurs de ces produits qui y perdent un débouché naturel majeur. Elle affecte aussi les producteurs et exportateurs de produits conventionnels, non OGM, car elle contribue à créer une demande mondiale plus forte pour ces produits. Elle affecte enfin tous les consommateurs, finaux ou intermédiaires, de produits OGM ou conventionnels, car cette décision se répercute sur le prix mondial de ces biens.

Il est donc tout à fait naturel que des décisions économiques de cette importance soient encadrées d'un point de vue réglementaire et institutionnel. L'OMC a édicté des règles de conduite en matière de politique commerciale et fournit un cadre institutionnel qui permet de régler les différends internationaux. Étant donné l'importance des enjeux, sur les plans économiques, écologiques et sanitaires, mais aussi sur celui du développement, on peut penser que des conflits commerciaux vont apparaître à partir des décisions nationales gouvernant la production, la commercialisation et l'échange de produits OGM.

Ce chapitre présente les enjeux économiques et réglementaires au cœur du débat sur l'échange international de produits OGM. Trois questions sont posées : quels sont les effets économiques de l'adoption d'une biotechnologie dans une filière agricole et du commerce de produits génétiquement modifiés ? Quels sont, par rapport à une situation de libre-échange, les effets d'une restriction à l'échange dans certaines zones mondiales ? Dans quelle mesure, d'un point de vue institutionnel, un pays a-t-il le droit d'imposer ces restrictions ?

1. Un état des lieux préalable

1.1. Quelques définitions

Les OGM sont des organismes issus de la biotechnologie, permettant une manipulation du matériel génétique. Cette manipulation est directe, contrairement à des méthodes traditionnelles de sélection variétale, ce qui permet de choisir précisément les gènes transférés et d'utiliser des gènes étrangers à l'espèce.

Au niveau des plantes, et dans le domaine agricole, la transformation génétique a essentiellement concerné, pour l'instant, la tolérance à un herbicide et la résistance à certains insectes. L'intérêt économique des organismes transgéniques est une réduction du nombre de traitements herbicides et insecticides, conduisant à une réduction du coût intermédiaire de production, à une libération de temps pour les agriculteurs et une diminution du risque de désherbage aléatoire. En contrepartie, la semence transgénique est plus coûteuse (Bonny, 2002).

1.2. Structure de la production mondiale d'OGM

La production d'OGM s'est concentrée pour l'instant sur le soja, le maïs et le coton. Les plantations mondiales d'OGM occupent, en 2002, 58,7 millions d'hec-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

tares dans le monde, contre 1,7 millions en 1996, ce qui constitue une croissance particulièrement forte (tableau 1).

Tableau 1 ■ Surface plantée en OGM (organismes génétiquement modifiés) dans le monde – 1996/2002.

Année	1996	1999	2000	2001	2002
Surface plantée en OGM dans le monde (Mha)	1,7	39.8	44,2	52,6	58,7

Source : www.isaaa.org et calcul de l'auteur.

D'un point de vue géographique, les États-Unis ont de très loin la plus grande superficie consacrée à ces cultures (68 % du total mondial en 2002), devant l'Argentine (23 %), le Canada (6 %) et la Chine (4 %). Les autres pays producteurs sont l'Afrique du Sud, l'Australie, le Mexique, la Bulgarie, l'Uruguay, la Roumanie, l'Espagne, l'Indonésie et l'Ukraine. Des plantations illégales existent aussi au Brésil, en Thaïlande et au Vietnam. En 2002, trois pays ont développé pour la première fois ces plantations : l'Inde, la Colombie et le Honduras (www.isaaa.org).

La transformation génétique s'est faite principalement sur le soja résistant aux herbicides (soit en 2001, 63 % de la surface totale en OGM ; 36 % de la surface mondiale affectée au soja est OGM), le maïs *Bt* (*Bacillus thuringiensis*) résistant aux insectes (11 % de la surface totale en OGM en 2001) ; 7 % de la surface mondiale affectée au maïs est transgénique et le coton *Bt* (3 % de la surface totale en OGM en 2001).

1.3. Les réactions de politique commerciale

Une réticence très vive à la production et à la consommation d'OGM s'est organisée, notamment dans le monde développé. Déjà l'étiquetage des produits OGM a été rendu obligatoire dans beaucoup de pays. Si l'Union européenne exige l'étiquetage de tous les produits contenant au moins 1 % d'OGM, certains pays adoptent des législations encore plus dures. Le Danemark exige aussi l'étiquetage des produits pouvant contenir des OGM ; l'Australie et la Nouvelle-Zélande imposent, eux, un seuil zéro.

À l'inverse, les États-Unis ont un système d'étiquetage beaucoup moins exigeant. Celui-ci repose sur le principe de « matérialité » : le producteur doit donner des informations liées aux attributs des biens alimentaires. Selon la position officielle de la US FDA (*United States Food and Drug Administration*), les méthodes de recombinaison d'ADN (acide désoxyribonucléique) ne sont pas une information matérielle (Sheldon, 2002), et la modification génétique par biotechnologie n'est qu'une extension des méthodes traditionnelles de sélection variétale ou de croisement d'espèces. La US FDA n'impose donc l'étiquetage qu'en cas de différence subs-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

tantielle entre le produit OGM et son équivalent naturel : propriétés nutritionnelles différentes, inclusion d'un allergène.

Le principe de précaution est à la base des articles 130(2) et 174 du Traité des Communautés européennes et guide les réglementations européennes en matière d'OGM. À partir de ce principe, l'Union européenne a adopté un moratoire en juin 1999 sur la mise sur le marché de nouveaux produits OGM : elle doit être conditionnée à la démonstration de l'absence d'impact négatif sur la santé humaine et l'environnement. Cette même réglementation édicte des principes stricts de traçabilité et d'étiquetage.

Les positions européennes et américaines sont donc opposées sur ce sujet : la position européenne apparaît beaucoup plus sévère vis-à-vis d'une pratique dont les conséquences sont potentiellement problématiques, en termes d'environnement et de santé publique. Cela ne signifie pas forcément que les États-Unis sont moins concernés par la santé humaine et l'environnement. En matière de consommation de tabac ou de tolérance vis-à-vis de conduites automobiles dangereuses, par exemple, la position américaine est beaucoup plus sévère depuis longtemps.

Certains pays ont adopté des mesures encore plus restrictives sur les échanges commerciaux d'OGM que l'Europe. Le Sri Lanka a ainsi interdit toute importation de ce produit.

2. *Une évaluation des effets économiques globaux du commerce de produits OGM*

Quelles sont les conséquences de l'utilisation de ces technologies et du commerce libre de ces produits sur le développement économique, en particulier dans le Tiers-monde ?

2.1. Un modèle général

Le modèle d'Anderson et Pohl-Nielsen (2001a et 2001b) est une tentative d'évaluation empirique de l'impact de l'adoption du génie génétique dans certaines zones mondiales. L'instrument empirique est un modèle d'équilibre général calculable multinational ; il s'agit d'une représentation mathématique de la production, de la consommation et des échanges entre plusieurs zones mondiales, calibrée sur des données macroéconomiques réelles. Le modèle utilise parallèlement des estimations économétriques d'élasticité de la demande au prix, d'élasticité dans la substitution de biens (à la production et à la consommation), dans la substitution de facteurs de production.

Cet outil permet de donner un ordre de grandeur sur les effets attendus d'un choc de politique ou d'un choc technologique. Outre la précision de l'estimation, les modèles d'équilibre général calculable, en intégrant des représentations acceptées et testées du comportement des agents économiques, permettent de mettre l'accent sur l'importance de certains mécanismes économiques et la sensibilité d'un effet

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

à un élément particulier du raisonnement, importance et sensibilité qu'une simple analyse formelle ne peut souligner.

À ce titre, le modèle d'Anderson et Pohl-Nielsen a trois intérêts :

– montrer que les gains tirés de l'adoption de cette technologie ne sont pas marginaux ;

– délimiter à partir d'un scénario initial les gagnants et les perdants, en expliquant les raisons de cette partition ;

– montrer que l'ampleur des gains est conditionnée par les réactions de politique commerciale, notamment dans les grandes zones de l'économie mondiale.

Le modèle utilisé est le modèle GTAP (*Global Trade Analysis Project*) qui est un standard international en matière d'étude des questions commerciales. La version utilisée ici est statique et modélise les comportements de consommation (finale, intermédiaire et de capital) et de production, essentiellement de biens agricoles (étant donné le sujet de l'étude), par neuf zones, indiquées sur le tableau 2. Celui-ci rend compte des effets sur « le bien-être économique » de chaque zone, concept économique qu'on peut assimiler au revenu réel.

Le choc simulé est un accroissement de 5 % de la productivité dans les secteurs du maïs et du soja. Il s'agit d'un choc neutre, au sens où dans ces secteurs, il y a économie de 5 % dans l'utilisation de tous les facteurs primaires et de toutes les consommations intermédiaires. Ce chiffre de 5 % est notamment tiré de Nelson *et al.* (1999) qui concluent que le soja « glyphosate résistant » produit une baisse des coûts de 5 % et que l'adoption du maïs *Bt* accroît les rendements de 1,8 à 8,1 %. Cette estimation est bien évidemment primordiale dans ce type de travail. Il ne s'agit pas d'une hypothèse maximaliste ; dans certains pays (Brésil), les accroissements de rendements dus à l'adoption du maïs *Bt* pourraient être supérieurs à 20 %. Cette nouvelle technologie est par hypothèse adoptée en Amérique du Nord, au Mexique, en Amérique du Sud, en Inde, en Chine, et dans le reste des pays émergents.

Initialement, ce choc se traduit par un accroissement de la rémunération des facteurs primaires employés pour produire du maïs et du soja, ce qui attire des producteurs dans ces activités. La production s'accroît et le prix diminue, ce qui a un effet direct favorable sur les industries utilisatrices et la consommation finale. Les secteurs en amont subissent l'économie d'inputs dans ces activités et donc une réduction de la demande qui leur est adressée, mais bénéficient de l'accroissement de la production de ces deux céréales. Au niveau des échanges mondiaux, des producteurs plus compétitifs de maïs et de soja apparaissent dans les zones adoptant ces nouvelles technologies, mais aussi dans les secteurs utilisateurs (secteurs de la viande et des produits transformés à base de viande par exemple) dans ces mêmes zones. Ces gains de compétitivité se traduisent par des gains de parts de marché.

Le tableau 2 résume l'ensemble de ces effets pour les neuf zones considérées. Pour chacune de ces zones, il indique la variation globale du « bien-être », par an, puis décompose ce chiffre en trois composantes :

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

– l'effet progrès technique vient uniquement du gain de productivité obtenu avec l'adoption de la biotechnologie ; il est donc nul dans les zones n'adoptant pas le génie génétique et d'autant plus important, dans les autres, que la production initiale de maïs et de soja est élevée ;

– l'effet termes de l'échange est dû à la variation des prix mondiaux des différents biens échangés. En effet, à la suite de ce choc technologique, les prix mondiaux de ces deux céréales, mais aussi d'autres biens, notamment ceux des industries les plus utilisatrices (animaux, viandes, huiles et graisses végétales), diminuent. Lorsqu'une zone est importatrice nette de ces produits, il s'agit d'un choc macroéconomique positif (cette zone doit dépenser moins pour acheter la même quantité de ces biens) ; au contraire, lorsque cette zone est exportatrice nette, il s'agit d'un choc négatif (elle doit produire et exporter plus pour gagner autant) ;

– l'effet d'efficacité dans l'allocation des ressources, finalement, provient d'une restructuration du système productif à la suite d'une modification des prix. Ici, les zones n'adoptant pas la biotechnologie peuvent importer ce produit et le substituer dans la consommation (finale ou intermédiaire) à la production locale. Celle-ci, au départ inefficace car utilisant une technologie non efficiente, diminue, ce qui libère des facteurs de production primaires utilisables dans des secteurs efficaces. L'effet est donc, en général, positif dans les zones n'adoptant pas les semences génétiquement modifiées ; une exception peut se produire lorsque l'effet dominant est une diminution de la production dans les activités utilisatrices de ces semences : cas de l'Afrique subsaharienne. Il est ambigu dans les zones adoptant cette technologie.

Le tableau 2 illustre quelques éléments intéressants :

– globalement le gain mondial tiré de l'adoption de cette biotechnologie peut être important ; dans l'exercice présent, il est de 9,9 milliards USD. Il serait encore plus élevé pour un accroissement initial supérieur de la productivité, pour un nombre plus large de produits concernés ou de pays adoptant cette biotechnologie Ce point est évident lorsqu'on examine la dernière ligne du tableau 2 : l'essentiel du gain mondial est tiré de l'effet progrès technique, qui est d'autant plus important que le nombre de producteurs adoptant cette nouvelle technologie est important ;

– certaines zones connaissent un accroissement de leur revenu réel, mais ce gain globalement positif cache des processus différents. C'est en Amérique du Nord et en Europe de l'Ouest que les accroissements de revenu réel sont les plus importants, mais d'un côté (l'Amérique du Nord), l'origine est l'adoption de la biotechnologie et donc un gain d'efficacité dans deux filières de production ; de l'autre (l'Europe), le gain vient essentiellement de l'importation d'un produit étranger incorporant une nouvelle technologie, ce qui provoque une réallocation de ressources de production de secteurs inefficients (maïs et soja) vers des secteurs efficients. Il y a donc dans cette zone une restructuration économique, comportant un coût social, non chiffré dans le modèle ;

– certaines zones sont exportatrices nettes de maïs et de soja, ou de produits utilisant ces céréales. Elles supportent donc une baisse de leur bien-être à la suite de la baisse des prix mondiaux de ces produits (Afrique sub-saharienne, Australie/Nouvelle-Zélande). D'autres zones sont importatrices nettes de ces produits (Japon

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau 2 ■ Effets annuels sur le bien-être économique par zone et dans le monde (en millions USD).

		Décomposition de l'effet total		
	Variation totale de bien-être	**Effet efficacité dans l'allocation des ressources**	**Effet termes de l'échange**	**Effet progrès technique**
Amérique du Nord	2 624	–137	–1 008	3 746
Cône sud de l'Amérique latine	826	120	–223	923
Chine	839	113	66	672
Inde	1 265	182	–9	1 094
Europe de l'Ouest	2 010	1 755	253	0
Afrique subsaharienne	–9	–2	–9	0
Australie/Nouvelle-Zélande	–70	3	–71	0
Japon et pays émergents de l'Asie	1 256	551	712	0
Autres pays en développement et en transition	1 120	171	289	673
Monde	9 859	2 756	0	7 108

Source : Anderson et Pohl-Nielsen, 2001b.

et autres pays émergents d'Asie par exemple) et connaissent une amélioration de leurs termes de l'échange.

L'utilisation du génie génétique est donc un enjeu économique potentiellement important. L'importance de ces effets économiques est conditionnée néanmoins par les réactions de politique commerciale.

2.2. Une réaction protectionniste

Pour démontrer l'idée selon laquelle les gains tirés de l'adoption du génie génétique dépendent des réactions de politique commerciale, Anderson et Pohl-Nielsen (2001a et 2001b) supposent dans un second temps que l'Europe de l'Ouest interdit non seulement l'adoption de cette technologie dans le secteur céréalier, mais aussi l'importation de produits OGM (on suppose que cette interdiction d'importation est techniquement réalisable). Les résultats précédents sont amendés dans le sens suivant :

– globalement le gain mondial serait diminué de 9,9 milliards USD par an à 3,4 milliards USD. Cette réaction protectionniste européenne coûterait donc les deux tiers du gain global mondial ;

– l'Europe de l'Ouest supporterait notamment une perte de 4,3 milliards USD par an, notamment parce qu'elle mobilise des ressources productives dans un secteur inefficace ;

– le partage des marchés mondiaux s'effectuerait de manière sensiblement différente. D'une part les pays exportateurs de céréales génétiquement modifiées disposeraient d'un marché moins important et enregistreraient à ce titre une augmentation moins forte de leur revenu réel (cet effet est significatif en Amérique du Nord, car c'est le premier fournisseur de l'Europe de l'Ouest) ;

– d'autre part les exportateurs de produits non OGM, notamment l'Afrique subsaharienne, seraient bénéficiaires du processus car la demande adressée à leurs produits augmenterait, ce qui favoriserait leur pénétration du marché européen ;

– soulignons enfin que, du fait d'une moindre demande mondiale de produits OGM, les prix mondiaux de ces biens diminueraient davantage. Les gains obtenus par les zones importatrices nettes seraient donc plus élevés que dans le scénario précédent.

Le message essentiel de cette simulation est que le gain mondial associé à l'adoption de cette nouvelle technologie est lié de manière forte à son acceptabilité dans les grandes zones de consommation. Anderson *et al.* (2002) montrent que l'adoption du génie génétique pour la culture du coton (toujours avec un choc de productivité de 5 %) a un effet bénéfique sur la production locale et les exportations de textile et d'habillement, mais que cet effet est minoré par les restrictions quantitatives imposées par l'Amérique du Nord et l'Union européenne dans le cadre des accords « multi-fibre » (ces restrictions devraient être supprimées à partir du 1er janvier 2005).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

2.3. Quelques amendements au modèle général

2.3.1. Les effets dynamiques potentiels

On peut concevoir des modèles dynamiques d'équilibre général calculable. Habituellement, ceux-ci amplifient des résultats positifs de modèles statiques, notamment lorsque le choc initial s'accompagne d'une croissance de la rémunération du capital. La hausse subséquente de l'investissement permet d'accélérer alors la croissance économique.

Dans le cadre de la réflexion sur les OGM, un modèle dynamique permet notamment de rendre endogène la R&D, et de ne plus considérer que l'apparition d'une nouvelle technologie est un phénomène exogène, tombé du ciel. L'investissement en R&D est alors fonction des profits anticipés. Ceux-ci dépendent de manière cruciale des politiques réglementaires nationales. L'assurance d'un accès libre et total au marché mondial augmente bien évidemment les perspectives de profitabilité et les dépenses en R&D. À l'inverse, la fermeture d'un marché est un facteur dynamique de ralentissement des dépenses en R&D et des gains positifs que le monde peut attendre de ces nouvelles technologies, surtout lorsqu'il s'agit d'un grand pays. La décision européenne est à cet égard une décision lourde de conséquences.

2.3.2. Un goût des consommateurs pour le non OGM

Bien évidemment, les consommateurs peuvent avoir une aversion pour les produits OGM. Dans ce cas de figure, leur satisfaction est supérieure lorsqu'ils consomment des produits non OGM pour un goût et des qualités nutritives identiques. Ce gain peut compenser les pertes tirées de la mauvaise allocation des ressources.

Sur ce point, soulignons tout d'abord qu'exprimer une opinion anti-OGM est un acte public. La préférence réelle peut être différente, et notamment plus nuancée ; c'est ce que montrent Noussair *et al.* (2003), en comparant opinion publique et comportement effectif d'un certain nombre d'agents représentatifs des ménages urbains français.

Anderson *et al.* (2002) étudient des modèles alternatifs où, pour chaque produit faisant l'objet de l'application d'une biotechnologie, il existe deux variétés, une « non-OGM », donc conventionnelle, l'autre OGM, les consommateurs estimant que ces deux variétés sont imparfaitement substituables. L'intérêt de cette modélisation est de montrer que si la préférence de certains consommateurs pour la variété conventionnelle diminue l'intérêt de l'adoption de la biotechnologie par des pays, développés ou en voie développement, elle peut aussi créer un nouveau marché, celui du non OGM, qui peut bénéficier d'une demande moins souple et d'un prix supérieur. Ce type de produit peut constituer une voie de spécialisation pour certains pays, comme les pays d'Afrique sub-saharienne. Il est néanmoins nécessaire pour que cette stratégie soit profitable, que la prime relative aux produits conventionnels soit suffisamment grande pour couvrir, à la fois le surcoût lié à la technologie moins efficace et les coûts réglementaires liés à la labellisation non-OGM.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

L'exemple récent du Brésil montre combien il peut être difficile de maintenir une filière non-OGM : à l'automne 2003, malgré son « opposition naturelle » à cette technique de production, le gouvernement brésilien a été obligé d'autoriser la production à partir de semences génétiquement modifiées, du fait de l'importation illégale de celles-ci au sud du Brésil, en provenance d'Argentine, ceci afin d'éviter la faillite d'un grand nombre d'exploitants agricoles.

2.3.3. La transmission des gains de productivité aux prix du marché

L'adoption de la biotechnologie implique un gain de productivité pour les agriculteurs. Bien évidemment, une condition nécessaire est que le prix des semences génétiquement modifiées ne soit pas trop élevé. Il faut donc que ce progrès technique ne soit pas capturé intégralement par les producteurs de ces semences (accroissement de leur prix). Or, comme cela a déjà été souligné, ces semences coûtent plus cher que leurs homologues non modifiés. D'où une critique régulière des OGM, dont l'adoption servirait exclusivement les firmes dépositaires du brevet.

Des profits élevés peuvent être nécessaires pour compenser des dépenses initiales élevées en R&D et ne signifient donc pas forcément que les firmes productrices capturent la totalité du gain lié à la biotechnologie. Des profits exceptionnellement élevés peuvent par ailleurs inciter d'autres firmes à se lancer dans le même processus de recherche, de développement, et enfin de mise sur le marché. La concurrence doit donc s'accroître à terme, déprimant les prix de ces produits.

2.3.4. Les externalités sur l'environnement

La condition la plus importante au bon déroulement du processus bénéfique mis en évidence précédemment est la non-existence d'effets négatifs de ces biotechnologies, soit en terme de santé publique, soit en terme d'environnement. La présence de telles externalités négatives exige en effet l'intervention publique afin de restreindre, voire d'interdire la production ou la consommation en cause.

Ayant démontré l'importance des enjeux économiques, nous nous penchons maintenant sur l'aspect réglementaire de cette question.

3. Réglementation sanitaire, protectionnisme et sécurité alimentaire

Contrairement à ce qui est souvent souligné, l'accord sur l'agriculture de l'*Uruguay Round* et la création de l'OMC n'ont pas été à l'origine d'une forte libéralisation de l'agriculture mondiale ; la protection dans ce secteur reste forte en Europe, aux États-Unis et au Japon notamment. Par contre, le cadre institutionnel est aujourd'hui plus rigoureux, plus contraignant pour les pays membres de l'OMC.

Les négociateurs avaient aussi conscience de la relation commerce environnement. En conséquence, les accords de Marrakech (1994) ont permis la signature

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

des accords sanitaires et phytosanitaires (SPS), dont nous précisons d'abord la philosophie générale.

3.1. Les accords SPS : principes généraux

Les accords SPS (http://www.wto.org/english/tratop_e/sps_e/spsagr_e.htm) encadrent la possibilité pour un gouvernement d'adopter des mesures restreignant l'échange international de marchandises, lorsque l'importation d'un produit sur le territoire national met en danger la santé publique, l'environnement, la faune ou la flore. Les conditions d'application d'une telle mesure sont :

– la non-discrimination : la mesure restrictive doit s'appliquer de la même façon à tous les fournisseurs potentiels du produit en question. Il s'agit là du premier principe du GATT (*General Agreement on Tariffs and Trade* : accord international précédant la création de l'OMC en 1995), puis de l'OMC. C'est le principe fondateur du multilatéralisme : non seulement il garantit une efficacité économique puisque les importations d'un pays doivent par ce principe provenir de la source d'approvisionnement la moins coûteuse, mais encore il soutient une idée d'équité dans le traitement commercial des partenaires ;

– la transparence ; la mesure doit être la plus transparente possible pour que les partenaires puissent jauger son impact en termes de commerce et de production ;

– la mesure retenue doit faire bénéficier les produits importés d'un traitement national, une fois que ceux-ci sont rentrés sur le territoire. Autrement dit, lorsque le produit importé a passé la douane et supporté la mesure SPS déclarée à l'OMC, il ne doit pas faire l'objet d'une discrimination supplémentaire (imposition indirecte différenciée, surveillance sanitaire particulière) par rapport aux producteurs locaux du même produit ;

– la mesure sanitaire doit avoir un effet restrictif minimal sur le commerce. On tente par là d'éviter des prohibitions d'importations non nécessaires ;

– enfin, l'accord recommande comme mesure sanitaire l'adoption de normes de référence élaborées dans des organismes extérieurs à l'OMC (Boy *et al.*, 2003 ; Isaac, 2002), donc de standards internationaux. Il s'agit de la Commission du *Codex Alimentarius* pour les problèmes de sécurité alimentaire, de l'Office international des épizooties pour la sécurité animale et de la Convention internationale pour la protection des végétaux (IPPC : *International Plant Protection Convention*).

Point central des accords SPS, ceux-ci autorisent l'adoption de mesures plus restrictives que les normes définies précédemment, à condition que ces mesures soient justifiées scientifiquement. Donc, *a priori*, l'OMC dénie le principe de précaution, selon lequel en cas d'incertitude, sans preuve scientifique disponible, une autorité nationale pourrait restreindre le commerce d'un produit potentiellement nocif.

Cette position de principe ne doit pas étonner. L'OMC est une organisation qui a pour objet la promotion et le développement du commerce mondial dans des termes équitables ; elle n'est pas une organisation ayant la charge de la protection de

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

l'environnement et de la santé humaine. Elle ne peut donc adopter de manière générale un principe dont l'utilisation pourrait être protectionniste, et ce à une échelle très large. Les accords SPS ont déjà donné lieu à l'adoption d'un nombre élevé de normes, notamment dans le domaine agricole et agroalimentaire. Fontagné et Mimouni (2001) examinent ainsi l'impact commercial de ces normes environnementales par produit (nomenclature SH6) et montrent que ces barrières touchent prioritairement ce secteur : 44 produits sur 4 917 au total ont plus de 90 % de leur commerce affecté par ce type de restrictions à l'échange et ce sont tous des produits agricoles. Ces normes pourraient, d'après ces auteurs, cacher régulièrement des motivations protectionnistes. Plus exactement, l'utilisation protectionniste des mesures environnementales est avérée pour 116 sur 878 produits agricoles (Fontagné et Mimouni, 2001).

Ainsi, des conditions relativement rigoureuses et exigeantes d'adoption de mesures sanitaires et phytosanitaires apparaissent justifiées. A contrario, fonder des accords SPS sur le principe de précaution aurait pu multiplier l'adoption de mesures protectionnistes, dans un secteur jusque-là peu touché par le mouvement de libéralisation commerciale.

Cette institution a néanmoins introduit un degré de flexibilité, puisque bien évidemment les problèmes de commerce et d'environnement (ou de santé humaine) sont connexes. C'est l'objet de l'article 5.7 de l'accord SPS de l'OMC.

3.2. L'article 5.7 des accords SPS et le principe de précaution

Les négociateurs des accords SPS avaient clairement conscience de la possibilité de situations où un risque sanitaire ou phytosanitaire n'est pas avéré, mais où il y a présomption de risque. Autrement dit, l'incertitude scientifique (incertitude au sens de non probabilisable) peut peser sur certains produits, avec des conséquences humaines ou environnementales potentiellement très fortes. En ce sens, les accords SPS prévoient la possibilité d'adopter une mesure restrictive à l'échange, lorsqu'un risque est présumé, alors même qu'une évaluation des risques est impossible. Le principe de précaution est alors légitimé par l'OMC, mais son recours est strictement contrôlé.

À cette fin, l'article 5.7 des accords SPS prévoit notamment la possibilité d'adopter des mesures restrictives temporaires, lorsque les informations scientifiques sont insuffisantes, et sur la base des informations existantes. Deux recommandations sont néanmoins apportées : le pays membre cherchera à obtenir les informations nécessaires à une évaluation des risques ; il réévaluera la mesure dans une période de temps raisonnable.

On peut certes arguer que cette introduction du principe de précaution est incomplète (Boy *et al.*, 2003). Il n'y a pas, par exemple, renversement de la charge de la preuve : c'est toujours à la partie plaignante de démontrer l'incompatibilité de la mesure par rapport aux accords SPS. C'est ensuite à la partie attaquée de démontrer scientifiquement que la mesure sanitaire prise est justifiée scientifiquement. Les accords SPS n'obligent pas les producteurs d'un bien, ou les utilisateurs d'une technique de production à démontrer l'innocuité de ce bien ou de cette technique.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Cela signifierait bien évidemment la volonté d'instaurer un risque zéro en matière sanitaire et phytosanitaire, et réduirait de manière très importante l'offre de produits alimentaires.

Une alternative pourrait être de demander, à tout producteur ou tout utilisateur d'une technique de production, de démontrer que son bien ou sa technique est conforme aux standards internationaux. Cette démonstration constituerait alors pour lui une garantie d'accès au marché de tous les pays membres de l'OMC.

3.3. Le protocole de Carthagène

À la suite de multiples réglementations nationales adoptées sur le commerce des OGM, et face à une pression croissante des opinions publiques, 50 pays ont adopté à Montréal le 29 janvier 2000, le protocole de Carthagène sur la biosécurité. Ce protocole doit encore être ratifié par les Parlements nationaux. Il prévoit que le manque de preuve scientifique ne peut empêcher un pays signataire d'adopter une mesure restreignant l'échange de produit OGM, à partir du moment où il y a risque pressenti.

Cet accord exprime donc très largement une mise en avant du principe de précaution comme moyen de régulation du commerce de ces produits. Bien évidemment, la mise en application de cet accord peut révéler des zones d'incompatibilité avec les textes de l'OMC : un pays membre de cette institution et en même temps signataire du protocole pourrait adopter une interdiction d'importation d'un produit OGM sans fonder sa décision sur une expertise scientifique. Les pays exportateurs de ce produit, membres de l'OMC pourraient alors déposer une plainte à ce titre auprès de l'Organe de règlement des différends (ORD). L'issue de ce type de conflit est très incertaine, puisqu'il n'y a pas de hiérarchie juridique claire entre, d'une part l'appartenance à l'OMC, et d'autre part le protocole de Carthagène.

Sur ce point d'ailleurs, ce dernier texte est flou puisqu'il prévoit d'une part que le protocole ne remet pas en cause les droits et engagements des signataires contractés lors d'un accord international existant. D'autre part, il souligne que le protocole n'a pas pour vocation d'être subordonné à des accords existants.

4. Des conflits possibles entre Union européenne et États-Unis sur le commerce d'OGM

Nous étudions maintenant la position réglementaire des États-Unis et de l'Europe, d'une part parce que leur position sur ce point est très contrastée, d'autre part parce qu'un conflit commercial pourrait naître de cette opposition entre les deux plus grandes puissances commerciales au monde.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

4.1. Les principes des réglementations des OGM en Europe et aux États-Unis

Les États-Unis se fondent sur les principes de matérialité et d'équivalence substantielle. Les produits conventionnels sont considérés comme sains (*generally regarded as safe* : GRAS), leurs équivalents OGM ne sont pas considérés comme différents, puisqu'ils auraient les mêmes attributs, les mêmes propriétés nutritionnelles. Les agences de réglementation concluent ainsi qu'il n'y a pas de raison d'interdire ces produits et l'étiquetage n'est pas nécessaire.

La position européenne est sur ce sujet très différente. Elle suppose une différence entre un produit OGM et son équivalent traditionnel. L'étiquetage est donc justifié. Ensuite, le principe de précaution légitime le moratoire car il reste à démontrer que les OGM n'ont pas de conséquence négative sur la santé humaine et l'environnement (Sheldon, 2002). Implicitement, on peut comprendre ce parti pris, en soulignant qu'une incertitude à long terme est associée à la production et à la consommation de ces produits.

4.2. Le règlement possible par l'OMC d'un conflit portant sur les OGM

Deux décisions européennes peuvent faire l'objet d'une plainte auprès de l'Organe de règlement des différends, d'une part l'obligation d'étiquetage des produits, d'autre part, le moratoire. Pour quelles raisons ? Après tout, cette institution n'a pas vocation à régler des problèmes sanitaires ou environnementaux, mais à surveiller, prévenir ou sanctionner des mesures ayant des effets de distorsion sur le commerce international.

Comme nous l'avons souligné précédemment, la régulation du commerce mondial par une institution comme l'OMC suppose la non-discrimination et une garantie d'accès au marché (la consolidation). À ce titre un pays exportateur de produits OGM pourrait souligner que :

– si des approvisionnements extérieurs se font en provenance de pays sans culture OGM et/ou si les producteurs locaux du pays importateur imposant l'étiquetage ne produisent pas de bien OGM, alors l'étiquetage est une mesure discriminatoire qui viole soit la clause de la nation la plus favorisée, soit le principe de traitement national, soit les deux ;

– imposer une interdiction d'un produit OGM constitue la fermeture d'une frontière d'un pays membre de l'OMC à un autre pays membre de l'OMC. Il y a alors déconsolidation dans un accès au marché.

Le pays importateur peut évidemment prétexter qu'il s'agit d'une mesure sanitaire ou phytosanitaire, mais puisqu'il s'agit d'une mesure plus restrictive que les standards internationaux, il doit justifier cette décision d'un point de vue scientifique. Or, la nocivité des produits OGM n'est pas démontrée du point de vue de la santé publique et d'un point de vue environnemental.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Une plainte d'un pays exportateur de produits OGM à propos du moratoire européen, de l'interdiction d'importation du Sri Lanka et/ou de l'obligation d'étiquetage devrait donc être jugée favorablement par l'ORD ; cette instance serait alors en mesure de demander au(x) pays incriminé(s) le retrait de ces mesures ; au cas (probable) où les pays objets de l'accusation refuseraient ce retrait, les pays plaignants pourraient avoir l'autorisation d'exercer des représailles commerciales en restreignant l'accès à leur marché de produits en provenance de ces pays (on retrouve ici la séquence du conflit portant sur le bœuf aux hormones).

Un pays ayant interdit l'importation de produit OGM pourrait utiliser l'article 5.7 des accords SPS pour justifier sa décision, mais la portée pratique de cette justification serait limitée : cet article ne peut être utilisé que temporairement et le pays membre doit obtenir « *des renseignements additionnels nécessaires pour procéder à une évaluation plus objective du risque* ».

Si le pays est signataire du protocole sur la biosécurité, il pourrait utiliser les clauses de ce traité international, qui énoncent le principe selon lequel même en cas d'information scientifique insuffisante sur les effets négatifs potentiels d'un organisme modifié, un pays peut prendre une mesure restreignant son importation. Mais la hiérarchie juridique entre ce texte et les obligations découlant de l'appartenance à l'OMC n'est pas, pour l'instant, clarifiée.

Quel que soit le cas de figure, une grande partie du débat portera sur l'identité ou non d'un produit OGM et de son équivalent traditionnel.

4.3. Modification génétique et équivalence des produits

Comme le souligne Sheldon (2002), l'examen de la jurisprudence internationale peut apporter des éléments de réponse. Dans les années 80, les États-Unis ont interdit le thon en provenance du Mexique, sous le prétexte que les méthodes mexicaines de pêche étaient la cause directe de la mort de dauphins. Attaqué par le Mexique, le gouvernement américain avait prétexté que cette interdiction portait aussi sur du thon américain attrapé avec la même méthode de pêche. En ce sens, cette mesure n'était pas discriminatoire. Un gouvernement interdisant du maïs OGM, ou en exigeant l'étiquetage, pourrait ainsi justifier cette décision par le traitement égal de tous les producteurs, nationaux ou étrangers.

Jugé en 1991, un panel d'experts du GATT avait établi que les articles 1 (clause de non-discrimination) et 3 (clause de traitement national) impliquent des comparaisons sur les produits, mais pas sur les processus de production. Autrement dit, qu'un thon soit attrapé au moyen d'une méthode de pêche « *dolphin-friendly* » ou non, il s'agit du même produit. L'embargo américain avait donc été jugé comme une mesure discriminatoire vis-à-vis du Mexique et condamné comme tel. Parallèlement le GATT, avait souligné qu'un étiquetage du type « *dolphin-safe* », donc basé sur le processus de production du bien, n'était pas condamnable dans la mesure où il permettait aux consommateurs d'effectuer un choix en fonction de leurs considérations éthiques et de leurs préoccupations environnementales (Roessler, 1996).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

L'interprétation des principes du multilatéralisme faite à l'occasion du règlement de ce différend commercial est éclairante ; elle permet de faire quelques suppositions sur l'issue possible d'un éventuel conflit portant sur le commerce d'OGM. Une interdiction d'importation de produits OGM, à titre permanent, serait jugée contraire aux règles du multilatéralisme et condamné par l'ORD, d'une part parce qu'il n'est pas prouvé dans l'état actuel des connaissances scientifiques, que les techniques de modification génétique peuvent être jugées dangereuses, et qu'il existerait des différences substantielles dommageables entre un produit OGM et son équivalent non-OGM. Par contre, une obligation d'étiquetage ne serait pas condamnée par l'ORD, car elle permet d'accroître l'information nécessaire au choix des consommateurs.

4.4. Une solution mutuellement profitable

Bien évidemment, la perspective précédente n'est pas satisfaisante, dans la mesure où le règlement proposé à ce type de différend interdit à une collectivité d'effectuer un choix sanitaire en fonction de ses préoccupations éthiques, environnementales et/ou de son aversion au risque, ou lui impose un coût supplémentaire dans sa prise de décision.

Une autre solution est envisageable (Sheldon, 2002), en cherchant à satisfaire les intérêts des uns et des autres, soit une solution « pareto-améliorante » (solution qui améliore la situation d'un individu au moins, sans jamais diminuer celle d'un autre). Globalement les pays exportateurs de produits OGM veulent une garantie en termes d'accès au marché, alors que les pays non producteurs d'OGM veulent pouvoir imposer leur réglementation sanitaire et phytosanitaire.

On pourrait donc envisager une situation où chaque pays impose sa propre réglementation sanitaire, réglementation qui reflète ses préoccupations environnementales et éthiques, son attitude vis-à-vis de l'incertitude. Mais comme il faut parallèlement garantir aux exportateurs étrangers un niveau identique d'accès au marché, on compenserait donc par un accès au marché plus grand pour les produits conformes aux réglementations sanitaires du pays importateur.

Conclusion

Le débat public sur la question des OGM a été en France pratiquement inexistant ; en particulier, l'aspect économique du problème a été rarement exposé et discuté. À ce titre, ce chapitre a tenté de montrer que l'adoption de la biotechnologie peut avoir des conséquences économiques positives sur certaines zones mondiales, notamment celles dont les ressources sont encore très concentrées dans l'agriculture. En outre l'interdépendance économique mondiale implique que les gains qu'on peut en attendre dépendent étroitement des choix politiques des grandes zones commerciales. L'évolution prochaine de la législation commerciale européenne concernant les produits OGM, ainsi que les réactions américaines à cette réglementation, sont donc des questions fondamentales.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Références bibliographiques

Anderson K., Pohl-Nielsen C. (2001a). Cultures transgéniques et commerce international. *Économie Internationale*, **87** : 45-62.

Anderson K., Pohl-Nielsen C. (2001b). GMOs trade policy and welfare in rich and poor countries. *In* Maskus K., Wilson J., *Quantifying the impact of technical barriers to trade: can it be done?* Ann Arbor, University of Michigan Press, 1-36.

Anderson K., Pohl-Nielsen C., Robinson S. (2002). Estimating the economic effects of GMOs: the importance of policy choice and preferences. *In* Evenson R., Santaniello V., Zilberman D., *Economic and social issues in agricultural biotechnology*. CABI Publishing, Washington, 359-391.

Bonny S. (2002). Les succès des cultures transgéniques aux États-Unis d'Amérique : facteurs agro-économiques et perspectives. *Économie rurale*, **267** : 91-105.

Boy L., Charlier C., Rainelli M., Reis P. (2003). La mise en œuvre du principe de précaution dans l'accord SPS de l'OMC : les enseignements des différends commerciaux. *Revue économique*, **6** : 1291-1306.

Fontagné L., Mimouni M. (2001). L'environnement nouvel obstacle au commerce de produits agricoles et alimentaires. *Économie Internationale*, **87** : 63-87.

Isaac G. (2002). *Agricultural biotechnology and transatlantic trade: regulatory barriers to GM crops*. CABI Pub, Oxon.

Nelson G., Josling T., Bullock D., Unnevehr L., Rosegrant M., Lowell H. (1999). The economics and politics of Genetically Modified Organisms: implications for WTO 2000. *Bulletin 809*. College of Agricultural consumer and environmental sciences University of Illinois at Urbana-Champaign.

Noussair C., Robin S., Ruffieux B. (2003). De l'opinion publique aux comportements des consommateurs – Faut-il une filière sans OGM ? *Revue économique*, **54** : 47-70.

Roessler F. (1996). Diverging domestic policies and multilateral trade negotiation. *In* Bhagwati J., Hudec R., *Fair trade and harmonization: prerequisites for free trade?* MIT Press, Cambridge, 21-56.

Sheldon I. (2002). Regulation of biotechnology: will we ever "freely" trade GMOs ? *European Review of Agricultural Economics*, **29** : 155-176.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

45

La biovigilance : concept et applications dans les pays européens

Marc Delos, Nathalie Eychenne, Laurent Folcher, François Hervieu

Le siècle précédent a connu une fantastique évolution des pratiques agricoles. Les paysans, acteurs d'une agriculture en grande partie autarcique au début du siècle, où l'homme reproduisait année après année les mêmes gestes et les mêmes pratiques, ont progressivement cédé la place à des agriculteurs, composante d'un monde lieu d'échanges et des mutations technologiques.

Dans ce contexte, la génétique des variétés et les produits de protection des plantes, moteurs de la productivité avec les fertilisants, ont connu une rotation de plus en plus rapide, avec pour conséquence l'apparition de plus en plus fréquente de phénomènes non anticipés, détectés tardivement, causes de surprise pour les différents acteurs, puis progressivement intégrés dans les processus d'évaluation. On pourra citer l'effondrement des résistances à la rouille jaune (*Puccinia striiformis*) de nombreuses variétés de blé dans les années 70, le retour prégnant du phoma du colza (*Leptosphaeria maculans*) suite à l'introduction de nouvelles variétés à faible teneur en acide érucique et glucosinolates, dites « 00 », cultivées pour la qualité de leur huile et de leur tourteau, à la fin des années 80. De la même façon, les produits phytopharmaceutiques ont entraîné des évolutions de la flore ou de la faune. Ils ont, pour certains, sélectionné des populations résistantes à leur emploi ou modifié la répartition des espèces des bio-agresseurs et des espèces présentes dans les champs cultivés et leur environnement immédiat. Nous citerons aussi, pour mémoire, la contamination de l'eau par les pesticides utilisés, contamination négligée à une époque où la satisfaction des besoins alimentaires diversifiés s'imposait comme la priorité.

Au-delà de l'évolution des intrants de l'agriculture, des modifications des pratiques telle la remontée vers le nord du maïs rendue possible par la production des hybrides et l'avancement des dates de semis des céréales à pailles, ont permis

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

l'expression de maladies des plantes jusqu'alors latentes, telle la jaunisse nanifiante des céréales dans ce cas d'espèce.

Ces phénomènes accidentels, non anticipés lors de l'adoption d'un changement de variété, de produit de protection ou simplement de techniques, ont progressivement fait l'objet d'une attention particulière puis d'un suivi systématique, avec, notamment pour les grandes cultures, l'adoption des « *monitorings* », ou surveillance spécifique, pour les résistances aux pesticides et des suivis de la contamination de l'eau dans les bassins versants au cours des années 80. Cette surveillance avait pour objet de mettre en œuvre le plus tôt possible des procédures de gestion du risque identifié.

C'est très vraisemblablement l'ensemble de ces expériences, élevé au rang d'une expertise « collective » à la fin du XX^{e} siècle, qui a permis aux autorités en charge de l'évaluation ou de la gestion des risques liés aux plantes génétiquement modifiées (GM), de proposer, avant même la mise en culture, le principe d'une surveillance adaptée au nouveau contexte que ces cultures allaient entraîner. Cette prise en compte très en amont de l'apparition du risque par rapport à ce qui avait été fait auparavant a été identifiée sous le terme de biovigilance, néologisme, désormais passé dans le langage courant.

Les lignes qui suivent se proposent de définir le contour de cette nouvelle dimension de la surveillance, née avec les premières autorisations des plantes génétiquement modifiées, ses bases légales, ses acteurs et les résultats des premières actions réalisées. Le panorama sera bref étant donné la jeunesse de l'exercice et les évolutions qui vont intervenir dans les prochaines années ne sont qu'esquissées. Mais il était impossible d'occulter le poids de l'histoire de générations d'agronomes, qui donne corps aujourd'hui à cette activité de surveillance.

Compte tenu du contexte européen en matière d'organismes génétiquement modifiés (OGM), les données disponibles fiables sont limitées et la bibliographie est de ce fait succincte.

1. La biovigilance : définitions

1.1. Bases légales et fondement juridique

La surveillance biologique du territoire est historiquement un dispositif de gestion des risques liés aux organismes nuisibles des végétaux et en particulier des organismes de quarantaine censés être absents du territoire national. En 1998, la France ouvre la possibilité de la culture d'OGM par l'inscription au catalogue d'une série de variétés de maïs génétiquement modifié. Dans le même temps, le gouvernement décide d'associer à cette décision un dispositif de biovigilance accompagnant l'éventuel développement de ce type de culture. Cette décision est consécutive à l'inscription au catalogue officiel des premières variétés de maïs résistantes aux insectes. La décision qui est prise dans le contexte difficile des premières décisions d'autorisation de mise sur le marché d'OGM, correspond à une réponse aux pré-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

occupations liées aux incertitudes sur les risques associés à la culture de telles variétés de plante et en particulier sur leurs effets à long terme. Dès 1997, la Commission du génie biomoléculaire (CGB), l'instance consultative nationale d'évaluation des risques pour la santé publique et l'environnement, consciente des limites des évaluations préalables, antérieures la dissémination volontaire des OGM dans l'environnement, recommandait la mise en place d'un tel dispositif. Elle partait du constat qu'il est toujours difficile de mettre en évidence des effets discrets ou à long terme sur la base d'essais conduits à petite échelle et des périodes de temps courtes. Les arrêtés du 5 février 1998 et du 3 août 1998 portant sur l'inscription des variétés de maïs transgéniques résistantes à la pyrale portaient mention de cette forme de surveillance biologique. La loi d'orientation agricole, adoptée le 9 juillet 1999, donne une base légale à la biovigilance en entérinant son principe et en l'élargissant à tous les végétaux, y compris les semences, aux produits antiparasitaires et assimilés à usage agricole, aux matières fertilisantes et supports de culture, composés en tout ou partie d'OGM. Ce nouveau type de surveillance biologique du territoire est nommé par la loi « biovigilance » pour la différencier de la surveillance biologique du territoire qui concerne toujours les organismes nuisibles aux végétaux. Elle s'applique à toute dissémination volontaire dans l'environnement d'OGM, que ce soit au titre de la recherche et du développement ou de la mise sur le marché.

L'obligation de biovigilance est assortie de nouvelles dispositions et en particulier d'un régime déclaratif obligatoire de toutes implantations de cultures de variétés génétiquement modifiées, la surveillance ne pouvant être conduite sans que soient précisément connus les sites d'implantation des cultures.

Alors que l'Union européenne (UE) engage le travail de révision de la directive 90/220/CEE qui encadre depuis 1990 la dissémination volontaire des OGM dans l'environnement, la France fait valoir son point de vue quant à l'intérêt d'un dispositif harmonisé au plan communautaire de biovigilance. Au terme d'une longue négociation, la directive 2001/18/CE qui abroge et remplace la directive de 1990 et adoptée le 12 mars 2001 en retient son principe. Les États membres s'engagent donc à travers cette directive, en cours de transposition dans de nombreux pays de l'union européenne, à mettre en œuvre un dispositif de surveillance des OGM sur l'ensemble de l'Union européenne après leur mise sur le marché. Dans ce contexte, le terme anglais de « *post market monitoring* » est synonyme de notre terme « biovigilance ».

1.2. Objectifs

La biovigilance s'appuie sur la surveillance biologique du territoire dans les domaines où cette dernière peut être appliquée spécifiquement aux OGM disséminés dans l'environnement. Elle prolonge les évaluations préalables des risques pour la santé publique et l'environnement. Elle doit permettre de compléter les conclusions de ces évaluations en ce qui concerne l'innocuité des produits autorisés. Elle vise également à valider la pertinence et l'efficacité des mesures de gestion des risques

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

arrêtées par les décisions individuelles d'autorisation, lorsque des risques ont été identifiés lors de ces évaluations, ou à compléter ces mesures. La biovigilance qui repose principalement sur un dispositif général d'observations sur un territoire large, optimise les possibilités de détecter et d'identifier d'éventuels effets adverses qui pourraient ne pas être mis en évidence par des essais de petite dimension. La conduite de la biovigilance sur de longue période de temps donne une assurance en ce qui concerne les possibilités de détection d'effets à long terme ou cumulatifs. La biovigilance est donc un outil essentiel de gestion des risques pour les effets à long terme et cumulatifs. La biovigilance s'applique aux systèmes agricoles indissociables de l'espace naturel et des populations animales et végétales qui l'occupent. Elle doit nécessairement s'intéresser à une faune et une flore sauvage plus large que celle qui occupe strictement l'espace agricole.

1.3. Concepts

Dans le registre de la surveillance, on distingue deux types de surveillance, la surveillance spécifique (dont le terme équivalent en anglais serait « *monitoring* ») et la « surveillance générale » (dont les termes sont conservés dans la traduction au niveau européen). La « surveillance spécifique » s'adresse à des phénomènes ou des effets plus ou moins caractérisés, identifiés, et évalués dans le cadre des évaluations initiales. Ce sont des actions limitées dans le temps et dans l'espace, s'appuyant sur un dispositif maîtrisé, visant à étudier un paramètre donné. La « surveillance générale » concerne quant à elle des effets résultant de mécanismes non envisagés, inconnus ou encore des phénomènes plus complexes résultant de combinaisons de facteurs ou d'effets cumulatifs en particulier à long terme. Elle vise à détecter des effets sur les milieux, notamment faune et flore, au sein des parcelles de culture mais aussi sur leur environnement immédiat. Elle intervient dans une démarche de long terme permettant de suivre les évolutions de l'importance des populations et la diversité de la représentation des espèces dans un milieu donné.

Le positionnement et l'articulation de la surveillance générale et spécifique dans le contexte plus large du développement d'un OGM sont présentés dans la figure 1.

Compte tenu de la dimension de l'espace agricole et du nombre de paramètres à considérer, la biovigilance ne peut se concentrer que sur la surveillance d'une série limitée d'indicateurs biologiques. Ces indicateurs, qui au stade actuel restent encore largement à compléter, doivent donner de manière efficace des informations sur les évolutions de groupes particuliers d'organismes sur lesquels les produits répertoriés ne devraient pas avoir d'effets significatifs ou non contrôlés. Ils doivent permettre de déceler des tendances anormales qui déclenchent alors des mesures correctrices. Pour être à même de définir, d'une part, s'il y a évolution et, d'autre part, si la tendance est positive ou négative, il est indispensable que la situation initiale ou point zéro soit elle-même définie. En outre, il convient de déterminer si l'état actuel, tel qu'observé correspond à un état que l'on peut considérer comme satisfaisant et de référence.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

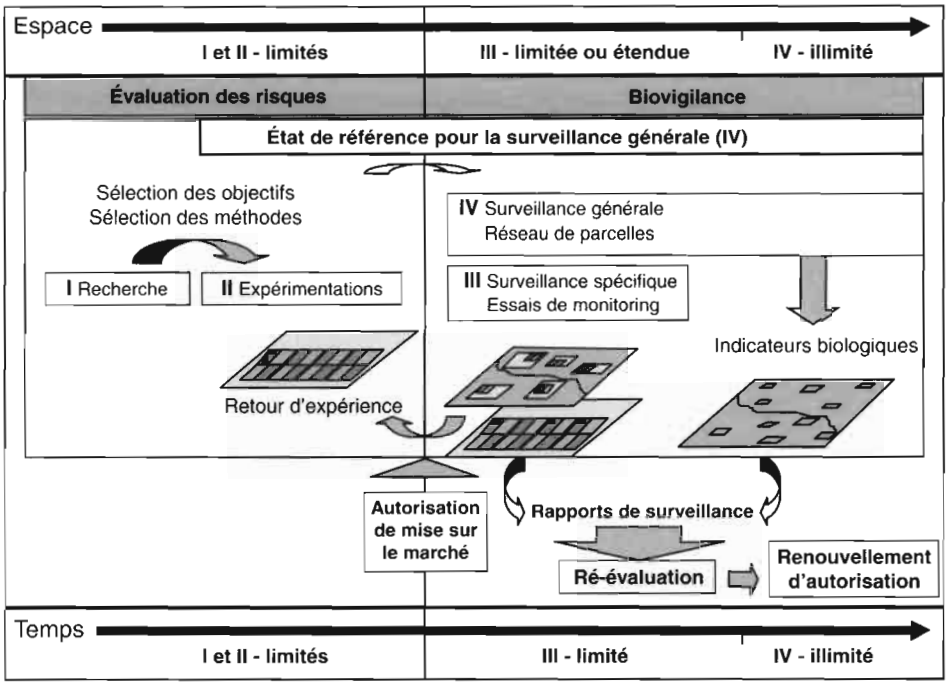


Figure 1 ■ Cheminement de l'évaluation et de la gestion des risques.

Une autre difficulté porte sur la définition des bornes pertinentes, maximale (A) et minimale (B), au-delà ou en deçà desquelles l'évolution observée pourra être qualifiée d'anormale (figure 2). La détermination de ces bornes devrait prendre en compte les cycles biologiques. Ce n'est que sur la base de ces états de référence qu'il sera possible d'établir des comparaisons et de conclure sur le fait que les observations reflètent une évolution, que celle-ci est normale ou anomale et en déterminer l'origine exacte. Il est ressenti comme nécessaire de se doter d'une capacité, non seulement de discrimination des évolutions observées liées à des facteurs naturels,

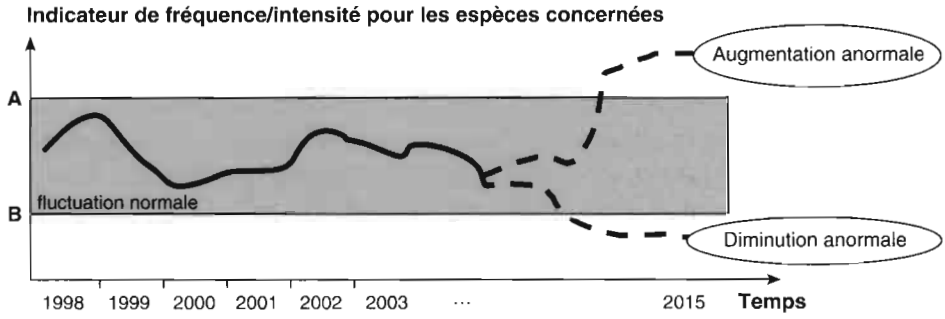


Figure 2 ■ Fluctuation des indicateurs de biodiversité – Étude 1998-2003 et projection.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

de celles qui ne le sont pas, mais aussi de corrélations sans équivoque entre un effet et une ou plusieurs causes.

Les activités agricoles mettent en jeu un ensemble complexe d'éléments qui peuvent être autant de sources possibles d'effets. Pour permettre l'établissement avec certitude de conclusions sur les liens de cause à effet, tous les paramètres doivent être intégrés dans le processus analytique. La complexité des systèmes biologiques, le caractère probablement discret des effets recherchés et la possibilité de processus cumulatifs plus ou moins simultanés, introduisent autant de niveaux de complexité supplémentaire dans l'analyse et l'interprétation des observations. La recherche des liens existant entre les différentes variables du système et les phénomènes suivis pris comme bio-indicateurs fait intervenir des outils d'analyse de données plus sophistiqués que dans le cas des dispositifs de comparaison directe. On peut cependant penser que le recours à des essais de surveillance spécifique pourrait alors s'avérer nécessaire en complément pour déterminer avec certitude l'origine des variations observées.

1.4. Acteurs et dispositifs

La biovigilance est mise en œuvre par les agents des directions régionales de l'Agriculture et de la Forêt – services régionaux de la Protection des végétaux (DRAF-SRPV). Cette surveillance fait appel à un large appui scientifique et technique de chercheurs de l'Institut national de la recherche agronomique (INRA), des instituts techniques agricoles et des universités françaises. Chercheurs et techniciens sont à la base des propositions méthodologiques qui sont faites et de la mise au point des outils nécessaires à l'analyse et à l'interprétation des observations.

Les responsables de la mise sur le marché ou de la dissémination, le distributeur et l'utilisateur de ces produits doivent participer au dispositif de surveillance biologique en répondant aux obligations liées à la mise en œuvre de ces dispositions.

En outre, le comité de biovigilance institué par la loi d'orientation agricole (LOA) donne un avis sur les protocoles et les plans de surveillance de l'apparition éventuelle d'événements indésirables. Il doit alerter le ministère de l'Agriculture et celui de l'environnement lorsque de tels événements sont mis en évidence. Dans l'état actuel, le Comité de biovigilance fonctionne sur une base provisoire tant qu'un décret d'application de la LOA n'aura pas été adopté. Il est présidé conjointement par les ministres chargés de l'agriculture et de l'environnement ou leurs représentants. Les services de ces deux ministères en assurent conjointement le secrétariat. Il est composé de vingt-deux membres, parmi lesquels des membres de l'administration, des experts scientifiques, des représentants de la société civile et des représentants des parties intéressées.

Les résultats des opérations de surveillance sont centralisés par le ministère chargé de l'agriculture et sont régulièrement communiqués au comité de biovigilance.

Dans tous les cas, la surveillance repose sur des plans de surveillance. Ils sont soit proposés dans le cadre des demandes d'autorisation de mise sur le marché et

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

entérinés par les décisions d'autorisation, soit établis par l'autorité nationale après avis du comité de biovigilance. Ces plans de surveillance peuvent être révisés tous les ans en fonction des résultats et des données à acquérir. La surveillance générale requiert des moyens importants compte tenu du champ de cette surveillance, de sa durée et de la dimension des espaces qu'elle couvre.

2. *La biovigilance : les actions menées en France*

2.1. De la recherche à la biovigilance

Les premières actions de biovigilance sont fixées en 1998 par les arrêtés portant sur l'inscription des premières variétés de maïs génétiquement modifié. Elles portent sur l'étude des caractéristiques générales (résistance à des Lépidoptères) et les risques de transfert de gènes suivant un mécanisme dit de transfert horizontal. Il s'agit de vérifier s'il n'y a pas de transfert du gène *bla*, conférant une résistance à l'ampicilline, du génome de ces variétés à celui de populations bactériennes du sol ou du tractus intestinal des animaux susceptibles de consommer des produits issus de la culture. Cette opération de surveillance spécifique, conduite entre 1999 et 2000 sur la base d'un protocole proposé et mise en œuvre par le Laboratoire d'écologie microbienne du sol du Centre national de recherche scientifique (CNRS) a consisté en un suivi *in situ* du transfert de ce gène vers les micro-organismes du sol. Dans le même temps un suivi *in situ* de possibles modifications de la micro-flore de sol cultivé avec soit du maïs *Bt* 176 soit du maïs conventionnel, fut réalisé.

Au terme de quatre cycles de culture des plantes transgéniques, aucun transfert de gènes de résistance à un antibiotique vers les micro-organismes du sol n'a été mis en évidence dans les conditions de cette surveillance.

La question du transfert du gène *bla* a aussi été abordée dans le cadre de ces premières actions de biovigilance sous l'angle des effets éventuels sur l'évolution des populations bactériennes de la flore digestive des animaux consommant des aliments à base de maïs *Bt* 176. Dans ce cas, le protocole proposé par l'INRA, impliquait l'utilisation de souris nourries avec soit du maïs *Bt* 176 soit du maïs conventionnel. L'étude conduite entre 1998 et 1999 n'a pas mis en évidence de transfert du gène *bla* vers la flore bactérienne.

La biovigilance, conduite à cette époque, permet de compléter les connaissances sur les flux de gènes par la voie pollinique chez le maïs et sur le thème du développement de la résistance à la toxine *Bt* par la pyrale du maïs (*Ostrinia nubilalis*). Elle participe à la construction de données de référence sur l'impact des maïs *Bt* sur les insectes ravageurs et auxiliaires. Elle contribue à la mise au point des méthodes de surveillance des phénomènes d'acquisition de résistance à la toxine *Bt* chez la pyrale du maïs.

La surveillance de la dispersion du pollen a été essentiellement réalisée par l'Association générale des producteurs de maïs (AGPM) en collaboration avec le Laboratoire évolution et systématique du CNRS. Elle montre que la dispersion est

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

importante dans les premiers mètres puis diminue rapidement. Il n'a cependant pas été possible de déterminer la distance (par rapport à la source) au-delà de laquelle on ne trouve plus de pollen. Cette opération permet dans le cadre d'un projet pluridisciplinaire et collectif de générer une masse d'informations, sans équivalent en Europe, sur cette question.

Dans cette phase où la biovigilance conserve des caractéristiques qui relèvent de la recherche expérimentale, la valeur alimentaire, technologique et zootechnique des produits et sous-produits issus de plantes génétiquement modifiées est aussi étudiée entre 1997 et 2000. Cette opération de surveillance spécifique est pilotée par l'AGPM en collaboration le Centre national interprofessionnel de l'économie laitière (CNIEL), l'INRA, et l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA). Elle ne montre aucune différence significative pour les qualités technologiques et alimentaires du maïs grain et des produits issus de transformation industrielle (semoulerie, brasserie, cuisson-extrusion, huilerie) entre les variétés de maïs génétiquement modifiées et les variétés d'origine non transformées. L'étude est complétée par une expérimentation sur vaches laitières et brebis qui permet d'apprécier la valeur alimentaire et zootechnique du maïs fourrage (production de lait) et les effets sur la quantité de lait. Il est ainsi montré que le maïs génétiquement modifié est sans incidence significative sur les brebis et n'a pas d'effet sur la production laitière des vaches et sur la composition du lait, dans les conditions de l'expérimentation.

2.2. De la surveillance spécifique à la surveillance générale : actions sur l'entomofaune

Au-delà de ces premières opérations de surveillance imposées par les arrêtés d'inscription des variétés, la biovigilance va progressivement sortir d'un contexte de type expérimental pour prendre une dimension plus large et plus générale plus proche de celle du concept de surveillance générale. Les actions conduites dans le domaine de l'entomofaune du maïs et ses évolutions successives illustrent cette progression. Les opérations de biovigilance conduites dans ce domaine se décomposent en trois phases avec des dispositifs propres à chaque phase (figure 3).

La première phase a été exploratoire. Elle a vu la conduite d'actions menées en 1998 et 1999 qui relèvent exclusivement de la surveillance spécifique (Bourguet *et al.*, 2002). Indépendamment des thèmes traités, les dispositifs des suivis s'appuient quasi systématiquement sur des comparaisons de données collectées sur des cultures de variétés génétiquement modifiées par rapport à des variétés témoins non OGM, isogéniques. Le dispositif est alors construit sous forme de dispositifs blocs ou de couples de parcelles au sein d'un important dispositif expérimental.

Dans ce cadre, les suivis portent sur l'efficacité des variétés de maïs génétiquement modifiées (*Bt* 176 en 1998 puis MON 810 à partir de 1999), contre les populations cibles de ravageurs du maïs comme la pyrale ou la sésamie (*Sesamia nonagroïdes*), ou encore le cirphis de graminées (*Mythimna unipuncta*). L'apparition éventuelle d'effets non intentionnels sur les populations de ravageurs, notamment

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

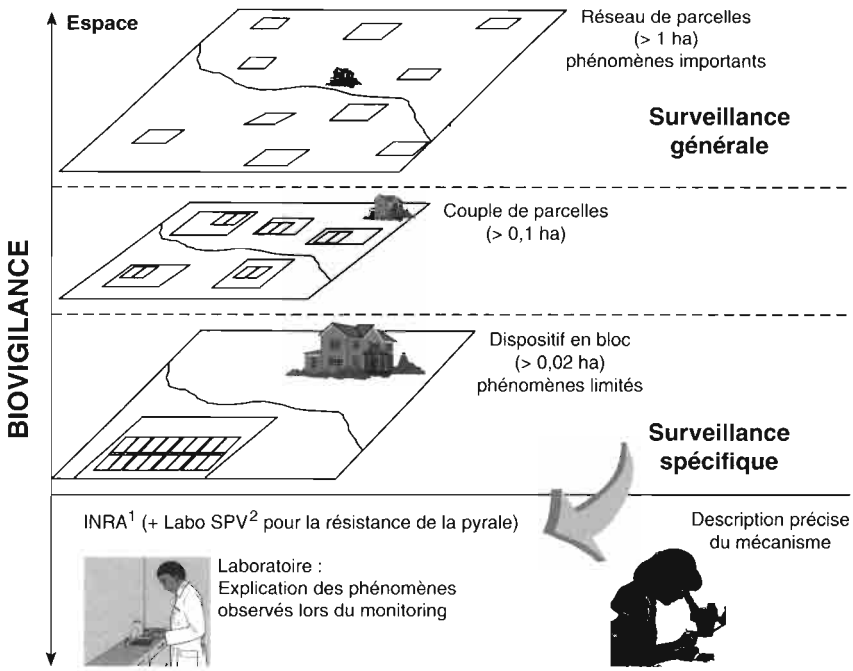


Figure 3 ■ Dispositifs et dimension de la surveillance.
(1. Institut national de recherche agronomique ; 2. Services de la Protection des végétaux.)

l'émergence de formes résistantes à la toxine *Bt* exprimée par ces maïs est suivie pour la pyrale. Elles portent aussi sur les effets non intentionnels sur un cortège d'arthropodes plus large, ravageurs, auxiliaires ou neutres, hébergés par l'appareil aérien du maïs.

Les aspects « suivi de la sensibilité des populations de pyrales à la toxine *Bt* » sont basés sur un protocole élaboré par l'INRA et mis en œuvre à la fois par l'INRA et les DRAF/SRPV. Il vise à établir la courbe initiale de sensibilité des populations de pyrale à la toxine *Bt* puis à suivre au cours du temps l'évolution de cette courbe. La comparaison de la sensibilité des pyrales à la toxine *Bt*, issues des parcelles de culture de variétés GM et variétés non GM, n'a mis en évidence aucune différence significative.

En ce qui concerne les effets éventuels sur l'entomofaune, le suivi mis en place porte sur les populations d'auxiliaires (coccinelles, chrysopes, syrphes, Hyménoptères *Aphidius*, *Aphelinus* et *Praon,* punaises *Orius*) et de leurs proies habituelles que sont les pucerons et les cicadelles. Les populations de mouches tachinaires, autres parasitoïdes des larves de pyrale, font également l'objet d'une surveillance. Un dernier cortège d'insectes suivis est constitué par des insectes piqueurs qui s'alimentent dans les cellules du parenchyme, tels les acariens et les thrips.

Avec les acariens et les thrips, le troisième grand mode d'alimentation des ravageurs aériens du maïs est pris en compte : des insectes broyeurs de tissus avec les

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

larves de Lépidoptères cibles du maïs *Bt* (pyrale, sésamie et cirphis) ; des insectes piqueurs s'alimentant dans les vaisseaux du phloème avec les pucerons et les cicadelles et enfin des arthropodes videurs de cellules avec les acariens et les thrips (Delos et Schoonejans, 2000).

Les observations faites ne révèlent pas d'effet significatif du maïs transgénique sur le cortège d'insectes auxiliaires (coccinelles, syrphes, chrysopes) intervenant dans la régulation des populations de pucerons, et les autres arthropodes (*Orius*, acariens, thrips) significativement présents dans une culture de maïs.

Les comparaisons des sensibilités au *Bt* des populations de pyrales provenant des parcelles *Bt* avec celle issues des parcelles témoins, ainsi que leurs parasitoïdes sont rapidement abandonnées du fait de l'arrêt de la commercialisation des variétés de maïs *Bt* 176. Les seules variétés qui restent disponibles dérivent de l'événement de transformation MON 810 efficace à la différence de *Bt* 176 sur une deuxième génération de pyrale. Dans ces conditions, il n'était plus possible de prélever un nombre suffisant de larves de pyrales sur du maïs GM.

L'observation en 1999 d'une augmentation significative de l'ordre de 20 à 50 % du nombre des thrips sur des cultures de maïs *Bt* conduisit à renforcer le dispositif de surveillance concernant ces organismes en 2000. Cette démarche s'est accompagnée d'une opération de surveillance générale visant à définir plus précisément au plan national la distribution, la diversité et l'importance des populations de thrips. Les thrips regroupent un grand nombre d'espèces dont les populations suivent de grandes fluctuations en fonction des années aussi bien en ce qui concerne leurs aires de répartition que de leurs niveaux de populations. Les écarts, observés en 1999 et qui n'ont pas été confirmés en 2000, s'expliquent sans doute par ces caractéristiques qui marquent les populations de ces organismes.

La surveillance mise en œuvre à partir de 1998 sur les effets susceptibles d'affecter le cortège de parasitoïdes de la larve de pyrale, essentiellement focalisée sur les mouches tachinaires, prend en compte des insectes *Braconidae* et *Ichneumonidae* (micro-Hyménoptères) qui sont d'autres parasitoïdes des pyrales. L'objectif vise à élargir le cadre de la surveillance et à établir une situation de référence en profitant d'une absence de culture significative de maïs *Bt*.

Suivant la même logique, les effets du maïs *Bt* 176 sur les chenilles de cirphis (*Mythimna unipuncta*), un autre Lépidoptère du maïs, sont clairement caractérisés dès 1998. La baisse d'efficacité du maïs *Bt* 176 sur les secondes générations de pyrales et de sésamies est décrite, phénomène que l'on ne retrouve pas avec l'événement MON 810 dont l'efficacité demeure stable quasiment jusqu'à la récolte.

À partir de 2000, les nouvelles actions évoluent encore plus dans le sens de la surveillance générale. Les protocoles initialement mis en œuvre sont adaptés pour aller dans le sens de cet objectif. Sans abandonner le réseau de parcelles de comparaison des variétés de maïs génétiquement modifiées avec leurs contreparties isogéniques conventionnelles, s'engage la construction d'un réseau de parcelles où les agriculteurs conduisent leurs cultures suivant leurs pratiques habituelles. Ce réseau constitue l'ébauche de l'observatoire de la flore des grandes cultures dont la construction se poursuit encore aujourd'hui. Ce réseau doit permettre la collecte

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

de toutes les informations nécessaires à l'identification d'éventuelles évolutions de la répartition et de la diversité de la flore considérée.

Dans le même temps, les modalités de suivi de l'évolution de la sensibilité de la pyrale à la toxine sont modifiées. La méthode de criblage en deuxième génération dite « *F2 screen* » est adoptée pour déterminer les fréquences d'allèles de résistance dans des lignées isofemelles. Cette méthode permet une augmentation significative de la sensibilité de détection par rapport à celle antérieurement utilisée (Bourguet et Chauffaux, 2002).

Le dispositif reste centré sur la détermination des caractéristiques du voltinisme de la pyrale et le suivi de ses parasitoïdes à l'échelle du territoire. Le taux de voltinisme qui est estimé par le nombre de vols de pyrales par an, est considéré comme un facteur déterminant du risque d'apparition de formes résistantes à la toxine *Bt*. Ce suivi a permis d'établir une première cartographie de la répartition des zones où l'on rencontre une ou deux générations annuelles. Les données obtenues à travers l'ensemble de ces opérations de surveillance sont exploitées pour modéliser le risque d'apparition de résistance à la toxine *Bt* dans des populations de pyrale.

Le choix des parasitoïdes en tant qu'indicateur biologique se justifie par la place qu'ils occupent dans la chaîne trophique. Leur suivi permet en outre de renforcer les connaissances, jusque-là lacunaire, sur la diversité des espèces, leur fréquence, leur période d'apparition, leur répartition géographique et leur incidence. Cette surveillance relève d'une approche globale comme le suivi de l'efficacité du contrôle de tous les ravageurs (pyrale, sésamie, cirphis, *Heliothis*) par les variétés de maïs GM.

En 2003, puis en 2004, des dispositifs de surveillance spécifiques sont mis en œuvre pour étudier les conséquences de la coexistence entre des cultures hôtes des Lépidoptères cibles du maïs *Bt* sur la gestion des phénomènes de résistance ; cette action spécifique porte sur la polyphagie de la pyrale et de la sésamie du maïs ainsi que ses implications pratiques.

Progressivement, le dispositif de surveillance de l'entomofaune du maïs a dépassé un stade qui relève plus du simple cadre expérimental, pour prendre une dimension plus large plus proche du concept de la surveillance générale. Des aménagements et des progrès sont encore certainement nécessaires pour améliorer le dispositif, et augmenter ses capacités à détecter précocement des effets discrets et à long terme. Même si la pertinence de l'outil pour l'identification des variations entre années, régionales ou globales est vérifiée, la taille du réseau de suivi de la pyrale (une centaine de parcelles) reste encore trop limitée. Le tableau 1 permet d'avoir une vue synthétique des actions menées depuis 1998 à la suite des avis du comité de biovigilance.

2.3. Développement de la surveillance générale : action sur la flore

À partir de 2001, les premières étapes de la construction d'un observatoire permanent de la flore adventice des grandes cultures coïncident avec une volonté d'ancrer davantage la biovigilance dans la surveillance générale. Elle s'oriente vers le déve-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

loppement d'observatoires organisés en réseaux de parcelles représentatives des cultures et des pratiques culturales d'une région donnée. Comme dans le cas précédent, les informations relatives aux milieux, aux pratiques et à l'historique des parcelles, sont collectées pour compléter les observations de terrain.

L'observatoire de la flore des grandes cultures se conçoit comme un outil global de suivi de la flore sans privilégier une espèce par rapport à une autre. Il doit permettre de caractériser et surveiller des évolutions de la flore des cultures en prenant en compte des changements plus rapides du contexte de la production en grandes cultures et de modification du climat. Il vise à prévenir le développement d'espèces présentant des risques à la fois pour les cultures elles-mêmes et pour la santé publique. Le dispositif est aussi un outil d'aide à la gestion du désherbage en caractérisant les liens existants entre les adventices et les milieux dans lesquels elles se développent et l'impact des pratiques sur leurs fluctuations. L'ensemble des retombées possibles, en marge de l'outil de description des évolutions de la flore, doit conduire à disposer de systèmes d'aide à la décision visant à améliorer les préconisations en faveur des pratiques utilisant moins d'herbicides, cette famille de produits de protection des plantes était encore trop souvent impliquée dans les contaminations des eaux souterraines et de surface.

Les parcelles de grandes cultures qui composent le réseau « flore » sont réparties sur le territoire national de façon homogène et en nombre suffisant pour tenir compte de la diversité nationale et régionale des cultures et des pratiques (plus d'un millier de sites d'observation suivis par an). Pour permettre un véritable suivi à long terme, le choix des parcelles tient compte des possibilités d'assurer la pérennité du maintien des mêmes parcelles au sein du réseau.

L'exploitation des résultats et leur analyse reposent sur l'expérience acquise par le laboratoire de malherbologie de l'INRA de Dijon sur la base des relevés floristiques et des informations extraites des rapports d'expérimentations de produits pharmaceutiques au début des années 2000. Chacune des parcelles d'observation intègre systématiquement une zone témoin d'une superficie minimale de 150 m^2 sans application d'herbicide. Les observations sont conduites parallèlement sur la zone traitée et la zone non traitée qui ne donnent que des informations complémentaires relatives à d'éventuelles difficultés de désherbage. La zone non traitée change chaque année au sein de la parcelle pour éviter les effets cumulatifs. Les caractéristiques des parcelles (culture et pratiques associées) au sein de ce réseau évoluent en fonction des choix individuels des agriculteurs. Une analyse rigoureuse des données suppose un enregistrement d'un maximum d'informations et de paramètres caractérisant finement à la fois le milieu et les pratiques qui y sont appliquées. Il est aussi tenu compte de l'historique des activités sur les parcelles par un enregistrement des pratiques antérieures, travail facilité par le maintien d'une majorité des mêmes parcelles une année sur l'autre. Toutes les informations sont enregistrées sur une base de données développée par l'INRA, permettant l'exploitation et l'analyse des données.

La démarche engagée à ce stade est destinée à établir progressivement un état des lieux complets de la flore des grandes cultures et de la diversité des situations

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Tableau I ■ Actions conduites de 1998 à 2004 dans le cadre du réseau de biovigilance du territoire français.

Protocoles	Objectifs	Dispositifs	Méthodes statistiques	Résultats
1998	1. Comparer la faune entre du maïs *Bt* et l'équivalent isogénique : pucerons – chrysopes – coccinelles – syrphes – *Aphidius* – acariens – *Orius* – cirphis – mouches tachinaires… Effet sur les pontes de pyrale 2. Étude de la résistance	Champs voisins Couple de parcelles « isorisques »	Test de student, Khi 2	Pas de différence significative sur la plupart des insectes. Différence significative sur tachinaires mais lien probable avec le niveau d'attaque de pyrale.
1999	1. Comparer la faune entre du maïs *Bt* et l'équivalent isogénique Idem 1998 + thrips 2. Étude de la résistance	Essais en Blocs	Analyse de variance N et K	Faible différence significative sur thrips. Pas de différence significative sur les autres insectes.
2000	1. Comparer la faune entre du maïs *Bt* et l'équivalent isogénique Seulement sur thrips avec identification des espèces 2. Étude de la résistance « *F2 screen* »	Réseau de champs (20) Couples de parcelles « isorisques » – essais blocs	Analyse de variance N et K AFCM Cartographie	Pas de différence significative. Chute de population en juillet, phénomène homogène sur tout le territoire.
2001 à 2004	1. Définir la *baseline* sur le voltinisme de la pyrale et son parasitisme par les mouches tachinaires avec identification des espèces 2. Étude de la résistance « *F2 screen* » 3. Surveillance de la polyphagie 4. Réseau flore	Réseau de parcelles : – 60 à 92 parcelles « Faune » – 600 à 1 000 parcelles « Flore »	AFCM Cartographie	Cartographie du voltinisme de la pyrale. Cartographie des espèces de tachinaires et de micro-hyménoptères. Évaluation du niveau de parasitisme. Atlas de la flore adventice.

rencontrées. Il doit intégrer des informations relatives à des paramètres agronomiques comme les pratiques culturales (par exemple les techniques culturales simplifiées), les évolutions en ce qui concerne l'utilisation des matières actives herbicides, les conséquences de la culture de variétés tolérantes à un herbicide, l'extension ou apparition de nouvelles adventices des cultures. Il est construit pour permettre le suivi :

– d'une grande diversité de risques comme les évolutions de la flore liée à la pression de sélection exercée par un herbicide donné ;

– de l'envahissement par des plantes issues d'une culture de variétés GM et considérées alors comme des adventices ;

– de l'apparition et du développement d'une adventice par acquisition, *via* une fécondation croisée, d'un gène de tolérance à un herbicide.

La cartographie précise de la flore adventice des grandes cultures et des conditions agronomiques associées est aussi utile pour le suivi en post-homologation des herbicides. Dans ce cadre, on retrouve les mêmes points de préoccupation que ceux qui ont été évoqués précédemment s'agissant de variétés GM. On peut y ajouter une amélioration de l'évaluation de l'impact des méthodes culturales sur la flore des parcelles. Ce réseau permettra en outre de disposer de données permettant une approche plus raisonnée de l'utilisation des herbicides, en précisant les zones concernées et les paramètres définissant leur importance en fonction de variables comme la nature des sols et des rotations des cultures. Il vise également à mieux définir les liens de corrélation entre la flore et le milieu.

La démarche engagée ne néglige pas la question des espèces « exotiques » ou potentiellement envahissantes. L'implantation et le développement d'espèces nouvelles ou peu développées comme le séneçon du cap (*Senecio inaequidens*), l'orobanche (*Orobanche spp.*), la cuscute (*Cuscuta spp.*) ou l'ambroisie (*Ambrosia artemisiifolia*) pourront être surveillés par les observations effectuées sur le réseau de parcelles. Si l'on considère les évolutions du volume des échanges internationaux et de possibles modifications du climat, on pourrait penser que le nombre d'introductions accidentelles d'espèces exotiques ou envahissantes risque de progresser dans les années à venir. La surveillance de ces phénomènes prend toute sa dimension dans le contexte de la gestion des risques, et ceci avec d'autant plus d'acuité que certaines de ces plantes peuvent aussi présenter des risques pour la santé publique à l'instar de l'ambroisie. Dans ce cadre, la surveillance portera également sur les pratiques de lutte obligatoire contre ces plantes et leurs effets.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

3. *Actions conduites dans d'autres pays européens : similitudes et différences*

3.1. L'Espagne

Les travaux réalisés en Espagne en matière de « *monitoring* » ont été développés sur des principes proches de ceux conduits en France au cours des années 1998 à 2000, essentiellement sur le maïs résistant à la pyrale avec notamment des expérimentations comparant directement l'impact des plantes génétiquement modifiées à des témoins isogéniques, et des parcelles protégées avec des insecticides (Castarena et Ortego, 2000). Les dispositifs expérimentaux ont permis des relevés de l'entomofaune présente à des dates successives, sur la base des espèces pouvant faire l'objet d'une évaluation par observation directe ou par piégeage. Différentes espèces d'arthropodes ont été ainsi suivies : pucerons et leurs prédateurs et parasitoïdes ; punaises dont les *Orius* ; araignées ; prédateurs *Chrysopidae*, *Coccinellidae*, *Syrphidae* et *Carabidae*. Ce type de dispositif permet l'utilisation d'outils statistiques adaptés à l'inférence classique, analyse de la variance et tests de comparaison de moyennes. La surveillance de l'évolution de la sensibilité des Lépidoptères pyrales et sésamie à la toxine *Bt* est réalisée au moyen du suivi des DL_{50} et DL_{90}.

Aucun effet particulier n'a été observé lors de ces suivis, ni sur l'entomofaune de la culture, ni sur l'apparition d'une population résistante au *Bt*. Les surfaces de maïs *Bt* ont varié en Espagne entre 20 000 et 30 000 hectares, soit environ 5 % de la surface cultivée en maïs depuis 1999.

3.2. La Grande-Bretagne

Au Royaume-Uni, la surveillance des plantes génétiquement modifiées a porté de 2000 à 2003, sur un dispositif de couples de parcelles, couples au sein desquels étaient comparés une variété génétiquement modifiée et son équivalent isogénique. Les plantes suivies selon ce dispositif étaient des betteraves, du colza et du maïs tolérants aux herbicides totaux. Les deux termes de la comparaison étaient conduits de façon identique sauf pour les pratiques de désherbage. Les pratiques étaient considérées comme standard sur la partie témoin en variété isogénique, et sont comparées à l'emploi des herbicides totaux, glyphosate sur les betteraves ou le colza tolérants et glufosinate sur le maïs tolérant. Les couples suivis ont été multipliés au niveau du territoire britannique sur 60 à 70 sites et sur trois années. Au sein de chaque culture, la répétition des couples sur les différents sites a permis de tester la signification statistique des résultats obtenus. Pour la comparaison, les suivis ont porté sur les espèces d'adventices présentes, les arthropodes ou différents ravageurs (dont les limaces), et qui sont échantillonnés par différentes méthodes : des systèmes à aspirations pour l'ensemble des insectes ou des piégeages pour les insectes et ravageurs se développant dans les parties basses de plantes ou au niveau du sol. En parallèle, des suivis sur des vertébrés et des oiseaux ont été opérés. Ce système a permis

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

de mettre en évidence une diminution de la biodiversité, au niveau de certaines espèces d'adventices, d'arthropodes et d'oiseaux, dans le cas des variétés de colza ou de betteraves tolérantes aux herbicides totaux. À titre d'exemples, citons des contributions à une réunion scientifique qui s'est tenue en Grande Bretagne : Brooks *et al.*, 2003 ; Champion *et al.*, 2003 ; Dewar *et al.*, 2003 ; Hawes *et al.*, 2003 ; Heard *et al.*, 2003a et 2003b ; Roy *et al.*, 2003 ; Squire *et al.*, 2003. Ces résultats ont été analysés comme la conséquence de la modification de la diversité des espèces d'adventices qui se maintiennent après l'application des désherbants, des liens existant entre la flore adventice, les populations d'arthropodes et les espèces aviaires. Ils ont été attribués à l'efficacité des pratiques mettant en œuvre du glyphosate, plus performantes que les pratiques standards. En revanche, pour le maïs, le phénomène inverse a été observé. Un très haut niveau d'efficacité est obtenu avec les pratiques standards, mettant notamment en œuvre des herbicides à base de triazines, aujourd'hui interdites. Aussi les performances s'appuyant sur les herbicides à base de glufosinate ont été inférieures, avec pour conséquence, des indicateurs montrant une diversité supérieure en espèces d'arthropodes et d'oiseaux pour la modalité tolérante aux herbicides totaux. Ces résultats ont entraîné une prise de position, par les commissions britanniques compétentes, en faveur du maïs tolérant au glufosinate, alors que des réserves étaient émises pour les colzas et betteraves tolérants au glyphosate.

3.3. La Suisse

La démarche de la Suisse, pour le suivi systématique de la biodiversité des espèces, est déjà ancienne. Elle a pour finalité une analyse des impacts des activités humaines (Hintermann *et al.*, 2002). Dans cette perspective, trois types de *monitoring* de la biodiversité sont conduits :

– un dispositif dit « α », correspondant aux suivis sur des sites limités en taille, référencés géographiquement, portant sur de nombreuses espèces vivantes (plantes, mollusques, oiseaux, poissons, amphibiens, arthropodes, vertébrés) sur tous types de milieux et sans contrainte spécifique. La mesure porte sur l'état des espèces en présence. Ce dispositif est considéré comme plus opérationnel pour le suivi des variations des espèces communes, largement répandues. C'est le dispositif qui présente le niveau de sensibilité le plus élevé ;

– un dispositif dit « β », cible davantage les habitats avec une échelle d'étude plus vaste. Son niveau de sensibilité est intermédiaire ;

– un dispositif dit « γ », à très large échelle, étudie les espèces rares ou en voie d'extinction. C'est le dispositif qui a le niveau de sensibilité le plus faible.

3.4. La France : comparaison avec les autres dispositifs européens

Les dispositifs espagnols et britanniques correspondant aux plans de surveillance développés jusqu'en 2000 en France, que l'on pourrait assimiler à la surveillance spécifique, avec, dans le cas britannique, des moyens considérables pour obtenir

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un delit

des résultats. Dans la logique qui est la nôtre aujourd'hui, ces dispositifs s'apparentent davantage à des systèmes d'évaluation ou de surveillance au cas par cas mais ne relèvent pas de la surveillance générale. La Suisse, au travers de son « *monitoring* » de biodiversité, est certainement le pays qui a développé le dispositif pouvant assurer la surveillance de l'impact des OGM sur l'environnement le plus proche des modèles retenus actuellement pour les actions de surveillance générale en France. Le dispositif français cible cependant davantage les impacts des pratiques agricoles, le dispositif suisse étant plus généraliste en l'état.

Conclusion et perspectives

La biovigilance constitue une approche récente et nouvelle dans la systématisation des relevés relatifs aux OGM. Une ampleur devrait être donnée à cette démarche qui se heurte à un manque cruel de données en la matière :

- d'état de référence dans les espaces agricoles ;
- de méthodes de surveillance ;
- de traitement des données.

Cette situation implique un travail important pour que cette activité de surveillance puisse trouver une traduction opérationnelle encore plus efficace. Cependant, au-delà de ces difficultés, les enjeux n'en sont pas moins importants si l'on considère que le champ d'application de cette surveillance biologique n'a aucune raison de se limiter à la seule question des OGM. L'expertise collective issue du développement de l'agriculture lors du XX^{e} siècle montre clairement que ce n'est pas tant le mode d'obtention d'un produit, qui peut être à l'origine d'effets adverses, mais ses caractéristiques propres et l'impact qu'il peut avoir avec le milieu dans lequel il est introduit : effets directs, effets indirects ou en interaction avec d'autres éléments du milieu. L'introduction de variétés génétiquement modifiées n'est qu'une composante (éventuelle) des changements possibles et des effets adverses observés. L'expérience des agronomes nous a appris que les modifications des pratiques ou des évolutions dans les produits utilisés en agriculture sont régulièrement à l'origine de ces effets. Une approche cohérente ne peut que passer par la mise en perspective et une analyse objective de l'ensemble des paramètres pour identifier avec certitude les véritables origines de ces effets.

Si la biovigilance doit permettre de détecter précocement l'apparition d'effets non intentionnels pour permettre l'adoption rapide de mesures de gestion des risques efficaces, elle devrait aussi permettre d'accroître les connaissances sur l'impact des OGM sur l'environnement, démarche également utile pour enrichir et améliorer l'évaluation des risques préalables à toute nouvelle autorisation de dissémination volontaire que ce soit à des fins de recherche ou de développement que de mise sur le marché. Le cas échéant, les données obtenues à travers ces actions, permettront aussi de réviser de manière appropriée les décisions délivrées antérieurement. Dans ce contexte, l'approche proposée, les données de référence et les méthodes mises

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

au point sont parfaitement transposables au suivi des impacts de toute pratique agricole sur l'environnement. La biovigilance devient alors un outil majeur de gestion des risques.

Références bibliographiques

Bourguet D., Chaufaux J., Micoud A., Delos M., Naîbo B., Bombarde F., Eychenne N., Marque G., Pagliari C. (2002). *Ostrinia nubilalis* parasitism and the field abundance of non-target insects in transgenic *Bacillus thuringiensis* corn. *Env Bio Res*, **1** : 49-60.

Bourguet D., Chaufaux J. (2002). Pyrale du maïs et maïs transgénique *Bt* : sélection et gestion de la résistance. Restitution des résultats. Atelier (A.I.P) « OGM et Environnement », Paris, 62-69.

Brooks D.R., Bohan D.A., Champion G.T., Haughton A.J., Hawes C., Heard M.S., Clark S.J., Dewar A.M., Firbank L.G., Perry J.N., Rothery P., Scott R.J., Woiwod I.P., Birchall C., Skellern M.P., Walker J.H., Baker P., Bell D., Browne E.L.G. Dewar A.J., Fairfax C.M., Garner B.H., Haylock L.A., Horne S.L., Hulmes S.E., Mason N.S., Norton L.R., Nuttall P., Randle Z., Rossall M.J., Sands R.J.N., Singer E.J., Walker M.J. (2003). Invertebrate responses to the management of genetically modified herbicide-tolerant and conventional spring crops. I. Soil-surface-active invertebrates. *Phil Trans R Soc Lond B*, **358** : 1847-1862.

Castarena P., Ortego F. (2000). Monitoring of Environmental Impacts of Genetically Modified Plants. Monitoring Corn Borer resistance. *In* German Federal Environmental Agency. EU Workshop, Berlin, 114-118.

Champion, G.T., May M.J., Bennett S., Brooks D.R., Clark S.J., Daniels R.E., Firbank L.G., Haughton A.J., Hawes C., Heard M.S., Perry J.N., Randle Z., Rossall M.J., Rothery P., Skellern M.P., Scott R.J., Squire G.R., Thomas M.R. (2003). Crop management and agronomic context of the Farm Scale Evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. *Phil Trans R Soc Lond B*, **358** : 1801-1818.

Delos M., Schoonejans E. (2000). Monitoring of Environmental Impacts of Genetically Modified Plants. Presentation of Monitoring Concepts of France. *In* German Federal Environmental Agency. EU Workshop, Berlin, 36-42.

Dewar A.M., May M.J., Woiwod I.P., Haylock L.A., Champion G.T., Garner B.H., Sands R.J., Qi A., Pidgeon J.D. (2003). A novel approach to the use of genetically modified herbicide-tolerant crops for environmental benefit. *Proc R Soc Lond B*, **270** : 335-340.

Hawes C., Haughton A.J., Osborne J.L., Roy D.B., Clark S.J., Perry J.N., Rothery P., Bohan D.A., Brooks D.R., Champion G.T., Dewar A.M., Heard M.S., Woiwod I.P., Daniels R.E., Young M.W., Parish A.M., Scott R.J., Firbank L.G., Squire G.R. (2003). Responses of plants and invertebrate trophic groups to contrasting herbicide regimes in the Farm Scale Evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. *Phil Trans R Soc Lond B*, **358** : 1899-1913.

Heard M.S., Hawes C., Champion G.T., Clark S.J., Firbank L.G., Haughton A.J., Parish A.M., Perry J.N., Rothery P., Scott R.J., Skellern M.P., Squire G.R., Hill M.O. (2003*a*). Weeds in fields with contrasting conventional and genetically modified herbicidetolerant crops. I. Effects on abundance and diversity. *Phil Trans R Soc Lond B*, **358** : 1819-1832.

Heard M.S., Hawes C., Champion G.T., Clark S.J., Firbank L.G., Haughton A.J., Parish A.M., Perry J.N., Rothery P., Scott R.J., Skellern M.P., Squire G.R., Hill M.O. (2003*b*). Weeds in fields with contrasting conventional and genetically modified herbicide tolerant crops. II. Effects on individual species. *Phil Trans R Soc Lond B*, **358** : 1833-1846.

Hintermann U., Schmill J., Weber D., Zangger A. (2002). *Monitoring* de la biodiversité en Suisse MBD, Cahier de l'Environnement n° 342, OFEFP (office fédéral de l'environnement des forêts et du paysage), Berne.

Roy D.B., Bohan D.A., Haughton A.J., Hill M.O., Osborne J.L., Clark S.J., Perry J.N., Rothery P., Scott R.J., Brooks D.R., Champion G., Hawes C., Heard M.S., Firbank L.G. (2003). Invertebrates and vegetation of field margins adjacent to crops subject to contrasting herbicide regimes in the

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Farm Scale Evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. *Phil Trans R Soc Lond B*, **358** : 1879-1898.

Squire G.R., Brooks D.R,. Bohan D.A., Champion G.T., Daniels R.E., Haughton A.J., Hawes C., Heard M.S., Hill M.O., May M.J., Osborne J.L., Perry J.N, Roy D.B., Woiwod I.P., Firbank L.G. (2003). On the rationale and interpretation of the Farm Scale Evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. *Phil Trans R Soc Lond B*, **358** : 1779-1799.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

46

Éclairages sur la réglementation des produits phytosanitaires

Catherine Regnault-Roger
& DGAL-MAAPAR

L'ouvrage ne pouvait se conclure sans aborder les aspects législatifs et réglementaires concernant les produits phytosanitaires. Pour ce faire, nous avons sollicité l'institution la mieux placée en France pour nous donner un point de vue autorisé sur la question. La direction générale de l'Alimentation (DGAL) du ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche et des Affaires rurales (MAAPAR), en la personne de son directeur général, M. le préfet Thierry Klinger, a bien voulu répondre favorablement à notre demande, et a chargé ses services de nous fournir un document. Emanant d'une administration, il s'agit d'un texte rédigé de manière administrative, sans renvois bibliographiques ni explicitation des acronymes. Aussi avons-nous souhaité compléter ce document en donnant au lecteur, dans une première partie introductive du chapitre, des précisions complémentaires.

Ce chapitre est donc particulier dans sa conception et se présente en deux parties. La première vise à placer en perspective quelques éléments relatifs à la réglementation des produits phytosanitaires afin d'éclairer la démarche exposée dans la seconde. L'étroite collaboration que l'auteur de cette première partie entretient depuis plusieurs années avec des équipes canadiennes et les fructueux échanges scientifiques qui en résultent, ont conduit naturellement à évoquer les situations réglementaires qui existent au niveau de l'Union européenne et au Canada, situations qui s'inscrivent dans la même philosophie du développement durable. La seconde partie du chapitre est consacrée à la présentation des orientations du ministère français de l'Agriculture en matière d'homologation des produits phytosanitaires. Le texte de cette deuxième partie est signé par la DGAL du MAAPAR.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1re partie : Quelques points de repères sur la réglementation dans l'Union Européenne et au Canada

Catherine Regnault-Roger

La nécessité d'une réglementation s'impose dès lors qu'on manipule des produits qui sont susceptibles de générer des risques. Les produits phytosanitaires font donc l'objet d'une démarche réglementaire. Au cours des dix dernières années, plusieurs pays, principaux marchés de pesticides, ont décidé de revoir la réglementation des produits phytosanitaires et d'inscrire leur démarche dans le cadre du développement durable, concept adopté par l'ONU en 1987 et formalisé à la conférence de Rio en 1992 (*cf.* introduction de l'ouvrage).

Nous nous proposons, dans cette première partie de chapitre, de donner quelques points de repères relatifs à cette réglementation dans deux vastes ensembles, l'Union européenne (UE) et le Canada.

1. Repères historiques

La réglementation attachée aux produits phytosanitaires a évolué tout au cours du XXe siècle. Liée aux constats des désordres écologiques que pouvaient provoquer certains pesticides, une prise de conscience a émergé qu'il convenait de prendre en compte les effets écotoxicologiques de ces substances, à côté de l'évaluation de l'efficacité des substances actives, de leurs usages et de leur innocuité sur les animaux et l'espèce humaine. Ces impératifs d'efficacité et d'innocuité s'imposent également aux médicaments et produits thérapeutiques qui font l'objet d'une législation et d'une réglementation sévères.

On serait tenté de faire un parallèle entre ces produits et les produits phytosanitaires. En réalité, c'est bien plus lentement qu'émergea la réglementation concernant les produits phytosanitaires. Si on se réfère à l'exemple français, la nécessité d'établir des règles et usages des produits thérapeutiques est apparu très tôt : création en France d'une Commission nationale du Codex le 21 Germinal de l'an XI et première édition de la *Pharmacopœa Gallica* en 1818 (Volckringer, 1965). Pour ce qui concerne les produits phytosanitaires, il fallut attendre 1934 pour que le ministère de l'Agriculture institue une commission d'étude de l'emploi des toxiques en agriculture, et 1943 pour que soit instaurée une loi « *relative à l'organisation du contrôle des produits antiparasitaires à usage agricole* ». Par la suite, la Société

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

française de phytiatrie et de phytopharmacie (SFPP) créée en 1951, et la Chambre syndicale de phytopharmacie en 1952 (qui deviendra l'Union des industries de la protection des plantes, UIPP, en 1980), allaient instruire le mouvement d'une réglementation en adoptant des méthodes normalisant les analyses et les tests d'activités biologiques des produits (Fournier, 1999). En 1954, l'Assemblée permanente des chambres d'agriculture (ACPA) publiait un *Guide de lutte contre les ennemis des cultures*, et dans la foulée créait l'Association de coordination technique agricole (ACTA) dont le cinquantième anniversaire est célébré en 2005 et qui édite l'« *Index Phytosanitaire* » (41e édition en 2005). Ce recueil recense, sur les indications des sociétés, les spécialités et substances actives phytosanitaires commercialisées en France.

2. *Dénominations et catégories des produits phytosanitaires*

La multiplicité des expressions qui définissent les produits phytosanitaires est tributaire de cette histoire et traduit l'évolution des usages qui leur ont été attribués. Ainsi, à côté du terme « pesticide » d'origine anglaise, qui est le plus utilisé maintenant, Séverin (2003) ne recense pas moins de six appellations concernant les produits phytosanitaires : produits antiparasitaires à usage agricole ; produits pour lutter contre les ennemis des cultures ; produits de protection des plantes ; produits agrosanitaires ; produits agropharmaceutiques ; produits phytopharmaceutiques.

Cette dernière dénomination est indiquée très officiellement dans la directive 91/414/CEE qui réglemente la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques (*plant protection products*). En effet, la commission européenne opère une distinction entre ces composés qui « *constitue l'un des moyens les plus importants pour protéger les végétaux et produits végétaux et pour améliorer l'agriculture* » (directive 91/414/CEE), et les produits biocides qui sont les pesticides à usage non agricole. Ceux-ci sont nécessaires pour lutter « *contre les organismes nuisibles pour la santé humaine ou animale et les organismes qui endommagent les produits naturels ou manufacturés* » (directive 98/8/CE). Deux réglementations distinctes leur sont donc appliquées.

Depuis 2001, une directive particulière s'applique aux micro-organismes (directive 2001/36/CEE). Elle précise que les substances chimiques phytopharmaceutiques et les matières actives à base de micro-organismes doivent être l'objet d'exigences distinctes. Les premières doivent être examinées sous l'angle de leur devenir et de leur comportement dans l'environnement, ainsi que de leurs résidus, tandis que les secondes doivent être examinées en fonction, notamment, de leur infectiosité.

Les substances intervenant dans le mode de production biologique des produits agricoles font l'objet d'un règlement particulier (473/2002).

On remarquera que les organismes génétiquement modifiés (OGM) ne sont pas visés par cette réglementation. En Europe, la réglementation concernant la dissé-

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

mination et mouvements transfrontières des OGM fait l'objet d'une directive distincte complétée par plusieurs décisions et règlements (Europa, 2004a) :

– la directive 2001/18/CE ;

– les décisions (2002/623/CE ; 2002/811/CE ; 2002/812/CE ; 2002/813/CE ; 2003/701/CE ; 2004/204/CE) ;

– les règlements (1830/2003 ; 1946/2003).

Les dénominations administratives qui prévalent dans l'ensemble de l'Union européenne (UE) ne sont pas adoptées dans l'ensemble des pays d'expression francophones. Ainsi, au Canada, pays bilingue dans lequel les lois sont rédigées en anglais et en français, on parlera plus généralement de produits antiparasitaires. La loi sur les produits antiparasitaires (LPA, promulgée en 2002), a pour but de « *moderniser la réglementation canadienne des pesticides* », « *de mieux protéger la population canadienne contre les risques sanitaires et environnementaux que posent les pesticides* » et vise « *à assurer la sécurité et la disponibilité des ressources alimentaires* » (ARLA, 2003). C'est l'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire (ARLA) qui administre la LPA au nom du ministère de la Santé et gère la réglementation des pesticides à l'échelon fédéral (Santé Canada, 2002).

Pour le profane, ces distinctions entre les différentes expressions attribuées aux pesticides ne sont pas toujours faciles à cerner : c'est pourquoi les dénominations de pesticides ou de produits phytosanitaires, plus elliptiques et simplificatrices, sont d'usage courant.

3. *Les limites maximales de résidus (LMR) : outils de la réglementation des produits phytosanitaires*

La gestion des risques liée aux produits phytosanitaires s'inscrit plus que jamais dans une double problématique : la réduction de la toxicité des produits disponibles et la diminution des quantités employées. Pour y satisfaire, il a été institué des LMR (*cf.* encadré « Définitions de la Commission du Codex *Alimentarius* relatives aux résidus de pesticides »).

Les résidus de pesticides représentent en effet un risque tant en matière de santé humaine qu'au niveau environnemental (*cf.* chapitres 7 et 11). Aussi, une grande attention est-elle accordée à leur présence dans les aliments pour les humains comme pour les animaux. La nouvelle législation canadienne (LPA 2002) insiste particulièrement, dans son article 11 du chapitre 28, sur le fait que les LMR se doivent de protéger les groupes à risques : nourrissons et enfants, femmes enceintes et personnes âgées (ministère de la Justice du Canada, 2004), et qu'il s'agit d'une avancée par rapport à l'ancienne loi qui datait de 33 ans (Santé Canada, 2002).

Dans les années 80, la commission du Codex *Alimentarius* précisait que la LMR se « *rapporte au résidu résultant de l'emploi d'un pesticide dans des circonstances ayant pour objet de protéger l'aliment ou le produit alimentaire contre les attaques de ravageurs en conformité aux bonnes pratiques agricoles* » (Codex *Alimentarius*,

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1985). La définition actuelle des LMR dans l'UE est la suivante : « *il s'agit de la quantité maximale autorisée de résidus de pesticides pouvant se trouver dans un produit destiné à l'alimentation humaine ou animale. Ce n'est pas une limite toxicologique et son dépassement ne doit pas être nécessairement cause d'inquiétude pour la santé humaine ou animale. Dans le cas des pesticides autorisés dans l'agriculture, les LMR fixées correspondent à la teneur maximale de sécurité que l'on est en droit d'attendre si le pesticide était utilisé conformément aux règles et aux restrictions précisées dans l'autorisation* » (Europa, 2004b).

La LMR est une norme réglementaire et sa détermination est complexe. On peut établir une relation entre les DJA et les LMR. Les DJA (dose journalière admissible) (*cf.* encadré « Définitions de la Commission du Codex *Alimentarius* »)

Définitions de la Commission du Codex *Alimentarius* (Programme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires) relatives aux résidus de pesticides

Résidu de pesticide	Toute substance déterminée présente dans les aliments, les produits agricoles ou les aliments pour animaux par suite de l'utilisation d'un pesticide. Ce terme englobe tous les dérivés d'un pesticide, tels que les produits de conversion et de réaction, les métabolites et les impuretés que l'on considère comme ayant une importance sur le plan toxicologique. Les « résidus de pesticides » comprennent les résidus provenant de sources inconnues ou inévitables (par exemple de l'environnement) aussi bien que d'utilisations connues d'un produit chimique.
Limite de détermination	Concentration d'un résidu de pesticide ou d'un contaminant la plus faible que l'on puisse déterminer et mesurer quantitativement dans une denrée alimentaire spécifique, un produit agricole ou un aliment pour animaux avec un degré de certitude acceptable au moyen d'une méthode d'analyse réglementaire.
Dose journalière admissible (DJA)	Consommation par jour qui, au cours d'une vie entière, apparaît comme comportant le moins de risques pour la santé du consommateur. La DJA est fondée sur tous les faits connus au moment de l'évaluation du produit par la réunion conjointe FAO/OMS sur les résidus de pesticides. Elle est exprimée en milligrammes par kilogramme de poids corporel.
Dose journalière tolérable provisoire (DJTP)	Valeur fondée sur les données toxicologiques. Elle représente l'ingestion tolérable chez l'être humain d'un pesticide agricole qui peut être présent sous forme de contaminant dans les aliments dans l'eau de boisson et dans l'environnement.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Dose journalière admissible temporaire (DJAT)	Ingestion (par jour) fixée pour une période de temps déterminée, de façon à permettre l'obtention d'un certain nombre de données biochimiques, toxicologiques et autres nécessaires pour établir une dose journalière admissible (une DJAT comporte normalement l'application d'un facteur de sécurité plus élevé que celui utilisé dans l'estimation d'une DJA).
Limite maximale pour les résidus de pesticides (LMR)	Concentration maximale du résidu d'un pesticide (exprimée en $mg.kg^{-1}$) que la Commission du Codex *Alimentarius* recommande d'autoriser officiellement dans ou sur des produits alimentaires ou des aliments pour animaux. Les LMR sont fondées sur des données concernant les BPA, et les aliments obtenus à partir des produits qui répondent aux LMR applicables sont réputés acceptables sur le plan toxicologique.
Limite maximale pour les résidus d'origine étrangère (LMRE)	Concentration de résidu d'un pesticide ou d'un contaminant provenant de l'environnement (y compris d'usages agricoles antérieurs) ou de sources autres que l'application directe ou indirecte sur la denrée en cause. C'est la concentration maximale d'un résidu de pesticide ou d'un contaminant recommandée par la Commission du Codex *Alimentarius* comme pouvant être légalement autorisée ou reconnue comme acceptable dans ou sur une denrée alimentaire, un produit agricole ou un aliment pour animaux. La concentration est exprimée en milligrammes de résidu de pesticide ou de contaminant par kilogramme de denrée.
Apport journalier maximum théorique (AJMT)[1]	Apport calculé à partir des consommations moyennes individuelles journalières multipliées par les LMR. Sur le poids corporel de l'individu (exprimé en mg/kg/j). Il permet de vérifier que la quantité potentiellement ingérée chaque jour par un consommateur est inférieur à la DJA. Si l'AJMT dépasse la DJA, il faut procéder au calcul de l'AJEI.
Apport journalier estimatif international (AJEI)[1]	Apport calculé à partir des consommations moyennes individuelles journalières multipliées par la valeur médiane (MREC) des teneurs en résidus observées dans les expérimentations qui ont servi à fixer les LMR. Les informations relatives à la préparation de l'aliment (domestique ou industrielle) sont inclus sous forme d'un facteur de transfert (FT). Pour qu'une substance active soit autorisée sur un ensemble d'usages revendiqués, l'AJEI doit être inférieure à la valeur de la DJA.

Références : Terre et Vie (1999) d'après Codex *Alimentarius* ; 1. Conso *et al.* (2003).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

sont elles-même fonction des DES (dose sans effet) affectées d'un facteur de sécurité d'au moins 100. Cette relation prend en compte la consommation journalière moyenne de la ration alimentaire susceptible de contenir des résidus du pesticide considéré (en $g.kg^{-1}$) selon l'équation mentionnée par Mestres (1989) :

$$LMR = (1\ 000\ W/a).DJA$$

« W » représentant le poids du sujet (en kg) et « a » la quantité d'aliment consommé quotidiennement selon les statistiques de l'OCDE (Organisation de coopération et de développement économique).

Cette formule souligne que les LMR ne sont pas forcément identiques partout : la quantité d'aliment consommé quotidiennement, établie selon des données statistiques, varie énormément selon les habitudes alimentaires.

On peut également relier les LMR aux pratiques agricoles (Conso *et al.*, 2003). Elles se calculent sur la base d'une Bonne pratique agricole (BPA) « critique », qui correspond pour une substance active et une culture précise à la pratique agricole qui conduit au risque agricole de résidus le plus important. Cette BPA « critique » est fonction de trois facteurs qui sont par ordre d'importance : le délai avant récolte (DAR) le plus court ; la dose de pesticide par hectare la plus élevée ; le nombre maximum d'application par saison. La mise en place d'essais résidus complète ce dispositif. Ces essais correspondent à un nombre d'expériences comprises entre 8 et 16, sur un minimum de deux saisons. Des analyses évaluent les molécules indiquées dans la définition du résidu. Les résultats obtenus permettent de calculer une LMR qui résulte de la moyenne avec trois écarts types (correspondant à la dispersion des résultats). Selon Conso *et al.* (2003), la LMR apparaît comme une « *norme agronomique* » et non comme une norme toxicologique, un dépassement de LMR devant être interprété « *comme un non-respect d'une pratique agricole (en général un non-respect du délai avant récolte)* ».

La complexité de la notion de LMR a contribué à une hétérogénéité des LMR dans les différents pays de l'UE, ce qui fait qu'un produit autorisé en Allemagne pouvait se voir refusé en France (COLEACP, 2003). Aussi était-il urgent d'harmoniser les LMR dans l'UE afin de mettre fin à des incohérences commerciales et de permettre la mise en place de règles pour évaluer les risques et les gérer du mieux possible. En 2003, la Commission européenne a adopté une proposition de règlement visant à définir des LMR communautaires. L'Agence européenne de sécurité des aliments (AESA) est chargée de l'évaluation des risques et la Commission de leur gestion, en tenant compte des avis émis par l'AESA. Un accord européen a été conclu le 26 avril 2004 : les LMR des produits phytopharmaceutiques seront harmonisés à l'issue d'une période transitoire et ne seront plus établies qu'au niveau européen. Outre la simplification de la législation en vigueur, l'un des objectifs du nouveau règlement est de fournir des données supplémentaires à l'AESA en vue d'une meilleure évaluation des risques (Europa, 2004a).

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

4. *Une plus grande vigilance dans l'homologation*

Un processus de ré-homologation a été mis en place dans l'UE. En adoptant la directive 91/414/CEE entrée en application en 1994, la Commission européenne a décidé de réviser les 838 matières actives pour lesquelles des formulations étaient homologuées en 1993. Cette démarche vise à éliminer un certain nombre de pesticides anciens dont on a mis en évidence la toxicité ou l'écotoxicité. Elle contribuera sans aucun doute à l'éviction des spécialités ou matières actives qui ne sont pas suffisamment rentables pour le fabricant. En effet, la démarche pour obtenir la ré-homologation d'une matière active est onéreuse (*cf.* chapitre 40).

Les sociétés qui souhaitent maintenir sur le marché une matière active doivent préparer un dossier de « notification » sur cette substance. Ce dossier est déposé auprès d'un « état membre rapporteur » de l'UE qui l'examine et évalue sa recevabilité. Ses conclusions sont soumises au Comité européen. Dans le cas d'une réponse favorable, une évaluation complète, avec classements toxicologique et écotoxicologique et les recommandations d'usages, est réalisée par le pays rapporteur puis transmise au Comité européen. Celui-ci statue sur les propositions. Si l'avis est positif, la matière active est inscrite sur la liste positive, c'est-à-dire l'annexe 1 de la Directive 91/414/CE. La procédure de révision doit se terminer en 2008. Toute substance active qui ne sera pas inscrite sur l'annexe 1 ne pourra plus être, à terme, commercialisée dans l'UE (*cf.* deuxième partie du chapitre).

Les 838 matières actives sont reparties entre 4 listes. La première est celle des 90 substances actives les plus utilisées ou les plus préoccupantes. La seconde comprend 148 substances actives existantes. La troisième regroupe 402 substances actives complémentaires concernées par la notification, et la quatrième 269 substances actives temporairement exclues du programme de notification. Parmi les substances de la liste 4, figurent les extraits végétaux, les produits animaux, phéromones, micro-organismes, rodenticides, etc. (Malézieux, 2003). À l'issue de ce mouvement on s'attend à une diminution de 60 % du nombre des matières actives qui pourront circuler dans l'UE (*cf.* chapitre 40).

Au Canada, le mouvement est moins complexe, mais la loi LPA 2002 vise aussi à limiter l'homologation « *aux seuls pesticides dont la pertinence est démontrée dans la lutte antiparasitaire* » (Santé Canada, 2002).

Conclusion

Les importantes modifications réglementaires qui affectent les produits phytosanitaires commercialisés dans l'UE et au Canada démontrent que les pouvoirs publics de ces pays ont la volonté de s'inscrire dans le cadre de l'agriculture et du développement durables. Une utilisation des pesticides dans ce contexte vise à mieux cibler leur emploi afin de parvenir à une réduction globale des risques liés à

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

ces usages. En 2002, une communication de la Commission européenne indique en substance qu'il faut :

– réduire au minimum les dangers et les risques de l'utilisation des pesticides pour la santé et l'environnement ;

– renforcer les contrôles sur leurs utilisations et distribution ;

– réduire les niveaux des substances nocives, en remplaçant les plus dangereuses par des méthodes alternatives (y compris non chimiques) plus sûres ;

– encourager à la conversion à une agriculture utilisant moins de pesticides ou pas du tout ;

– mettre en place des dispositifs de suivi des progrès accomplis et définir des indicateurs appropriés ;

– contribuer à une utilisation plus sûre des produits phytopharmaceutiques dans les pays en développement en surveillant les exportations et dons de produits chimiques, et en mettant en œuvre des campagnes de formation et de contrôle de l'utilisation de ces substances (Europa, 2004c).

Comme il est de règle dans le fonctionnement de l'UE, il appartient à chaque pays membre de fixer les orientations qui lui permettront de s'inscrire dans ce cadre communautaire. La deuxième partie de ce chapitre nous éclairera sur celles de la France.

Remerciements : nous remercions M. le préfet Thierry Klinger pour avoir accepté de communiquer pour cet ouvrage un document de ses services, Mme Gaelle Feron (DGAL/MAAPAR) pour l'avoir transmis ainsi que pour l'aimable accueil qu'elle a réservé à notre initiative, et M. Yves Monnet qui a encouragé et soutenu notre démarche.

Références bibliographiques

ARLA (2003). La LPA et son règlement, Agence réglementaire de la lutte antiparasitaire. http://www.hc-sc.gc.ca/pmra-arla/

Codex Alimentarius (1985). Maximum limits for pesticides residues. *In Guide to Codex recommandations concerning pesticides residues.* FAO/WHO, Rome, CAC/PR-2.

COLEACP (2003). Programme Initiative pesticides : itinéraires techniques. Comité de liaison Europe-Afrique-Caraïbes-Pacifique. http://www.coleacp.org/pesticides/reglementation/

Conso F., de Cormis L., Cugier J.-P., Bouneb F., Delemotte B., Gingomard M.-A., Grillet J.-P., Pairon J.-C. (2003). Toxicologie : impact des produits phytosanitaires sur la santé humaine. *In* ACTA (ed). *Pesticides et protection phytosanitaire dans une agriculture en mouvement.* Association de Coordination Technique Agricole, Paris, 659-693.

Europa (2004a). Nouvelle directive sur la dissémination des OGM. http://europa.eu.int/scadplus/leg/fr/lvb128130.htm

Europa (2004b). Rapid Press Releases. http://europa.eu.int/rapid/pressReleasesAction.

Europa (2004c). Stratégie thématique concernant l'utilisation durable des pesticides. http://europa.eu.int/scadplus/leg/fr:lvb/121288.htm

Fournier J. (1999). Les pesticides : poisons ou bénédiction. Lettre des sciences chimiques du CNRS/L'actualité chimique, Novembre, 34-39.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Malézieux S. (2003). Réexamen des substances actives existantes. État d'avancement des travaux octobre 2003. *In Journée d'information sur la réglementation des Produits phytosanitaires*, Paris, 16 octobre 2003, AFPP, CD-Rom.

Mestres R. (1989). L'analyse de résidus toxiques ; son intérêt et ses limites ; exemple des résidus de pesticides. *In* Derrache R. *Toxicologie et sécurité des aliments*, 2e édition, Lavoisier Tec & Doc, Paris, 105-126.

Ministère de la Justice Canada (2004). Produits parasitaires. http://lois.justice.gc.ca/

Santé Canada (2002). Comparaison entre le nouveau projet de loi sur les produits antiparasitaires et la loi actuelle. http://www.hc-sc.gc.ca/

Séverin F. (2003). Pour une meilleure transparence : les enjeux et les attentes d'un dialogue vrai ou durable. *In* ACTA. *Pesticides et protection phytosanitaires dans une agriculture en mouvement.* Association de Coordination Technique Agricole, Paris, 885- 895.

Terre et Vie (1999). Limites maximales du Codex pour les résidus pesticides (174). http://www.Audace-ass.com/News_database/Morocco/Terre%20et%20vie_CODEX%20Residu%20Pesticides_Maroc.htm

Volckringer J. (1965). Notice historique. *In Pharmacopée Française* (8e édition) Codex français, Ordre National des Pharmaciens, Paris, 23-26.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

2e partie : Les orientations du MAAPAR en matière d'homologation des produits phytopharmaceutiques

Direction générale de l'alimentation (DGAL)
Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation,
de la Pêche et des Affaires rurales (MAAPAR)

1. La procédure d'autorisation des produits phytopharmaceutiques en France : un dispositif transparent et efficace

1.1. Définition d'un pesticide

Un pesticide (appelé produit phytopharmaceutique) est une préparation contenant une ou plusieurs substances actives, et destinée à protéger les végétaux ou les produits végétaux contre tous les organismes nuisibles ou à prévenir leur action, à exercer une action sur les processus vitaux des végétaux, à assurer la conservation des produits végétaux, ou à détruire les végétaux indésirables ou détruire les parties de végétaux, freiner ou prévenir une croissance indésirable des végétaux.

1.2. L'utilisation des pesticides en France

On distingue trois grandes filières d'utilisation des pesticides agricoles en France :

– l'utilisation agricole classique : 107 000 tonnes de pesticides sont en moyenne consommés annuellement au titre de cette utilisation ;
– l'utilisation par les jardiniers amateurs ;
– l'utilisation dans le cadre de la filière « espaces verts ».

Ces deux activités ont représenté la consommation de 1 500 tonnes de pesticides en 2000.

La famille de pesticides utilisée en majorité en agriculture est celle des fongicides, suivie par les herbicides. Les insecticides représentent 3 à 4 % du volume annuel consommé.

Attention à l'appréciation quantitative de la problématique : si, avec le tonnage d'environ 100 000 tonnes par an, la France, premier état agricole de l'Europe, est nécessairement la premier consommateur européen, elle n'occupe, avec 5 kg de

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

produits phytosanitaires consommés à l'hectare, que la cinquième place, loin derrière les Pays-Bas (avec 10 kg/ha).

Ce différentiel est d'autant plus significatif lorsque l'on mesure la variété de la production agricole française, au sein de laquelle sont représentées la quasi-totalité des filières du Nord et du Sud de l'Europe.

1.3. Une logique d'évaluation préalable à la mise sur le marché

Tout pesticide utilisé en agriculture fait l'objet d'une autorisation préalable de mise sur le marché français, délivrée par le ministère de l'Agriculture et de la pêche, au terme d'un processus d'évaluation préalable de son innocuité et de son efficacité.

Cette évaluation s'inscrit dans un cadre national et communautaire. En effet, depuis 1991, l'Union européenne a harmonisé les règles de mise sur le marché entre les différents États membres.

1.4. Le cadre communautaire

La directive du Conseil de l'Union européenne n° 91/414/CE a harmonisé les conditions d'obtention d'une autorisation dans les États membres de l'Union européenne. Ce texte communautaire a été transposé en droit français par le décret n° 94-359 du 5 mai 1994, assorti de plusieurs arrêtés d'application.

La directive fixe un principe de base. Les autorisations de mise sur le marché (AMM) sont des autorisations nationales dont les conditions de délivrance sont désormais harmonisées :

– depuis l'entrée en vigueur de la directive pour les préparations contenant une substance active nouvelle, puisque celle-ci doit être inscrite sur la liste positive communautaire prévue par la directive (annexe I) pour que les États membres puissent délivrer des AMM ; en conséquence le demandeur d'AMM doit préparer un « dossier européen » auquel est appliquée la procédure décrite au paragraphe 3 ;

– progressivement pour les préparations composées de substances actives existantes, c'est-à-dire autorisées dans un ou plusieurs États membres de l'Union européenne avant le 25 juillet 1993 ; l'Union européenne s'est donnée pour tâche de réexaminer toutes les substances actives anciennes (800 à 900 substances) sur une période de 12 ans découpée en tranches auxquelles correspondent des listes de produits soumis à examen.

1.5. La qualité de l'évaluation française des risques liés aux produits phytosanitaires

La Commission d'Étude de la toxicité regroupe de nombreuses compétences et potentiels d'expertise complémentaires permettant un examen complet des dossiers sur les plans toxicologique et écotoxicologique.

© Lavoisier - La photocopie non autorisée est un délit

La Commission d'étude de la toxicité est la seule instance existante en France qui présente la multiplicité des profils scientifiques et compétences requis pour satisfaire aux exigences normatives d'examen des produits et substances dangereuses.

Ses compétences diversifiées (médecins, toxicologues, agronomes, experts environnement, inspecteurs du travail, experts « résidus », etc.) offrent la possibilité d'une évaluation des risques présentés par un produit à la fois sur la santé publique (opérateur à tous niveaux, consommateur) et sur l'environnement.

En ce sens, la Commission d'étude de la toxicité, chargé de l'évaluation des risques liés à l'utilisation des produits phytopharmaceutiques, est exemplaire, et doit être prise comme référence en France et le dispositif en place n'appelle donc pas de modification structurelle précise.

1.6. Deux maîtres mots : efficacité et innocuité

Pour qu'un produit phytopharmaceutique obtienne une autorisation de mise sur le marché français, le demandeur de cette autorisation doit prouver :

– l'innocuité du produit pour l'homme (utilisateur et consommateur) et l'environnement (milieu, faune et flore), dans les conditions d'emploi prescrites. L'évaluation réalisée par les experts de la commission d'étude de la toxicité permet de déterminer si le profil du produit est acceptable au regard de ces différents points. Cette évaluation porte sur les caractéristiques intrinsèques du produit, son profil toxicologique, son devenir et son comportement dans l'environnement, les résidus dans les produits traités, ainsi que son profil écotoxicologique ;

– l'efficacité et la sélectivité du produit sur la ou les cultures traitées. L'évaluation réalisée par les experts des services de la Protection des végétaux ; elle porte sur l'efficacité et la sélectivité du produit sur les cultures traitées, mais aussi sur la phytotoxicité du produit.

1.7. Un décideur : le ministre chargé de l'agriculture

La décision d'AMM est prise par une seule autorité ministérielle, le ministre de l'Agriculture. Cette décision est préparée par une instance interministérielle (ministères chargés de l'écologie, de la santé, des fraudes), comprenant également un représentant de la Commission d'étude de la toxicité.

Le Comité d'homologation des produits phytosanitaires, qui élabore une proposition de décision, sur la base des évaluations conduites :

– par la Commission d'étude de la toxicité (évaluation du risque) ;

– par les experts de l'INRA ou des services de la Protection des végétaux (évaluation de l'efficacité),

assortit cette proposition de mesures de gestion du risque, allant du classement de la préparation, à des dispositifs plus complexes (suivi post homologation, par exemple). Voir en annexe de ce chapitre, deux fiches synthétiques sur la procédure française d'homologation des produits phytosanitaires.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

1.8. Une séparation nette de processus d'évaluation et de gestion des risques

Une série de réformes a été entreprise et a été menée à leur terme en 2001 pour que le dispositif national d'autorisation de mise sur le marché concoure de manière optimale à atteindre cet objectif. La procédure d'homologation a ainsi fait l'objet d'une refonte complète. Le dispositif d'évaluation et de gestion des risques repose désormais sur trois comités distincts : la Commission d'étude de la toxicité (composée exclusivement d'experts scientifiques), le Comité d'homologation (composés d'experts de l'administration = comité de gestion du risque) et la Commission des produits antiparasitaires chargée de formuler des avis et recommandations sur toutes les questions de portée horizontales (composition élargie aux représentants de la société civile).

Cette réorganisation importante nous permet de disposer d'un dispositif clair, efficace et surtout en accord avec la nature des problèmes à traiter.

2. *Une priorité : développer une politique d'orientation forte dans le domaine de l'homologation des pesticides, pour une gestion optimisée du risque pour la santé humaine et l'environnement*

L'utilisation des intrants en agriculture constitue aujourd'hui un sujet qui mobilise les agriculteurs, mais aussi l'ensemble des composantes de la société civile. Engrais comme pesticides, essentiels dans l'agriculture, n'ont jamais été autant décriés. L'image désormais commune de l'agriculteur pollueur est bien souvent liée à ces produits et l'impact de ces pratiques en terme de santé et d'environnement ne peut pas être négligé. Si l'on s'intéresse aux seuls pesticides, c'est plus de 100 000 tonnes qui sont utilisées chaque année sur notre territoire.

Plusieurs crises ont conduit à une réflexion sur les orientations à donner en matière d'intrants agricoles. Désormais, il ne s'agit plus seulement de faire connaître et respecter la réglementation existante, mais d'utiliser moins d'intrants, de manière plus raisonnée et ce, pour une meilleure maîtrise de leurs impacts sanitaires et environnementaux.

Bien entendu, la sécurisation de la mise sur le marché des produits phytosanitaires a pour objectif principal l'amélioration et la ré-orientation de certaines pratiques agricoles.

L'action des pouvoirs publics se positionne en amont, dès l'autorisation de mise sur le marché d'un produit mais également à l'aval afin le cas échéant, de corriger un certain nombre de difficultés, et de réajuster en continu et en tant que de besoin, le régime d'autorisation des produits.

L'homologation des pesticides est donc gérée de telle sorte qu'elle accompagne et qu'elle oriente au plus près l'évolution des pratiques agricoles.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

3. *Des objectifs, en termes de politique publique, clairs et affichés : un cadrage resserré de l'utilisation des intrants, un développement constant de l'interface « homologation/contrôles » pour la promotion d'une agriculture raisonnée*

Cette amélioration de la mise sur le marché des intrants se fonde sur un encadrement réglementaire dont les modalités d'application doivent être fiabilisées et renforcées. Une attention particulière doit être portée sur la mise au point d'une procédure d'autorisation sécurisée d'un point de vue juridique et méthodologique, ainsi que sur l'exploitation des retours d'expérience de terrain.

Cette orientation de l'utilisation des intrants peut se traduire par différents types d'action tels que :

– la mise en œuvre d'une politique volontariste et partagée d'élimination des produits à risque particulier pour l'homme et le milieu ;

– la recherche d'une adaptation constante des doses d'utilisation ;

– la substitution systématique des molécules à profil plus favorable ;

– le développement des suivis « post-homologation » pour améliorer la connaissance des impacts toxicologiques et des performances agronomiques des intrants ;

– le renforcement de l'encadrement de l'emploi des intrants dans le secteur agricole comme dans le secteur non agricole (jardins, espaces verts) ;

– la redéfinition de l'agrément sur des critères qualitatifs techniques et la promotion du métier de prescripteur ;

– l'élaboration de référentiels pour évaluer la qualité des process industriels de traitement des semences ;

– la définition et la promotion des bonnes pratiques phytosanitaires (gestion élargie des pratiques de désherbage, protection des milieux et gestion à long terme des substances actives) ;

– la promotion de la lutte biologique.

4. *L'orientation de la politique d'homologation repose en grande partie sur l'expertise des services déconcentrés du MAAPAR (DRAF) et sur leur capacité de réaction et d'anticipation*

Ces objectifs nécessitent le concours de l'ensemble des agents du ministère qui interviennent en matière de protection des végétaux. La plus-value que ces interlocuteurs de terrain apportent est en effet importante, et touche des domaines très divers. Les experts nationaux par « famille de culture » collaborent activement à la refonte du catalogue national des usages agricoles. Ce document a vocation à

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

constituer la référence en matière d'organismes nuisibles, de cultures et de mode de lutte (mis en ligne sur le site internet du MAAPAR). Ces experts interviennent dans la gestion technique de dossiers complexes relatifs aux substances actives. Cet apport peut être illustré :

– par l'action décisive des experts en matière d'efficacité des triazines et de stratégies possibles de substitution à l'occasion du retrait du marché de ces molécules ;

– par l'implication des experts dans le comité d'homologation. Les experts « cultures » participent effectivement au comité, et assurent la coordination technique des dossiers de fond ;

– par le rôle moteur des experts « cultures » dans le dialogue entre les instituts techniques et les sociétés en vue de pourvoir certains usages agricoles « vides » de produits phytosanitaires acceptables.

Ce type d'appui doit être développé et l'objectif vise bien à la mise en réseau de l'expertise des DRAF afin de recueillir tous les éléments nécessaires au pilotage de l'homologation et à une meilleure connaissance des pratiques agricoles effectives.

5. *La montée en puissance affirmée des expérimentations et des contrôles*

5.1. L'expérimentation officielle doit être mise à disposition des besoins de la collectivité et non plus seulement au service des seules firmes ou des agriculteurs

La synergie développée depuis de nombreuses années entre le réseau d'expertise ainsi créé, et le réseau d'expérimentation, constitue assurément un atout du dispositif. Cette synergie doit être développée.

La part d'expérimentation dévolue au soutien des filières mineures, ou à la mise au point de méthodes de lutte est en augmentation régulière. S'ajoutent plusieurs actions de recherche d'alternatives à des substances chimiques retirées (arsénite de sodium, par exemple), ou de vérification de faisabilité de mesures de réductions de doses de certains pesticides (programme « diuron », par exemple).

Le coordinateur du programme d'essais d'expérimentation développe à la demande de la DGAL une collaboration active avec les différents instituts techniques, afin de disposer à terme d'une base de données complète des expérimentations disponibles ou en cours. Il faut viser la cohérence d'ensemble de ces expérimentations. La démarche en cours sur la couverture des usages agronomiques vides constitue une illustration concrète de ce que sera cette synergie.

5.2. Les contrôles à l'utilisation sont nombreux et doivent encore se développer

L'action des équipes chargées de la surveillance et du contrôle est un atout primordial pour la réussite de la politique présentée plus haut.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

La Loi d'orientation agricole de juillet 1999 renforce la surveillance exercée sur les produits phytosanitaires dans le cadre de la politique interministérielle de réduction des risques liés à l'emploi des pesticides. Elle confie aux agents des services de la Protection des végétaux, des missions de contrôle de la commercialisation et de l'utilisation des produits phytosanitaires. Elle étend leurs pouvoirs en matière de police judiciaire (recherche et constatation des infractions, dans le cadre du Code de la consommation), et de police administrative (pour mettre fin rapidement à un risque grave pour la santé publique et l'environnement).

5.2.1. Les objectifs poursuivis par les contrôles

La protection de la santé publique, comprenant la sécurité sanitaire des productions végétales et la sécurité de l'applicateur, ainsi que la protection de l'environnement occupent une position centrale dans l'action de l'administration.

Plusieurs ministères interviennent, chacun en ce qui les concerne, dans l'exercice de ces missions : les ministères chargés de l'agriculture, de la consommation, de la santé et de l'environnement.

Au ministère chargé de l'agriculture, ces missions s'exercent depuis le stade de la production jusqu'à celui de la remise au consommateur.

5.2.2. Les différents types de contrôles exercés

Il existe deux types de contrôles concernant les produits phytopharmaceutiques. L'un s'attache au contrôle des produits et l'autre au contrôle des activités liées à ces produits.

5.2.2.1. Le contrôle des produits

- Un contrôle préalable à la mise sur le marché

Préalablement à leur mise sur le marché, les produits font l'objet d'un contrôle consistant dans l'évaluation des risques qu'ils peuvent présenter pour l'environnement, pour l'applicateur et pour le consommateur de manière plus générale.

De plus, ce contrôle vise à s'assurer que ces produits répondent à des exigences d'efficacité et de sélectivité à l'égard des végétaux.

Dans la mesure où les produits respectent l'ensemble de ces exigences, le ministre chargé de l'agriculture délivre une autorisation de mise sur le marché dans laquelle figurent les conditions et les prescriptions d'emploi. Ces indications doivent figurer sur l'étiquette des produits.

Ce sont les décisions liées à l'AMM qui vont orienter le contrôle des produits.

- Un contrôle *a posteriori* : Le contrôle de la mise sur le marché et de l'utilisation des produits phytopharmaceutiques

Le contrôle de la mise sur le marché a été mis en place avec la loi du 2 novembre 1943. L'exercice de ces contrôles était confié initialement, exclusivement aux agents de la DGCCRF.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Ces contrôles consistent à vérifier d'une part que les produits mis en vente bénéficient d'une homologation et d'autre part que les mentions devant figurer sur l'étiquette sont respectées.

Le principe d'un contrôle à l'utilisation des produits a été réellement posé avec la directive 91/414/CEE même si un arrêté du 25 février 1975 modifié l'arrêté du 5 juillet 1985 prévoyait déjà que l'utilisation des produits devait être conforme aux conditions d'application précisées dans les décisions d'homologation.

Jusqu'à la publication de la Loi d'orientation agricole du 9 juillet 1999, peu de contrôles à la mise sur le marché et à l'utilisation des produits ont été effectués.

Désormais, il existe une vraie politique de contrôle, qui ne cesse de monter en puissance depuis 2000. Cette loi a en effet doté les services de contrôle de pouvoirs d'investigation étendus, en leur conférant, notamment, le pouvoir d'ordonner des sanctions administratives. Le nombre de contrôles à l'utilisation a énormément progressé. Cette progression se poursuit de manière sensible en 2003 (3 000 contrôles programmés). Elle se traduit par l'implication croissante des agents des DRAF (SRPV), qui bénéficient du concours de la brigade d'enquête vétérinaires et phytosanitaires.

5.2.2.2. Le contrôle des activités de distribution et d'application de produits phytopharmaceutiques

Depuis la loi du 17 juin 1992, les activités de distribution et d'application en tant que prestataire de services de produits phytopharmaceutiques sont subordonnées à la détention d'un agrément délivré par le préfet de région. L'agrément est délivré sous réserve du respect de deux conditions :

- souscrire à une police d'assurance ;
- justifier de personnes certifiées.

■ Le contrôle de la distribution des produits

Toute personne qui met en vente, vend ou distribue à titre gratuit aux utilisateurs de produits phytopharmaceutiques classés dans les catégories toxiques, très toxique, cancérigène, mutagène, tératogène et dangereux pour l'environnement doit détenir un agrément.

■ Le contrôle de l'application, en tant que prestataire des services, de produits

Toute personne qui utilise des produits phytopharmaceutiques en tant que prestataire de service doit détenir un agrément.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

6. *Un réseau de surveillance complémentaire de l'homologation et des contrôles afférents*

La surveillance de l'utilisation des pesticides fait l'objet de dispositifs importants. Les plans de surveillances des résidus de pesticides dans plusieurs filières (endives, carottes, salades, pommes, vins, céréales…) ont désormais atteint leur vitesse de croisière. Ces actions de surveillance présentent une souplesse d'adaptation : en cas de problème répété, elles débouchent sur des plans de contrôle en bonne et due forme.

S'agissant des données résidus issus de nos plans de surveillance et de contrôle dans les denrées végétales que la DGAL amis en œuvre depuis 1990, celles-ci sont collectées et bancarisées sur un logiciel propre à la DGAL. L'interprétation des données de ces plans se fait par les agents de la DGAL et fait l'objet d'une synthèse par culture au terme de chaque plan annuel.

Actuellement, 21 577 analyses sont disponibles toutes cultures confondues. Tous les dépassements de LMR observés font l'objet d'une évaluation du risque consommateur par un calcul de l'AJMT (ou AJEI) qui peut aboutir à une modification du DAR (délai avant récolte) ou de LMR ou à une décision de retrait d'homologation sur l'usage considéré. Il est utile aujourd'hui d'affiner notre approche avec la mise en place d'un modèle global d'exposition et l'élaboration d'un arbre de décision, travail en cours auquel la direction générale de la santé participe, et qui sera soumis à validation de la Commission d'étude de la toxicité.

Une attention particulière doit être également portée aux actions de suivi « post-homologation » de certains produits. Une note conjointe des ministères de l'agriculture, de la santé et de l'environnement, cadrant ce dispositif a été finalisée. Les premières actions ont été engagées.

Les différentes composantes du dispositif d'homologation des produits phytopharmaceutiques contribuent significativement à son efficacité et son efficience.

Certains dossiers mériteraient néanmoins une collaboration plus active entre les différents ministères tels que les biocides ou la collecte et l'élimination des PPNU, produits phytopharmaceutiques non utilisables, qui, une fois qu'ils rentrent dans le champ de la législation « déchets » doivent être gérés par le ministère chargé de l'écologie.

C'est en mobilisant l'ensemble de ses compétences nationales ou régionales en matière de protection des végétaux que le ministère chargé de l'agriculture répond aux objectifs présentés plus haut.

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

L'ENCADREMENT REGLEMENTAIRE DE LA MISE SUR LE MARCHE DE PESTICIDES EN FRANCE

Bureau de la réglementation et de la mise sur le marché des intrants

A L'USAGE DU GRAND PUBLIC

✓ Un dispositif interministériel transparent

•L'homologation des pesticides repose sur un dispositif interministériel piloté par le ministère de l'agriculture, de l'alimentation, de la pêche et des affaires rurales en partenariat avec les ministères en charge de la santé, de l'environnement et de la consommation.
•Ce dispositif, qui a été profondément réformé en 2001, s'articule **autour de trois instances distinctes.**
•Le ministère entend fournir au grand public la meilleure information possible en matière de pesticides. Le catalogue des pesticides autorisés, et celui des usages agricoles sont consultables sur le site Internet www.agriculture.gouv.fr/spip. Les comptes-rendus des commissions et comités sont mis à disposition du public, sous une forme simplifiée, sur ce même site Internet ainsi que l'ensemble des formulaires et guides de procédures associés.

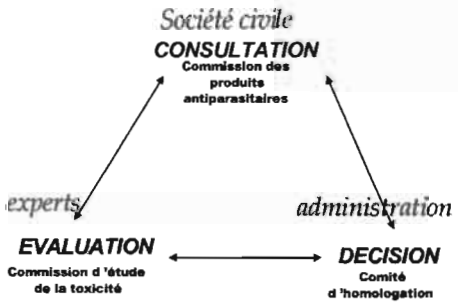
✓ La séparation de l'évaluation et de la gestion des risques, une garantie d'indépendance et d'excellence des différentes instances intervenant dans la procédure d'autorisation

•Les instances intervenant dans la procédure d'autorisation de mise sur le marché de produits phytosanitaires sont :

❶**La commission d'étude de la toxicité** : est une instance scientifique indépendante chargée d'évaluer les risques que peuvent présenter les produits de traitement des plantes vis à vis de l'homme et des animaux, ainsi que sur les dangers liés à leur dispersion dans l'environnement. Elle est composée d'experts toxicologues, médecins, agronomes, vétérinaires, chercheurs. Elle procède à l'examen des substances actives et des préparations, et attribue un classement toxicologique afin de garantir un niveau d'innocuité maximum. De plus, elle se prononce sur les conditions d'utilisation pour la sécurité des utilisateurs et fixe les concentrations admissibles et les dates limites avant récolte pour limiter les résidus dans les produits alimentaires. Elle soumet son avis au Comité d'homologation.

❷**Le comité d'homologation** : est chargé de préparer les décisions de mise sur le marché des pesticides, il joue un rôle de synthèse et de gestion du risque. Il rassemble les représentants des administrations concernées, ministères chargés de l'agriculture, de la santé, de l'environnement, de la consommation et de l'industrie. Il prend en considération l'avis de commission d'étude de la toxicité et examine également l'efficacité agronomique des substances. Il rend son avis au ministre en charge de l'agriculture qui prend la décision d'autoriser ou non le produit.

❸**La Commission des produits antiparasitaires** : est une instance consultative en matière de politique générale liée aux pesticides. Elle émet des propositions sur les problèmes de fond liés à la mise sur le marché et à l'utilisation de pesticides, donne un avis sur tout projet de texte législatif, réglementaire ou technique sur le sujet, ainsi que sur des mesures générales envisagées par l'administration.
Cette commission réunit chaque trimestre une cinquantaine de ***représentants des administrations et de la société civile*** : fabricants et distributeurs de produits, organisations techniques et professionnelles



agricoles, organisations de défense des consommateurs et de l'environnement.

MINISTERE DE L'AGRICULTURE, DE L'ALIMENTATION, DE LA PECHE ET DES AFFAIRES RURALES
DIRECTION GENERALE DE L'ALIMENTATION
251, rue de Vaugirard. 75105 – PARIS

Novembre 2004

Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

LA PROCEDURE D'AUTORISATION DE MISE SUR LE MARCHE DE PRODUITS PHYTOSANITAIRES EN FRANCE

A L'USAGE DES PROFESSIONNELS

Bureau de la réglementation et de la mise sur le marché des intrants

✓ **La directive européenne 91/414/CE**

•Cette directive a harmonisé les conditions d'obtention d'une autorisation dans les différents Etats-membres de l'Union européenne. Elle concerne les substances actives "nouvelles" et "existantes".

•Textes réglementaires nationaux de référence :

-Décret n°94-359 du 5 mai 1994

-Arrêté d'application du 6 septembre 1994

-Arrêtés modificatifs du 1er février et 24 septembre 1996

✓ **Une procédure rigoureuse**

•Avant de pouvoir être mis sur le marché, un produit phytosanitaire doit disposer d'une autorisation délivrée par le ministre de l'agriculture. Cette autorisation de mise sur le marché (AMM) ne peut être obtenue qu'à l'issue d'une procédure rigoureuse visant à évaluer les risques que peut présenter le produit et à s'assurer de sa réelle utilité agronomique.

•Pour qu'une AMM puisse être délivrée, il faut que la nouvelle substance active soit inscrite sur une liste positive européenne (annexe I de la directive).

PROCESSUS D'UNE OPERATION

12 à 18 mois

DOSSIER DE DEMANDE D'AMM D'UN PRODUIT
(si les substances actives contenues dans le produit sont inscrites à l'annexe I, sauf dérogation)

déposé auprès du Ministère de l'agriculture par l'opérateur

Etude de la recevabilité du dossier

EVALUATION DES RISQUES

➢pour la santé publique (des opérateurs et consommateurs)

➢pour l'environnement

EVALUATION DE L'EFFICACITE ET DE LA SELECTIVITE

à l'égard des végétaux dans les conditions d'emploi prescrites et vérifiables selon des méthodes d'usage courant

GESTION DU RISQUE

Elaboration d'une proposition de décision du Comité d'Homologation

DECISION DU MINISTRE DE L'AGRICULTURE
délivrée pour un produit donné, et pour 1 ou plusieurs usages donnés

AMM V.M. 10 ans | **AMMP** V.M. 3 ou 4 ans | **MEE** V.M. 2 ans | **Refus**

Contenu du dossier - Formulaires Cerfa : http://www.agriculture.gouv.fr/spip

Données techniques sur les substances actives : http://www.inra.fr/agritox

Compte-rendus de la Commission d'étude de la toxicité : http://www.agriculture.gouv.fr/spip

Compte-rendus du Comité d'Homologation : http://www.agriculture.gouv.fr/spip

Liste des produits autorisés en France : http://e-phy.agriculture.gouv.fr/wiphy

V.M = Validité Maximale **AMMP = AMM Provisoire** **MEE = Maintien en Etude**

Actions menées par le pétitionnaire | Interventions du Ministère de l'agriculture ou de la Commission | Autres interventions

Novembre 2004

MINISTERE DE L'AGRICULTURE, DE L'ALIMENTATION, DE LA PECHE ET DES AFFAIRES RURALES
DIRECTION GENERALE DE L'ALIMENTATION
251, rue de Vaugirard. 75105 – PARIS

Index

1- méthylcyclopropène 102
1,3 dichloropropène 117, 118, 130, 131, 133
1,8-cinéole 644, 656
2, 3, 5-triiodobenzoïque (TIBA) 108
2,4,5-T 175, 453
2,4-D 180, 448, 449, 453
2-4 DAPG 581
2-méthyl-1-naphtylacétamide 110
6-benzyladénine (cytokinine) 96, 97, 98

A

abamectine 24, 558
abeille 11, 225, 227, 228, 237, 299, 302, 752, 762, 765, 767, 772, 773, 774, 776, 778, 791
Abies
– *balsamea* 682
– *concolor* 682
abricotier 480
absorption 75, 85, 149, 173
– foliaire 80
Abutilon theophrasti 195
Acacia albida 470
Acanthoscelides obtectus 629, 632, 645, 793
acaricide 22, 53, 618, 635, 655
acarien 28, 505, 607, 614, 617
acclimatation 498, 503, 520, 523, 524, 525, 526, 535, 537
– d'auxiliaires 542
– d'espèces exotiques 537
acéphate 28, 40
Acer 682
acétamide 82
acetamiprid 480
acéto-arséniate de cuivre 22
acétylcholinestérase 35, 37, 123, 212, 216, 300
acétyl-CoA carboxylase (ACC ase) 81, 189, 423
acibenzolar-S-méthyl 65, 871
acide
– 1-aminocyclopropane carboxylate (ACC) synthase/oxydase 102, 107
– 1-naphthylphtalamique 99
– 2,3,5-triiodobenzoïque (TIBA) 99
– 2,4,5-trichlorophénoxy-acétique 95, 453
– 2,4-dichlorophénoxy-acétique 108, 453
– 2-méthyl-1-naphtylacétique 96, 110
– abscissique 99, 100, 730
– acétylsalicylique 65, 102
– α-indole butyrique (AIB) 96

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

- aminométhylphosphonique (AMPA) 279
- aminooxyacétique 108
- α-naphtalène acétique 96
- α-naphtylacétique (ANA) 94, 96, 97
- arylaminopropionique 193
- β-aminobutyrique (BABA) 64, 66
- benzoïque 88, 631
- β-indole butyrique 96
- chloro-4-phénoxyacetique 97
- clofibric (chlorophénoxyméthylpropionique) 99
- cyanhydrique 22, 581
- férulique 629
- gallique 659, 660
- gibbérellique 94, 95
- humique 150
- hydroxamique 656
- jasmonique 63, 738
- méthyl-2 chloro-4 phénoxybutyrique 453
- méthylchlorophénoxypropionique (MCPP) 95
- m-hydroxybenzoique 660
- nicotinique 634
- oléique 645
- phénoxyacétique 153
- phénoxyalcanoïque 249, 253
- phénoxycarboxylique 88
- p-hydroxybenzoique 660
- pyridyne carboxylique 88
- quinoline carboxylique 88
- rosmarinique 629
- salicylique 63, 66, 98, 631, 738, 871
- undécylénique 645

Acrobasis vaccinii 818
actinomycète 151
Aculops lycopersici 615
Acyrtosiphon pisum 501, 554, 770
ADCS (acide 3,5-dichlorosalicylique) 871
adsorption 122, 140, 141, 142, 144, 145, 147, 149, 158
adventice 3, 4, 5, 8, 73, 79, 139, 163, 189, 193, 194, 199, 204, 210, 411, 413, 420, 425, 445, 488, 752, 753, 874, 897, 910, 913, 947, 948, 950, 952
Afrique 27, 125, 174, 433, 434, 440, 443, 448, 452, 459, 460, 461, 462, 475, 511, 512, 515, 516, 523, 527, 528, 541, 654, 731, 921, 924
agarofurane 632
Ageniaspis citricola 479
agent
- antagoniste 578, 855
- biotique 729
- de lutte biologique 499, 543, 578, 582, 583, 875
- de régulation 556
- découplant 193
- pathogène 628

agriculture 2, 3, 6, 8, 30, 56, 195, 210, 225, 287, 354, 426, 433, 463, 470, 475, 476, 539, 704, 852, 896, 964
- biologique 48, 67, 204, 251, 639, 640, 641, 660, 756, 798, 801, 812, 813, 867
- durable 8, 12, 310, 373, 534, 552, 566, 757, 848
- raisonnée 283, 310, 347, 360, 603, 698, 836, 847, 971

Agrobacterium 722
- *radiobacter* 583
- *tumefaciens* 583

agrochimie 41, 755, 875
agroécosystème 350, 373, 556, 563, 621, 680
agroforesterie 357
Agrostis stolonifera 86
agrosystème 222, 225, 350, 353, 356, 359, 747, 755, 757
agrume 8, 97, 100, 128, 433, 452, 462, 475, 503, 639, 640, 822, 871
air 172, 174, 183, 246, 302, 845
Albizzia lophantha 655
alcaloïde 4, 31, 629, 634, 637, 639
alcool gras 98
aldicarbe 22, 30, 40, 120, 124, 126, 127, 130, 131, 132, 133, 175, 211, 267
aldrine 27, 28, 276
Alectra 436
aleurode 3, 38, 369, 371, 503, 553, 607, 609, 610, 612, 613, 616
Aleurothrixus floccosus 503

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Algérie 475
alkylglucosinolate 635
alkylthiocyanate 22
allèle de résistance 208, 209, 561, 563
allélopathie/allélopathique 87, 420, 656
Allemagne 200, 357, 608, 813, 824, 839, 873, 963
alléthrine 25, 30, 36, 216
alliacée 578
Allium 635, 655, 867
– *cepa* 655
– *porrum* 655
– *sativum* 440, 645, 655
allomone 626, 627
allylamine 54
Alopecurus myosuroides 86, 192, 194, 198
alpha-cyperméthrine 40
Alphitobius diaperinus 813
Alsophila pometaria 681, 682, 687
Alstroemeria aurea 614
Alternaria 49, 58
Amanita muscaria 294
Amaranthacées 194, 201
Amaranthus retroflexus 194
Amblyseius
– *cucumeris* 614
– *degenerans* 614
– *fallacis* 219
Ambrosia artemisiifolia 950
amélioration
– des plantes 713, 748
– génétique 446
– technologique des bio-insecticides 566
– variétale 512
aménagement
– de surfaces écologiques 360
– des habitats 361, 374
amendement organique 153
Amérique 503, 639, 654
– Centrale 133, 247, 503, 640
– du Nord 9, 26, 27, 30, 40, 174, 183, 225, 252, 290, 295, 296, 298, 302, 504, 540, 557, 603, 640, 643, 657, 660, 692, 728, 731, 818, 824, 836, 873, 876, 923, 924, 926
– du Sud 514, 523, 527, 728, 923
– latine 174, 252
amide 76, 79
amino-acide
– non protéique 635, 655
– soufré 635
aminoéthoxyvinylglycine 102, 108
amitraze 37, 40
Amitus spiniferus 504
anabasine 634, 635, 639
Anabrus simplex 825
Anagrus atomus 616
Anagyrus 519
– *diversicornis* 527
– *fusciventris* 616
– *pseudococci* 616
ananas 97, 128
α-naphtylacétamide 96, 97
Anastrepha 812
– *suspensa* 821
Ancistrocladaceae 654
Anethum sowa 655
anilinopyrimidine 62
Anobiidae 822
Anopheles
– *funestus* 211
– *gambiae* 216
antagonisme/antagoniste 511, 514, 572, 579, 581, 802, 852
anthracnose du bananier 52
Anthriscus 655
Anthriscus caucalis 445
anti-appétent 460, 627, 632, 643, 654
antibiose 518, 581
Anticarsia gemmatalis 556, 599
anti-gibbérellines 101
Antilles 539
antinutritionnel 627
Aonidiella aurantii 478
Aphanomyces enteiches 635
Aphelenchus avenae 116
Aphelinidae 515, 771, 772
– *Aphelinus abdominalis* 614, 768, 771
Aphides 553
Aphidiidae 771
– *Aphidius ervi* 768

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Aphidius 945
– *colemani* 614, 772
– *ervi* 614, 768, 771
– *matricariae* 614
Aphidoletes aphidimyza 614
Aphis gossypii 367, 554, 557, 613, 770
Aphytis 504
– *holoxanthus* 616
– *melinus* 504, 616
– *sp.* 479
α-pinène 632, 636
Apis 225, 299, 763, 791
Apoanagyrus diversicornis 520, 522
apport
– inondatif 609
– introductif 618
– journalier
– estimatif international (AJEI) 962
– estimé (AJE) 263
– maximum théorique (AJMT) 263, 962
Arabidopsis thaliana 65, 90, 105, 716, 736, 739, 740, 750
arachide/*Arachis hypogeae* 440, 444, 462, 463, 655
Arachnidae 827
arboriculture 95, 110, 315, 330, 349, 350, 407, 459, 462, 470, 702, 704, 882
arbre 39, 96, 475, 476, 603
Arctique 183
Argentine 728, 898, 912, 919, 921, 928
armoise 563, 707
arpenteuse 681, 682, 687
arrachage 455
– manuel 442
arséniate/arsenic/arsénite 3, 22, 178, 388, 972
Artemisia
– *absynthium* 655
– *annua* 420
– *scoparia* 655
artémisinine 420
arthropode 6, 8, 12, 26, 184, 536, 543, 544, 545, 564, 578, 787, 855, 873, 946, 951, 952
artichaut 96, 97
Arvicola terrestris 386
aryloxyphénoxypropionate 74, 81, 82
ascomycètes 45, 49, 51, 53, 58, 62
Asie 174, 433, 452, 556, 836, 873
Asolcus 504
Asparagus officinalis 655
asperge 724
assainissement 3, 647
association culturale 353, 375, 452
assolement 361, 374, 487, 489, 490
Astéracées/Asteraceae 655
Astéracées/*Asteraceae* 632, 641, 644, 655
asulame 89
Athene cunicularia 184
atmosphère modifiée 796, 797, 808, 815
atraton 274
atrazine 150, 154, 162, 164, 191, 274, 281, 295, 300, 301
aubergine 447
Aulacorthum
– *circumpflexum* 613
– *solani* 613, 769
Australie 194, 195, 198, 358, 403, 501, 540, 578, 608, 640, 815, 821, 824, 921, 924
Autographa
– *californica* 594, 602
– *gamma* 615
autorisation de mise sur le marché 6, 93, 182, 226, 580, 585, 845, 876, 919, 942, 968
Autriche 608
auxiliaire 8, 9, 11, 41, 173, 219, 225, 352, 355, 358, 360, 376, 461, 498, 499, 505, 507, 508, 512, 515, 517, 522, 524, 525, 526, 533, 539, 540, 544, 546, 609, 612, 613, 618, 619, 654, 701, 748, 762, 828, 875, 943, 945
auxine 88, 89, 94, 99, 104, 108, 110, 112, 193
Avena
– *fatua* 194, 198
– *sativa* 655
– *sterilis* 194
avenir commercial 11
avermectine 24, 33, 38, 117

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

avertissement agricole 309, 310, 325, 329, 389, 698, 707
avocat 639, 822
avoine 96, 420, 753, 839
Azadirachta indica 10, 471, 472, 633, 643, 655, 867
azadirachtine 633, 643, 867
azinphos 40, 180
Azospirillum brasilense 106
azoxystrobine 50, 51, 267

B

Bacillaceae 550
Bacillus 550, 553, 578
– *lentimorbus* 553
– *popilliae* 551
– *sphaericus* 553
Bacillus thuringiensis (*Bt*) 8, 210, 218, 219, 376, 477, 482, 549, 550, 551, 557, 564, 600, 615, 643, 679, 728, 751, 761, 855, 875, 921
– *kurstaki* 875
– *var. israelensis* 552, 557
bactérie 402, 500, 549, 729
– entomopathogène 592, 854
– glaçogène 793
– phytopathogène 635
– tellurique 115
Bactrocera 484, 812
– *tryonii* 821
Baculoviridae 590, 883
baculovirus 551, 556, 589, 590, 591, 594, 603
banane/bananier 124, 125, 128, 462, 821, 871
banque
– d'ADNc 717
– de gènes 738
barrière
– chimique 629
– mécanique 446, 453, 628, 629, 659, 801
– physique 471, 806, 817, 825
base de données 309, 392
basidiomycète 45, 49, 58, 62
Beauveria 554
– *bassiana* 551, 558, 875
– *brongniartii* 556, 558
Belgique 194, 283, 608
Bemisia 646
– *tabaci* 3, 39, 367, 368, 609, 613
bénalaxyl 61
Bénin 512, 515, 517, 518
bénomyl 58, 270
bentazone 76, 79, 164
benzamide 60, 81, 88
benzimidazole 58, 60, 67, 68, 270
benzoate de sodium 102
benzodicarbonitrile 271
benzofurane 82
benzoquinone 629
benzothiadiazole 65
benzoylphénylurée 890
benzoylurée 24, 33, 39
béta-cyfluthrine 40
bétail 28, 29, 434, 637, 639
betterave 30, 89, 128, 130, 133, 752, 753, 778, 798, 839, 951, 952
bifénox 88
bio-accumulation 27, 173, 177, 230, 255, 263, 294, 299, 300, 652
bio-agresseur 5, 348, 353, 354, 356, 358, 545, 653, 752, 852, 937
bioalléthrine 30
bio-amplification 172, 173, 182, 183, 255, 290, 652
biocénose 5, 6, 171, 172, 173, 177, 370, 506, 525, 854
biocide 207, 975
bioconcentration 173, 177, 296, 298
biodégradabilité 5, 153, 652, 874
biodésinfection 577, 578
biodisponibilité 5, 8, 88, 109, 154, 294, 776
biodiversité 172, 184, 301, 348, 370, 427, 467, 476, 508, 534, 747, 762, 768, 778, 952, 953
bio-essai d'Ames 294
biofongicide 872, 875
bioherbicide 872
bio-indicateur 182, 287, 291, 292, 296, 297, 298, 299, 301, 942
bio-informatique 742

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

bio-insecticide 549, 554, 555, 557, 559, 560, 563, 566, 589, 597, 598, 599, 600, 625, 646, 798, 801, 872
biolistique 720
biologie des populations 518, 534, 546
bioluminescence 294
biomarqueur 292
biomoniteur 5, 291, 295, 296, 297, 302
bionématicide 872
biopesticide 9, 10, 11, 21, 24, 30, 350, 563, 565, 589, 615, 647, 728, 849, 851, 852, 854, 865, 872, 874, 875, 877
biopuce 739, 741
bioresméthrine 30
biosécurité 931
biosurveillance 298, 299
biotechnologie 109, 348, 349, 502, 533, 559, 713, 730, 748, 755, 842, 897, 902, 903, 914, 915, 919, 920, 924
biovigilance 12, 757, 938, 939, 947, 954
bipyridyle 79, 80, 88
bipyridylium 193
bistrifluron 39
Blatella germanica 215
blé 12, 65, 67, 86, 96, 98, 104, 110, 357, 358, 413, 416, 418, 419, 423, 424, 581, 613, 717, 734, 736, 739, 740, 753, 839, 937
Bolivie 514, 637
Bombyx mori 551, 602, 632, 633, 654, 663
bonne pratique 799, 835, 847
– agricole (BPA) 310, 360, 490, 963
– phytosanitaire 847, 848, 971
Boophilus microplus 646
boscalid 49, 50
Boscia senegalensis 471
Bostrychidae 822
Botrytis 49, 564
– *allii* 635
– *cinerea* 45, 53
– *pseudocinerea* 58
bouillie bordelaise 48
bourdons 225, 778
β-pinène 632, 636
Brachycaudus helichrysi 613
Braconidae 540, 826, 946
Brassica
– *campestris* 105, 440
– *rapae* 358
Brassicaceae 655, 656
brassinostéroïde 105, 113
Brésil 32, 514, 599, 603, 921, 923, 928
bromadiolone 388
brome 116, 488
Broméliacées 97
bromopropylate 40
bromoxynil 719
bromure de méthyle 33, 116, 117, 118, 121, 122, 125, 130, 131, 132, 133, 441, 572, 799, 812, 813, 819, 821, 824, 825
Bromus 416
– *tectorum* 420
bruche 632, 793
brûlage à la flamme nue 808
Bt 11, 537, 689, 728, 761
Buchnera 433, 436
Bulgarie 446, 608, 921
Bupalus piniarus 673
buprofézine 39
Burkina Faso 444, 451
Burundi 512, 520
butoxyde de pipéronyle 641, 643
Butraline 98

C

cacao/cacaoyer 8, 433, 452, 824
Cacoecimorpha pronubana 615
Cacopsylla pyri 477
cadusaphos 120, 131
Caenorhabditis elegans 219
café/caféier 8, 433, 452
Calceolaria andina 654
calcofluor 594, 601
Cales noaki 503
Callistemon 87
Callosobruchus
– *chinensis* 633
– *maculatus* 635
Cameroun 431, 450
campagnol 386, 398
camphéchlore 27

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Canada 12, 175, 180, 183, 184, 194, 199, 290, 295, 316, 501, 504, 608, 620, 682, 736, 749, 753, 793, 813, 819, 823, 898, 919, 921, 957, 958, 960
canaux ioniques 34, 212
cancer 172, 182, 246, 251, 252, 253
Candida albicans 56
Canellaceae 654
Cannabis sativa 436
canne à sucre 100, 443, 459
Cantharanthus roseus 635
Capparidaceae 656
capropamid 61
Capsicum annuum 440, 608
captane 48
capture de masse 481, 664, 671, 673, 674, 680
Carabidae 951
Caraïbes 125, 513
carbamate 4, 20, 21, 22, 26, 29, 31, 37, 95, 117, 124, 126, 127, 130, 175, 177, 181, 211, 212, 226, 270, 272, 275, 276, 300, 369, 634
carbaryl 22, 29, 30, 97
carbendazime 58, 59, 60, 180, 270
carbofuran 120, 124, 127, 131, 175, 184, 281, 489
carbofuranes 301
carboxamide 49
carboxine 49, 50
carboxylestérase (CoE) 214
carfentrazone-éthyl 88
Caricaceae 656
carotte 121, 132, 133, 267, 278, 447, 753
carpocapse 883
– des arbres fruitiers 599
– des pommes 311, 315, 330, 702, 703, 821, 883
– des prunes 330
carpropamid 64
carte 736
– génétique 735, 737
carvacrol 644
Carya ovata 629
Caryophyllacées 200
Cassia occidentalis 471
catéchine 629
cathepsine 592, 596
cécidomyie 489, 506, 615
Cedrela 654
– *odorata* 654
– *salvadorensis* 654
Celastraceae 632
cellule de maintenance agrométéorologique 309
Centaurea solsticialis 192
Cerambicidae 822
Ceratitis capitata 480, 504, 632, 645, 812, 821
cercosporiose de la betterave 53
céréale 8, 12, 52, 54, 56, 67, 73, 79, 101, 133, 266, 274, 315, 416, 417, 424, 454, 475, 476, 487, 490, 660, 734, 740, 798, 799, 800, 825, 836, 882, 926, 937
cerise 272, 822
chaîne
– alimentaire 754
– respiratoire 35, 46, 51, 53
– trophique 183, 220, 288, 350, 497, 652, 877
chaîne trophique 5
champignon 500, 549, 578, 729
– entomopathogène 378, 519, 855
– entomophthorale 554, 556, 557
– pathogène 122, 572, 718, 748, 854
– phytopathogène 4, 45, 49, 56, 58, 581, 617, 629, 635
chanvre 444
charbon 45, 49, 488
châtaigner 579
Chelonus eleaphilus 482
chêne 453
chenille à houpes du Douglas 682
Chenopodiaceae/Chénopodiacées 196, 639, 654
Chenopodium album 194
Chilochorus
– *bipustulatus* 503
– *nigritus* 616
chimio-stérilisant 403, 404
Chine 453, 507, 637, 672, 673, 674, 683, 731, 873, 921, 923

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

chinométhionate 38
chitine 24, 36, 39, 54, 592
chlométhos 40
chloprophame 272
chlopyriphos 40
chlordane 27, 174, 179, 255
chlordécone 248
chlore 116
chlorfenvinphos 175
chlorfluazuron 39
chloriphos-éthyl 556
chlorméquat 96
chloroacétamide 82, 193, 275
chloroacétanilide 61
chlorobromopropène 117
chloronicotinyl 227, 232, 236
chlorophacinone 388
chloropicrine 117, 118
chlorothalonil 48, 50, 271, 276
chlorotriazine 281
chlorphenapyr 25
chlorprophame 59, 98
chlorpyrifos/chlorpyriphos méthyl 28, 29, 40, 180, 819
chlorsulfuron 85, 266, 448
chlorthal 455
chlorthiamide 74
chlortoluron 192
choc mécanique/thermique 806, 807, 811, 814, 886
Choristoneura
– *fumiferana* 27, 680, 682
– *occidentalis* 682
chou/chou-fleur 66, 89, 460, 463, 717, 721
christophine 103
chromafénozide 39
chromatographie 273
– d'adsorption 279
– échangeuse d'ions 279
– en phase gazeuse 274, 666, 686, 775
– liquide à haute performance (CLHP/HPLC) 277, 776
– multidimentionnelle 279
chromosome bactérien artificiel (BAC) 736
Chrysanthemum/chrysanthème 49, 96, 641
– *cinaerarefolium* 30
Chrysodeixis chalcites 615
Chrysolina 636
chrysomèle 331, 557
Chrysomphalus aonidium 616
Chrysoperla 616
– *carnea* 614, 615, 762
Chrysopidae/chrysope 827, 945, 951
cicadelle 616, 946
Cichorium intybus 632
Cinclus cinclus 220
cinérine 642
Cinnamomum verum 632
cinnamoylglucosinolate 635
cintofen 98
Cirphis 944
Citrostichus phyllocnistoïdes 480
Citrus 478, 501, 644
CL_{50} 601, 642
clémentinier 97, 480
Cleonus punctiventris 551
Clethrionomys glareolus 386
climat 101, 325, 354, 370, 371, 475, 489, 499, 516, 679, 950
clodinafop-propargyl 423
clofencet 98
clopyralid 89
clothianidine 25, 31
cobalt 102, 108
coccinella/coccinelle 503, 504, 520, 526, 540, 612, 616, 945
Coccinellidae/Coccinellidés 504, 515, 519, 636, 827, 951
coccinelline 636
Coccophagus
– *lycimnia* 616
– *scutellaris* 616
Coccus hesperidum 616
cochenille 501, 504, 505, 511, 516, 519, 525, 528
Cochliomya hominivorax 500
cochylis de la vigne 330
cocotier 556
Codex *Alimentarius* 179, 263, 282, 929

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

co-évolution 4, 354, 535, 537, 538, 652, 653, 852
Coleoptera/Coléoptères 3, 4, 39, 295, 471, 485, 553, 556, 559, 629, 635, 636, 728, 761, 790, 793, 794, 817
collembole 295
Colletrichum lagenarium 660
Colombie 249, 921
colza 89, 101, 311, 315, 358, 412, 416, 419, 444, 646, 717, 752, 753, 761, 764, 774, 778, 839, 912, 951, 952
– transgénique 237, 563, 752, 764, 774, 776
commercialisation 225, 237, 658, 892, 919, 920, 946
communauté 290, 296, 353, 354, 356, 461, 586, 748, 752, 754
– microbienne 9, 571, 574, 575
Comperiella bifasciata 479
compétiteur/compétition 386, 852
comportement 499, 521, 604, 680, 703, 704, 765, 773, 774, 865, 969
composé allélochimique/sémiochimique/secondaire des plantes 9, 626, 627, 628, 629, 865
Composées 192, 195, 196, 636
concombre 607, 610, 614, 618, 633, 660, 724, 813, 822, 871
confusion sexuelle 664, 676, 679, 680, 681, 684, 698, 704, 865
Congo 512, 517, 518, 520, 523, 524, 526
conifères 596
Coniothyrium minitans 579, 580, 584, 585, 875
Conium ciguë 634
conseil phytosanitaire 309, 310
contamination 5, 158, 171, 172, 174, 287, 290, 311, 314, 315, 326, 756
contrôle (procédure de) de qualité 589, 598, 599
Conyza bonariensis 198
coquelicot 197
Corée 608
Coriandrum sativum 644
corridor biologique 356
Costelytra zealandica 553
Cotesia plutellae 563
coton/cotonnier 8, 29, 39, 128, 133, 219, 367, 368, 444, 459, 460, 461, 462, 463, 467, 561, 591, 632, 655, 698, 728, 761, 764, 836, 897, 898, 903, 920, 926
– *Bt* 376, 560, 562, 921
– transgénique 199, 753
Cotoneaster salicifolius 660
coumarine 628
courgette 97
coût 7, 27, 31, 69, 204, 211, 288, 404, 412, 427, 440, 459, 462, 489, 558, 562, 563, 585, 590, 599, 612, 656, 667, 669, 684, 686, 700, 703, 705, 755, 799, 845, 896, 907, 912, 934
– adaptatif 219, 222
Crotalaria 133, 655
– *juncea* 440
cruciféracées/crucifères 197, 574, 578, 655, 656
Cryphonectria parasitica 579
Cryptolaemus montrouzieri 616
Cryptolestes ferrugineus 793
Cuba 538
cucurbitacine 633
cuivre 107, 299, 641
Culex
– *nigripalpus* 594
– *pipiens* 216, 635
cultivar 68, 516
– résistant 126, 133, 454, 564
cultures 171, 361, 460
– associées 444
– de poivron 608
– de rente 8, 462
– florales 96, 111, 813
– fourragères 475
– fruitières 128, 480, 646, 872
– horticoles 824
– *in vitro* 724
– industrielles 12, 128
– intercalaires 361, 374, 461
– légumières 31, 95, 461, 537, 564, 608, 610, 611, 639, 641, 642, 872, 882

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

- maraîchères 132, 371, 462, 463, 557, 560, 564, 571
- non commerciales 610, 612
- ornementales 32, 60, 95, 549, 564, 611, 613
- pérennes 556
- pièges 361, 374, 375, 440
- sous serre 350, 378, 533
- transgéniques 560, 748, 749, 753, 756, 757, 895, 897, 898, 915

Curcumis melo 607, 618
Cuscuta/Cuscutaceae/cuscute 431, 433, 454, 950
cyanoimidazole 51
cyazofamide 50, 51
cyclodiène 26, 27, 33, 38, 211, 212, 215
cyclohexane-diones (ou dimes) 81, 82
Cydia
- *funebrana* 330
- *molesta* 330
- *pomonella* 330, 640, 702, 817, 821, 883
- *trasias* 672, 674, 683

cyfluthrine 25, 30, 40
Cymbopogon nardus 645
cyperméthrine 25, 30, 40
Cyprinus carpio 300
cyproconazole 271
cyprodinil 62, 335
cytokinine 99, 106

D

Dacnusa sibirica 613
Dacus
- *cucurbitae* 500
- *dorsalis* 501
- *oleae* 330

dahlia 724
Danaus plexippus 177, 752, 762
Danemark 200, 248, 249, 608, 921
Daphnia 289, 296
datte 822, 824
dazomet 119, 122, 131, 441
DDD (dichlorodiphényldichloroéthane) 27
DDE (dichlorodiphényléthane) 182, 219, 249
DDT 8, 12, 19, 26, 27, 28, 33, 38, 157, 174, 176, 177, 179, 180, 182, 183, 210, 211, 215, 218, 249, 251, 252, 350, 502
défense 348, 737
- induite 63
- mécanisme de 582

dégradation 49, 126, 139, 143, 149, 150, 151, 154, 155, 158, 288
Deguelia 641
dégueline 641
déhydrine 729
délai nécessaire à concevoir (DNC) 248
Delia radicum 175
delta-endotoxine 615, 761
deltaméthrine 31, 40, 235, 480, 774
deméton 28, 29
demi-vie 156, 298, 652, 755, 874
δ-endotoxine 550, 559
denrée stockée 3, 806
Dermanyssus gallinae 813
Derris elliptica 637, 640
DES (dose sans effet) 963
désherbage
- manuel 471
- mécanique 422

désinfection des sols 574, 799, 812
désinsectisation des usines 799
désorption 140, 141, 161
désoxynivalénol 734
détoxication 190, 191, 195, 197, 200, 217, 220, 229, 245
deutéromycètes 45, 49, 554
développement 6, 881, 892
- durable 5, 6, 13, 19, 347, 351, 352, 353, 356, 358, 361, 370, 374, 460, 476, 491, 508, 565, 619, 877, 915, 957, 958, 964

Diabrotica 331
diacétylphloroglucinol 581
diacylhydrazine 24, 39
Diaporthe helianthi 331
Diaretiella rapae 506
Diaspididae 478
Diaspis boisduvalii 616

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

diazinon 29, 174, 175
dibromochloropropane 117, 118, 122, 247
dibromure d'éthylène 118, 131, 248, 821
dicarboximide 62, 271
dichlobenil 81, 455
dichlofluanide 271
dichlorophénoxyacétique (2,4 D) 94
dichloropropane 117, 118, 125
dichloropropène 117, 118, 125, 126
dichlorvos 28, 267, 819
diclocymet 61
dicloran 62
diclorprop (2,4 DP) 97
dicotylédone 73, 80, 86, 89, 431
dieldrine 27, 28, 38, 157, 177, 180, 182, 251, 255, 276, 298
diéthofencarbe 59, 60
difénoconazole 267
diffuseur 667, 681, 685, 704
– de phéromone 681, 686, 688, 692
diffusion 5, 74, 141, 158, 161
– des populations 398
diflubenzuron 24, 39, 226, 890
diflufénican 86
Digitaria sanguinalis 86
Diglyphus isaea 613
di-iso-propanolamine 104
dikégulac-sodium
– furanoside 97
– propylidène 96
dillapiol 653, 654, 655
diméthoate 28, 29, 180, 232, 233
dimoxystrobine 50, 51
dinitroaniline 88, 193, 196, 198, 275
dinitrophénol 21, 32, 53
dinocap 53
dinosèbe 53, 80, 454
dinoterbe 53
diofénolan 39
Diomus 520
Dioryctria 684
– *amatella* 682
– *disclusa* 682
– *merkeli* 682
dioxyde de carbone 796, 815
diphényléther 88
Diprionidae 683
Diptera/Diptères 480, 484, 553, 617, 728, 778, 791, 793
diquat 79, 454
directive
– 2001/18/CEE 748, 939
– 2001/36/CEE 853, 959
– 86/363/CEE 179
– 90/220/CEE 939
– 91/414/CEE 12, 30, 228, 585, 844, 853, 881, 959, 964, 968, 974
– 96/12/CEE 228
– 98/8/CEE 959
disparlure 684
disponibilité des résidus 164
disulfoton 28
diterpène 628
dithianon 48
dithiocarbamate 22, 48, 122, 267
Ditylenchus dipsaci 115
diuron 195, 272, 299, 972
Diversinervus elegans 505
diversité biologique 6, 352, 353, 354, 355, 356, 360, 374, 513, 534
DL_{50} 131, 229, 233, 244, 601, 637, 639, 640, 642
DNOC (dinitro-ortho-crésol) 22, 32, 38, 40, 73
doguadine 48
Dolicos lablab 440
doryphore 3, 557, 641, 798, 812
dose
– journalière
– admissible/acceptable (DJA) 131, 179, 263, 961
– admissible temporaire (DJAT) 962
– tolérable provisoire (DJTP) 961
– létale 172
– prévisible d'exposition 231
– sans effet 179
Drosophila melanogaster 216, 791
Duboisia hopwoodi 639
dynamique de population 184, 516, 519, 524, 533, 546, 552, 554, 669, 690, 700

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

E

eau 6, 146, 150, 172, 178, 180, 183, 246, 289, 290, 295, 296, 302, 310, 354, 375, 411, 412, 434, 475, 643, 667, 679, 845, 848, 937
éburicol 56
ecdysone 601
ecdystéroïde 633, 634, 643, 654, 789
échalote 98
échantillonnage 289, 291, 406
échelle thermobiologique 788
Echinothrips americanus 614
éclaircissage chimique 111
Eclipta alba 635
écobuage 823
économie 757, 848, 896, 923
écosystème 5, 41, 172, 173, 184, 222, 225, 290, 352, 354, 390, 408, 461, 545, 556, 755, 845, 852
écotoxicité/écotoxicologie 184, 291, 299, 348, 846, 851, 964
ecto-parasitoïde 613
effet
– à long terme 288, 939
– carcinogène 182
– chronique 246, 250, 755
– découplant 85
– génotoxique 299
– insecticides 460, 467
– lisière 356, 357
– non intentionnel 4, 5, 6, 41, 228, 237, 244, 508, 525, 534, 535, 537, 542, 546, 625, 646, 747, 757, 852, 876, 953
– œstrogène 301
– pléiotropique 762, 775, 776
– répulsif 646
– sanitaire 246
– tératogène 172, 180
– toxique 256
Égypte 446, 500, 603
Eisenia andrei 289
électrophorèse
– capillaire (EC) 280
– en gradient dénaturant 577
électroporation 719
élément génétique mobile 213
éleusine 613
Eleusine indica 192, 198, 199, 200
élevage 503, 506, 521
élicitation/éliciteur 52, 66, 105, 632, 651, 659, 660, 726, 851, 865, 871, 872
élicitine 659
émamectine 33
emballage plastique vide 848
encapsulation 525
Encarsia 564
– *formosa* 505, 506, 612
Encyrtidae 479, 515, 520
endoparasitoïde 520, 613, 769
endosulfan 27, 38, 40, 175, 176, 182, 255, 558
endothion 28
enhancine 592, 601
Enterobacteriaceae 550
Entomophaga
– *grylli* 554
– *maimaiga* 554
entomotoxine 764, 769
environnement 4, 6, 7, 13, 20, 32, 41, 69, 94, 95, 130, 134, 171, 172, 182, 184, 211, 228, 243, 245, 246, 256, 288, 296, 302, 310, 353, 356, 370, 374, 386, 402, 417, 460, 478, 502, 508, 525, 533, 536, 542, 546, 573, 582, 589, 600, 602, 607, 646, 670, 698, 701, 748, 761, 787, 795, 799, 845, 848, 852, 853, 854, 896, 897, 922, 928, 929, 930, 932, 939, 940, 953, 969, 973
enzyme
– de défense 659
– de détoxication 218
Ephestia kuehniella 506, 612
Ephydidae 617
EPI 320
épice 824
EPICURE 317
Epidinocarsis lopezi 515, 520
Epilobium tetragonum 201
épiphytie 348
EPIPRE 313, 317, 321
EPISEPT 315, 329

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

épizootie
– induite 554
– naturelle 556, 599
– provoquée 599
époxyconazole 54, 55, 57
Équateur 603, 642
équivalence substantielle 932
Eretmocerus 564
– *eremicus* 613
– *mundus* 613
Erigeron canadensis 199, 201
Erodium 82
Erwinia amylovora 330, 660, 871
Erynia neoaphidis 554
esfenvalérate 25, 41
Espagne 179, 249, 608, 703, 839, 847, 921, 951
espèce
– exotique 290
– fruitière à noyau 475
– généraliste 499
– pollutolérante 291
– rare 952
– sentinelle 291
– spécialiste 499
EST (*expressed sequence tags*) 738
États-Unis 10, 26, 27, 32, 39, 133, 180, 183, 194, 199, 247, 249, 250, 281, 287, 290, 300, 316, 349, 352, 358, 448, 450, 451, 452, 501, 514, 540, 551, 557, 559, 565, 566, 575, 608, 640, 641, 642, 645, 646, 672, 683, 689, 707, 728, 739, 749, 754, 813, 821, 867, 871, 872, 895, 898, 912, 919, 921, 928, 931
éthéphon 97, 102, 103, 109, 111, 441
Éthiopie 431, 451
éthoprophos 120, 123, 130, 131, 133
éthylène 63, 102, 112, 441, 738
étiquetage 922, 934
étiquette de séquences exprimées 738
étude épidémiologique 247, 252
Eucalyptus 645
– *citriodora* 657
– *globulus* 644
– *saligna* 645
Eucosoma sonomana 682, 685, 688
eudémis de la vigne 315, 330, 706
Eugenia caryophyllata 632
eugénol 632
Eulophidae 826
eumycète 45, 54
Euphorbiaceae 655, 656
Euphrasia 433
Euphyllura olivina 483
Eupoecilia ambiguella 330
Europe 12, 26, 30, 32, 131, 174, 183, 198, 225, 248, 252, 281, 290, 295, 296, 298, 349, 388, 411, 416, 444, 446, 564, 603, 608, 639, 640, 642, 707, 728, 731, 750, 756, 757, 768, 816, 822, 836, 839, 873, 875, 876, 924, 926, 928, 944, 967
évaluation des risques 226, 228, 231, 233, 287, 311, 312, 361, 381, 969, 973
Everes comyntas 540
Exochomus 519
– *flaviventris* 527
exposition 225, 244, 246, 253, 254, 256, 299, 300
– chronique 234, 249, 250, 288
– domestique 247, 251
– maternelle 249
– professionnelle 250, 253
extraction 270
– accélérée par solvant (ASE) 268
– assistée par micro-ondes (MAE) 269
– en phase solide (SPE) 272
– liquide-liquide 272
– solide/liquide classique 268
extrait de plantes/végétal 877, 882, 964

F

Fabaceae/Fabacées 637, 640, 655, 656
facteur
– abiotique 370, 461, 665
– biotique 478, 574, 665
– climatique 482, 516, 572, 607
– de régulation 394, 402
– de résistance 220
– de risque 248
– environnemental 517

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Falco peregrinus 183
famoxadone 50, 52
faune 172, 354, 459, 526, 612, 929, 969
– auxiliaire 355, 375, 376, 471, 609, 618, 675, 691
– sauvage 389
faux-hôtes 438, 444
Feltiella acarisuga 615
femme enceinte 247
fénamidone 50, 52
fénarimol 54, 55, 57
fenazaquin 38
fenhexamid 55, 57, 58
fenitrothion 28
fénoxanil (fenoxanil) 61
fénoxaprop 197, 198
– -P-éthyl 423
fénoxycarbe 24, 25, 39, 226, 478
fenpiclonil 62
fenpropidine 55, 56, 57
fenpropimorphe 55, 56, 57
fenthion 28, 40, 480
fenvalérate 36
fer 102, 107, 108, 580
ferbame 272
fermentation/fermenteur 584, 598, 871
fertilisation 571
fertilité 247
– féminine 248
– masculine 248, 256
Festuca rubra/fétuque rouge 82, 97
feu bactérien 330
fève 446
figuier 480
Finlande 608
fipronil 24, 25, 38, 226, 232, 233
flavone 629
flavonoïde 628, 629
flore 297, 929, 948, 969
– microbienne des sols 295
fluazinam 50, 53
fludioxonil 62
flufenerim 32
flufénoxuron 39
fluide à l'état supercritique (SFE) 270
fluorosilicate de sodium 22
fluorure de sodium 22
fluoxastrobine 50, 51
flupyrsulfuron 197, 198
flurochloridone 86
flurpirimidol 56, 96
flurtamone 86
flusilazole 54, 57
flutolanil 49, 50
fluvalinate 36
flux
– de gènes 748, 761, 912, 943
– de transgène 753
– préférentiel 158, 160
folle avoine 415
folpel 48, 50, 299
fongicide 4, 5, 7, 40, 45, 46, 53, 54, 58, 61, 69, 93, 96, 231, 232, 245, 250, 270, 271, 272, 275, 276, 294, 489, 499, 578, 618, 635, 646, 655, 656, 836, 839, 841
fongistase 576
fonofos 175, 176
Fontinalis antipyretica 296
fops 82
foresterie 287, 298, 669
forêt 51, 171, 301, 354, 394, 467, 500, 502, 549, 556, 679, 686
formamidine 21
formulation 4, 26, 40, 558, 565, 583, 589, 643, 651, 656, 657, 706, 854, 874, 875, 878
fosétyl-Al 65
fosthiazate 120, 131
fougère 89
fourmi 500, 519, 817
foyer de contamination 812
fraise/fraisier 272, 563, 753, 799, 822, 826, 871
framboise 822
France 32, 117, 121, 131, 132, 194, 199, 235, 238, 250, 287, 310, 388, 396, 504, 543, 557, 575, 607, 608, 609, 613, 614, 620, 639, 707, 728, 756, 793, 819, 822, 826, 835, 839, 873, 919, 938, 963, 967
Frankliniella 639
– *occidentalis* 330, 609, 614
Franklinothrips vespiformis 615

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Frigonella fœnum 440
fruit 39, 173, 180, 274, 660, 799
fumigant/fumigation 20, 21, 28, 30, 33, 116, 117, 122, 123, 125, 126, 130, 438, 572, 619, 639, 824
fumure 443
fusariose 45, 316, 331, 488, 574, 575, 576, 582, 658, 734, 738, 740
Fusarium 123, 331, 617
– *culmorum* 734
– *graminearum* 629, 658, 734, 739
– *oxysporum* 66, 451, 455, 572, 575, 580, 582, 617, 631, 635

G

Gabon 520
Gaeumannomyces graminis 53, 575, 579, 581
gaillet 417
Galium aparine 86, 416
Gambie 512
Gambusia affinis 219
Gammarus 300
Gaucho® 226, 231, 234, 238
gazon 52, 96, 110, 559
gelée royale 225
gène
– artificiel fonctionnel 715
– candidat 737, 743
– d'estérase 217
– de défense 738, 871
– de résistance 222, 560, 714, 716, 719, 726, 729, 737, 743, 749, 750, 753, 762, 895
– de tolérance 897
– fonctionnel 715
– marqueur 750
– PR 742
– régulant 555
– synthétique 747
génétique 10, 490, 554
– des populations 397
– moléculaire 737
génie
– biologique 713
– cellulaire 713
– enzymatique 713
– génétique 499, 552, 713, 726, 730, 747, 828, 852, 897, 915, 922, 924, 926
génomique 10, 709, 733, 737, 742, 743
– fonctionnelle 105, 734, 737, 738
– structurale 734, 735
génotypes
– complets 598
– défectifs 598
– locaux 598
– résistants 134, 189, 199
– viraux 598
Geometridae 682
Geraniaceae 82
germination suicide 438, 445
gestion
– de la fumure 360
– de la résistance acquise 68
– de populations 352, 356, 377, 395
– des habitats 353, 356
– des risques 227, 419, 845, 938, 939, 950, 954, 960
– des sols 462
– intégrée 351, 352, 360, 459, 470, 692
– raisonnée 355, 372
Ghana 450
Gibberella fujikuroï 100
gibbérelline (GA3, GA7) 56, 82, 96, 97, 98, 100, 104, 106, 110, 111, 112
Globimetula 435
glucosinolate 635, 655, 656, 867, 937
glufosinate 85, 189, 774, 778, 951, 952
glutathion-S-transférase (GST) 191, 214
glycine 193
Glycine max 440
glyphosate 82, 146, 189, 196, 198, 199, 200, 249, 267, 279, 296, 298, 447, 448, 452, 453, 455, 719, 753, 778, 897, 898, 910, 913, 951, 952
Gossypium
– *hirsutum* 367, 655
– *spp.* 440, 632
gossypol 632
Gracillariidae 479
gradation 519

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

graminées 80, 81, 189, 193, 194, 399, 613, 655, 721, 722
Grande-Bretagne (voir Royaume-Uni)
grandes cultures 702, 947, 948
Grèce 608, 707
groseillier 100
guanidine 48
Guyanes 513

H

habitat 348, 356, 357, 376, 390, 395, 408, 526, 664, 676, 680, 685, 686, 691, 692, 752, 755, 793, 811, 952
haies 355, 357, 390, 404, 407, 478, 505, 826
halofénozide 33, 39
haricot 39, 104, 463, 793, 822
Harmonia axyridis 504, 538, 614
harpine 871
Hauptidia maroccana 616
Hawaï 559
HCB (hexachlorobenzène) 174
Hedera helix 660
hélénine 632
Helianthus annuus 440, 633
Helicoverpa
– *armigera* 367, 728
– *zea* 39, 561
Heliocheilus albipunctella 465
Heliothis 947
– *armigera* 615
– *virescens* 219, 367, 560, 591
– *zea* 551, 594
helminthosporiose 488
Helminthosporium 58
hémiparasite chlorophyllienne 433
Hémiptères 4, 367
heptachlore 27, 179
herbicide 4, 5, 7, 53, 54, 59, 60, 61, 73, 74, 75, 80, 84, 93, 99, 115, 126, 140, 152, 163, 177, 189, 191, 193, 198, 201, 237, 245, 249, 253, 270, 272, 275, 279, 283, 294, 295, 296, 297, 300, 302, 411, 413, 417, 421, 447, 448, 453, 454, 488, 489, 749, 755, 776, 836, 896, 897, 907, 910, 913, 950, 951
Heterodera schachtii 127
Heterorabditis 555, 559
– *bacteriophora* 559, 617
– *megidis* 617
hévéa 433
hexachlorobenzène 62
hexachlorocyclohexane 26
hexaflumuron 39
hexazinone 298
Hippodamia convergens 614
homologation 12, 182, 227, 284, 287, 289, 403, 564, 620, 646, 657, 705, 755, 819, 828, 843, 845, 851, 867, 871, 876, 881, 882, 886, 964, 970, 972, 975
homologue de gènes de résistance 737
Homoptera/Homoptères 39, 477, 478, 483, 554
Honduras 921
Hongrie 608
Hoplochelus marginalis 556
hordatine 103
hormone
– anti-œstrogènique 248
– juvénile 24, 36, 38, 39, 226, 601, 666, 789
– végétale 109
hortensia 96, 97
horticulture 99, 249, 637, 645
houblon 563
huiles
– essentielles 632, 644, 645, 646, 867
– minérales 477, 478, 479
– végétales 40, 644, 645, 646, 810
hydraméthylnone 38
hydrazide maléique (pyridazine) 98
Hydrophyllaceae 655
hydroprène 39
hydroxyde d'oxychlorure tétracuivrique 48
Hyloconium splendens 293
Hymenoptera/Hyménoptères 225, 479, 485, 505, 507, 515, 526, 540, 612, 613, 636, 670, 684, 691, 778, 945
Hyperaspis 519, 520

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

hypercarbie 796
hypericine 636
hyperparasitisme/hyperparasitoïde 518, 525
hypersensibilité 631, 726, 738, 871
hyphomycètes 554, 558
Hypnum cupressiforme 293, 298
Hypoaspis
– *aculeifer* 615, 617
– *miles* 615, 617
Hypogymnia physoide 293
Hyponomeutidae 481

I

IBS (inhibiteurs de la biosynthèse des stérols) 54
Icerya purchasi 501, 512, 528
Ichneumonidae 946
IDM/DMI (Inhibiteur de déméthylation) /(demethylation inhibitor) 54
îles
– de la Réunion 541, 556
– du Pacifique 556
– éoliennes 504
imazapyre 448
imazaquin 452
imazaquine 448
imazéthapyre 269, 448, 452
imidachlopride 24, 25, 31, 37, 226, 227, 229, 231, 232, 233, 237, 267, 480, 774
imidazole 54, 236
imidazolinone 52, 84, 197, 269
impact économique 7, 433, 442, 735
Inde 174, 211, 450, 451, 452, 643, 672, 682, 731, 873, 921, 923
indice
– biotique 291, 295
– d'état potentiel infection 319
– de diversité 292
– de risque 314, 332, 335
– NOAEL 179
Indonésie 451, 603, 921
indoxacarbe 32
indoylglucosinolate 635
inducteur/induction de résistance 66
industrie phytosanitaire 844
ingestion 27, 29, 32
inhalation 27
inhibiteur/inhibition 33, 39, 53, 54, 60, 61, 62, 76, 82, 84, 85, 86, 88, 193, 196, 198, 199, 200, 226, 643, 765
insecte 1, 3, 28, 116, 126, 127, 220, 697, 729
– auxiliaire 5, 564
– des denrées 796, 815
– du sol 122, 559
– entomophage 8, 503, 508, 511, 514, 515, 517, 518, 520, 524
– forestier 27
– phytophage 4, 8, 9, 10, 41, 354, 368, 369, 371, 511, 536, 549, 553, 718
– pollinisateur 225, 762, 877
insecticide 3, 7, 22, 28, 40, 124, 175, 207, 225, 226, 231, 238, 279, 294, 371, 379, 477, 499, 534, 550, 556, 561, 600, 613, 618, 625, 629, 633, 641, 642, 645, 656, 699, 701, 705, 762, 774, 779, 827, 836
– de contact 27, 28, 29, 30, 639, 642, 645
– inorganique 20, 21, 22
– organique de synthèse 5, 19, 20, 22, 24, 31, 32, 34, 502
– organochloré 26, 282
– régulateur de croissance des insectes 891
– systémique 28, 32, 375, 482
– translaminaire 32
– végétal 4, 635, 637
interaction plantes-micro-organismes 106
intoxication aiguë 250, 256
intrant 107, 310, 354, 417, 460, 462, 490, 502, 657, 725, 747, 828, 851, 852, 881, 888, 937, 970, 971
introduction-acclimatation 549
Inula helenium 632
ionisation 800, 806, 814, 822
IPM (*integrated pest management*) 350, 557
iprodione 62, 272
Iran 503, 504
Irlande 200, 608, 873

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

irradiation 795, 814, 822
isazophos 120, 131
isobornylthiocyanate 22
isocarbophos 280
isoflavonoïdes 628, 629
isoprénoïdes 631
isoproturon 272, 424
isotherme
– d'adsorption 141, 142
– de désorption 143
isothiocyanate 635
isoxaben 81
isoxaflutole 74, 86, 87
Italie 248, 293, 503, 608, 672, 683, 707, 839, 873
itinéraire technique 359, 377, 381, 418, 800
ivermectine 24, 212

J

jachère 97, 357, 445, 487
Jamaïque 640
Japon 30, 31, 32, 53, 54, 61, 66, 105, 271, 296, 608, 675, 821, 873, 924, 928
jasmoline 642
Jassidae 371
jaunisse nanifiante des céréales 938
juglone 629

K

kairomone 498, 626, 627, 691
karetazan potassium 98
karité 433
Kenya 451, 642
kinoprène 39
kiwi 660
Kochia scoparia 196, 197
krésoxim-méthyl 50, 51, 52

L

Lablab purpureum 440
labour 423, 443, 444
lâcher inondatif 537, 618, 795, 815
lactone sesquiterpénique 632
Lactuca serriola 196, 201
lactupicrine 632
laitue 753
Lambda (λ) cyhalothrine 40
Lambdina fiscellari 687
Lamiaceae/Lamiacées 632, 644, 654, 655, 656
laminarine 66, 871
Lampetia equestris 813
larvicide 632
Laspeyresia pomonella 476
Lathyrus ochrus 440
Lauraceae/Lauracées 644, 654
Lecanicillium 554, 564
– *verticillium* 558
lectine du perce-neige (GNA) 729, 765, 771
législation 115, 133, 204, 445, 490, 550, 609, 934, 958
légume 39, 173, 180, 274, 660, 799
légumineuse 128, 393, 399, 416, 421, 475, 487, 489, 490, 655, 824, 825
Lemna 289, 296
lentille 447
Lepidoptera/Lépidoptères 4, 32, 39, 219, 367, 476, 479, 481, 498, 507, 553, 554, 564, 594, 596, 599, 603, 610, 615, 636, 640, 663, 684, 685, 687, 693, 701, 703, 705, 707, 728, 753, 761, 778, 883, 946, 947
Leptinotarsa decemlineata 3, 557, 635, 818, 822
Leptomastix dactylopii 616
leptospermone 87
Leptosphaeria maculans 937
lessivage 140, 149, 158, 171, 176
lignine 628, 738
Liliaceae/Liliacées 639, 655
limite maximale
– pour les résidus d'origine étrangère (LMRE) 962
– pour les résidus de pesticides (LMR) 263, 266, 283, 960, 962, 963
limonoïde 633, 654
lin 96, 97, 110
linalol/linalool 644, 774
lindane 27, 40, 157, 174, 175, 211, 301, 502

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Linum usitatissimum 440
linuron 195
Liriomyza trifolii 558, 613
liste européenne des substances actives 226, 844
lit fluidisé à l'air chaud 813
lixiviation 158, 176
Lobesia botrana 330
logiciel
– LISEDAME 328
– MELCHIOR 328
– PRESEPT 329
logigramme de décision 800
Lolium 194, 198
– *rigidum* 195
Lonchocarpus 641
– *nicou* 637, 640
Loranthaceae/Loranthacées 431, 433, 435, 452, 453
Loranthaceae/loranthacées 433
Lucilia cuprina 218
lucilie bouchère 500
lufénuron 25, 33, 39, 218
lutéoline 7-glucoside 629
lutte
– autocide 378, 499, 511, 795, 816
– biologique 7, 8, 9, 12, 69, 105, 173, 222, 361, 376, 378, 403, 404, 450, 460, 471, 497, 498, 499, 502, 507, 508, 511, 512, 517, 520, 523, 525, 527, 533, 534, 537, 539, 542, 546, 554, 555, 560, 566, 572, 578, 585, 589, 598, 603, 607, 617, 734, 754, 755, 768, 798, 816, 826, 855, 971
– chimique 12, 46, 68, 69, 220, 222, 347, 348, 349, 350, 351, 369, 370, 386, 403, 447, 453, 476, 480, 484, 486, 488, 506, 533, 546, 609, 664, 799, 800, 806, 852
– génétique 69, 453
– intégrée 3, 10, 32, 283, 348, 349, 350, 361, 451, 460, 461, 463, 466, 470, 472, 479, 537, 545, 586, 651, 799, 802, 805, 888, 896
– mécanique 453, 811, 817
– microbiologique 500, 549, 550, 555, 874
– par confusion sexuelle 664, 680
– physique 787, 798, 801, 802, 805, 806, 807, 812, 815, 816, 819, 822, 823, 828
– raisonnée 310, 350, 412, 896
luzerne 29, 358, 393, 454, 633, 753
Lycaenidae 540
Lycopersicum esculentum 607
Lyctidae 822
Lygus lineolaris 822
Lymantria
– *dispar* 554, 602, 672, 673, 682, 684
– *monarcha* 551, 596, 682, 685
– *obfuscata* 672, 682
Lymantriidae 672, 682
Lysiphlebus testaceipes 538
Lythrum salicaria 296

M

Maackia amurensi 675
Macrolophus 564
– *caliginosus* 612
Macrosiphonella sanborni 613
Macrosiphum
– *euphorbiae* 607, 613, 768, 769, 770, 771
– *rosae* 613
Madagascar 556, 635
Maghreb 481, 490
maïs 12, 29, 49, 79, 97, 103, 106, 110, 133, 163, 194, 416, 420, 423, 436, 446, 448, 462, 467, 470, 561, 611, 629, 640, 658, 706, 707, 717, 728, 734, 736, 739, 740, 743, 751, 752, 761, 764, 778, 798, 836, 839, 897, 898, 903, 912, 920, 937, 938, 951, 952
– *Bt*/génétiquement modifié/transgénique 560, 752, 762, 773, 923, 943, 946
maladie
– d'origine tellurique 9, 115, 571, 572
– de Parkinson 250, 641
malathion 28, 249, 267, 276, 480
Malawi 512, 520
malformations congénitales 249

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Mali 431, 444, 451
Malus 672, 682
Malvaceae/Malvacées 195, 655
Mamestra
– *brassicae* 596, 708
– *oleracea* 615
mancozèbe 48
Manduca sexta 728
manèbe 50, 251, 272
manganèse 109
mangue 462, 821, 822
Manihot/manioc 512, 513, 516, 520, 526
maraîchage 475
marché 39, 130, 133, 377, 422, 459, 462, 559, 565, 585, 586, 643, 657, 705, 755, 756, 798, 799, 828, 835, 844, 849, 867, 873, 882, 892, 927, 931, 933, 934
– des biopesticides 557
– mondial 4, 47, 836, 873
marche chromosomique 736
margousier 643, 655, 867
Maroc 447, 475, 477, 503, 504
marqueur moléculaire 554, 744
matière
– active 47, 116, 127, 133, 140, 310, 377, 411, 964
– organique 150
Matricaria 416
Mauritanie 503
médiateur chimique 2, 9, 420, 626
Medicago sativa 358, 633, 656
méfénoxam 61
méfluidide 96
Melampyrum 433
Melia azadirach 655
Meliaceae/Méliacées 655, 656
Melinis minutiflora 646
Meloidogyne
– *incognita* 635
– *javanica* 633
Melolontha melolontha 558, 633
melon 463, 618, 717
menthol 644
menthone 644
mépanipyrim 62
mépiquat chlorure 96
mépronil 49
mercure 178
mésotrione 86, 87
message dit d'Ovronnaz 350
métalaxyl 61
métam-sodium 119, 122, 123, 131, 441
Metaphycus
– *barletti* 616
– *helvolus* 505, 616
Metarhizium 554
– *anisopliae* 551, 555
– *flavoviride* 555
Metaseiulus occidentalis 219
métaux lourds 94, 105, 109, 176
methamidophos 558
méthamidophos 28, 40
méthanesulfonate d'éthyle 743
méthomyl 30
méthoprène 38, 226
méthoxyfénozide 39
méthyl
– -2,6-dichloroisonicotinate (DCINA) 871
– β-méthoxyacrylabe 51
– carbamate 266
– chlorophénoxyacétique (MCPA) 94
– isothiocyanate 125, 126
– méthoxycarbamate 51
– méthoxyimino
– acétamide 51
– acétate 51
– N-méthylcarbamate 279
– parathion 180, 280
métirame 48
métolachlore 61
métominostrobine 50, 51
Metopolophium dirrhodum 632
métoxychlor 182
métribuzine 154, 269
mévinphos 28, 40
Mexique 514, 558, 921, 923, 933
micro-capsule 704
Microctonus aethiopoïdes 540
micro-extraction en phase solide 271, 687
microflore
– du sol 584, 751

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

– rhizosphérique 577
– saprophyte 572
micro-ondes 790, 794, 806, 808, 814, 819
micro-organisme 6, 8, 106, 113, 139, 151, 176, 288, 292, 497, 543, 549, 550, 751, 873, 874, 964
– antagoniste 572, 578
– du sol 24, 294, 582, 762
– entomopathogène 549, 554, 556, 564
– exogène 555
– phytopathogène 628
microporosité 143, 158
Microsporidies 559
Microtus
– *agrestis* 386
– *duodecimcostatus* 386
– *subterraneus* 386
miel 225, 227, 763, 773, 774
miellat 771
mil 446, 465, 470
mildiou 45, 49, 60, 61, 65, 66, 68, 311, 314, 465, 646, 725
– de la tomate 315
– de la vigne 321, 330
milieu 172, 174, 203, 289, 692, 940, 948, 969
millet 753
Mimosaceae/Mimosacées 655
mineuse des agrumes 478, 479
mirex 27, 28, 182
Miridae 376
MNPV (*multiple nucleopolyhedrovirus*) 592
mode
– d'absorption 74
– d'action 29, 31, 33, 45, 73, 193, 234, 578, 854, 855
– de pénétration 74
modèle 309, 311, 312, 318, 319, 320, 321, 324, 325, 329, 334, 337, 359, 426, 523, 561, 690, 922
– de Freundlich 144
– de prévision 309, 586
– de simulation 522, 673
– dynamique d'équilibre général 927
– épidémiologique 334
– évolutif 670
– global (ou holiste) 318
– GTAP (*Global Trade Analysis Project*) 923
– indicateur de risque 320
– mathématique 337
– phénologique 320
modélisation 5, 309, 314, 426, 545, 565, 752, 757, 927
molécule
– allélochimique 7, 9, 10, 625, 626, 627, 628, 636, 647, 651, 653, 729, 865
– allélopathique 656
mollusque 952
mondialisation 896
Monilinia 58
moniliose 45
moniteurs de la pollution 293
monocotylédone 721, 722
monocrotophos 28, 180
monoculture 354, 413, 444, 475, 577
monoxygénase à cytochrome P450 191, 214
Moringaceae 656
mouche 215
– blanche 503
– de Hesse 489
– de l'olive 330, 481, 484
– des fruits 500, 501, 540, 813, 815, 817, 821
– des terreaux 617
– méditerranéenne des fruits et légumes 478, 480, 632
– mineuse 610
– tachinaire 945
moustique 26, 216, 219, 540, 557, 635, 645
moutarde blanche 97
Moyen-Orient 174
Mozambique 512, 523
multi-site 35, 38, 48, 60, 67, 69, 117
Musca domestica 215
mutagène/mutagénèse 172, 180, 743, 748, 750, 762, 775

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

mutation 67, 190, 194, 195, 196, 197, 198, 207, 208, 209, 213, 214, 215, 220, 566
– ponctuelle 56, 215, 216, 218, 220
– rare 222
– sélectionnée 214, 219, 222
mycoherbicide 874, 875
myco-insecticide 556, 558, 564
Mycosphaerella graminicola 331
mycotoxine 45, 734, 742
mycovirus 855
myriapode 471
Myriophyllum spp. 297
Myrtaceae/Myrtacées 87, 644
Mythimna unipuncta 944, 946
Myzus persicae 217, 613, 768, 770, 771

N

naftifine 54
naled 28
naphtoquinone 629, 636
naphtoxy-Z acétamide 97
nappe phréatique 177, 411, 460, 726
naptalame 89
N-chloroalkylmercaptan 48
nectar 752, 763
nectarine 822
neem 10, 133, 643, 867
neïroun 481, 485
nématicide 4, 7, 115, 126, 247, 655
nématifuge 655
nématode 6, 10, 115, 116, 124, 132, 498, 578, 628, 632, 633, 635, 871, 882, 902
– à galles 128
– à kyste 123, 133
– entomopathogène 614, 617, 855
– entomophage 549, 555
– *Meloidogyne incognita* 632
– phytoparasite 4, 115, 122
Neodiprion 684
– *sertifer* 636, 683, 690
néonicotinoïde 21, 24, 31, 32, 37, 212, 218, 226, 227
Neoseiulus californicus 615
Neozygites
– *fresenii* 554, 557
– *fumosa* 519
neuromédiateur GABA 212
neurotoxicité/neurotoxique 31, 33, 637
Nezara viridula 501
nickel 102
nicosulfuron 295
Nicotiana tabacum 612, 637
nicotine 3, 22, 28, 31, 37, 635, 637
nicouline 640
niébé 444, 446
Niger 431, 450
Nigeria 431, 441, 512, 515, 517, 518, 523, 524, 525
nimbine 643
nitenpyram 31
nitriles 76, 79, 81, 193
nivalénol 734
NOAEL (*No observed adverse effect level*) 180
nocodazole 58, 59
Nomuraea 554
– *rileyi* 556
norflurazon 86
nornicotine 635
Norvège 608
Nosema locustae 559
nouaison 97
nourrisson/nouveau-né 247, 290
Nouvelle-Zélande 31, 358, 540, 553, 608, 921, 924
novaluron 39
Novius cardinalis 501
N-phénylphtalimide 88
N-propyl gallate 102
nucleopolyhedrovirus 590

O

Ocimum basilicum 655
Ocyptamus 515
œillet 96
Œnothéracées 201
ofurace 61
OGM 9, 11, 199, 204, 448, 552, 566, 728, 747, 755, 756, 757, 762, 763, 851, 852, 895, 897, 919, 921, 938, 939

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

oïdium 45, 49, 56, 57, 65, 67, 68, 330, 488, 564
oignon 98
oiseau 32, 173, 181, 182, 183, 184, 220, 301, 435, 459, 498, 539, 952
Oleae 484
oléagineux 798, 882
Oligonychus ilicis 818
olive/olivier 8, 475, 476, 481, 484, 491, 822
oliveraie 502
ombellifères/*Umbelliferae* 655
Onchorynchus mykiss 289, 296
oomycète 45, 51, 53, 58, 60, 61, 65
Operophtera brumata 501
Opius concolor 485, 504
organochloré 4, 5, 12, 21, 22, 26, 27, 33, 36, 174, 175, 177, 178, 179, 181, 182, 183, 208, 211, 212, 220, 226, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 266, 269, 270, 275, 276, 287, 288, 294, 296, 298
organohalogéné 236
organomercurique 49
organophosphate/organophosphoré 4, 20, 21, 22, 26, 28, 31, 37, 40, 116, 117, 123, 124, 126, 127, 130, 131, 133, 175, 177, 180, 181, 211, 212, 217, 218, 226, 250, 266, 267, 270, 275, 276, 280, 369, 640, 883, 884, 890
organostannique 53
orge 49, 67, 96, 416, 424, 613, 660, 734, 736, 839
Orgya pseudostugata 682, 686, 691
Orius 614, 945, 951
– *insidiosus* 614
– *laevigatus* 614
– *majusculus* 614
– *meridionalis* 617
orme 453
Orobanchaceae/orobanche 431, 432, 433, 437, 440, 950
Orycte rhinoceros 501, 556
Oryza sativa 739
osmorégulation 62
Ostrinia nubilalis 331, 507, 560, 611, 640, 654, 728, 762, 792, 811, 817, 943
Otiorhynchus/Otiorhynques
– *rugosostriatus* 617
– *sulcatus* 559, 617
Ouganda 451
outil
– bio-informatique 739
– d'aide
– à la décision 361, 412, 586, 658, 846
– à la gestion 948
– d'analyse de donnée 942
– de gestion de résistance 892
– de surveillance 287
oxadiazole 88
oxadixyl 61
oxamyl 120, 124, 127, 131
oxazolidinedione 52
oxime-carbamate 30
oxyacétamide 82
oxycarboxine 49
oxyde d'azote 63
oxyfluorfène 88, 447
oxynil 79, 80

P

Pacifique 183
paclobutrazole 56, 96
Paecilomyces 554, 564
– *fumosoroseus* 558
Pakistan 451
palmeraie/palmier 502, 503, 556
Panonychus ulmi 477
Papaver rhoeas 197
Papaveraceae/Papaveracées 197, 634
papaye 821, 822
Papilio polyxenes 635
paradichlorobenzène 33
Paraguay 514
Paramelita 300
Paranthrene tabaniformis 672, 673
paraquat 79, 192, 198, 200, 251, 448, 454
parasite 225, 402, 497, 511, 713, 798

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

- épiphyte 431, 435
- épirhize 431
- facultatif 433
- obligatoire 553

parasitisme 386, 397, 520, 579
parasitoïde 355, 371, 378, 498, 499, 501, 507, 515, 518, 519, 520, 522, 525, 526, 527, 536, 540, 558, 563, 610, 612, 613, 616, 664, 680, 691, 762, 768, 769, 772, 778, 873, 946, 947
parathion 28, 37, 40, 502
partage sol-eau-air 157
pastèque 463, 472
Pasticana sativa 655
patate douce 134
pâturage 128
pâturin annuel 195, 416
pays
- développé 13, 27, 245, 252, 256, 377, 411, 433, 460, 471, 590, 657, 800, 819, 828, 895
- en développement 8, 13, 27, 245, 252, 288, 290, 291, 433, 447, 590, 639, 965

paysage 354, 356, 390, 394, 395, 408, 686
Pays-Bas 127, 248, 294, 358, 564, 578, 608, 620, 672, 673, 968
PEC (*predicted environmental concentration*) 231
pêcher 96, 97, 100, 125, 480
Pectinophora gossypiella 560
Pedaliaceae 655
Pelargonium 82, 96
pencycuron 59, 60
pendiméthaline 447
Penicillium digitatum 56
Pennisetum typhoïdes 459, 463
pentachlorophénol 174
Pentatomidae 376
perce-pousse
- européen du pin 682
- occidental du pin 682, 688

perce-rameau du pin 683
perdrix grise 301
périphyton 295
perméthrine 30, 31, 40, 643
Peronospora parasitica 66
Pérou 504, 514
Persea americana 654
persine 654
persistance 21, 27, 32, 73, 149, 156, 252, 263, 600, 602, 640
perturbateur endocrinien 248, 252, 254
pesticide 124, 176, 244, 627, 835, 959
- (organique) de synthèse 3, 4, 6, 7, 11, 174, 184, 348, 651, 652, 660, 877
- botanique 627

petite sésie du peuplier 672
Phacelia/phacélie 97, 655
phagorépresseur 627
phalène du bouleau 209
phanérogame 445, 455
Phaseolus
- *aureus* 440
- *vulgaris* 440

Phasmarhabditis hermaphrodita 617
Phenacoccus 513, 525
- *gossypii* 513
- *herreni* 514
- *madeirensis* 513
- *manihoti* 512, 513, 520
- *surinamensis* 513

phénamiphos 120, 126, 127, 131
phénazine 581
phénol 80
phénolamide 103
phénothrine 30
phényl
- amide 61, 67
- carbamate 59, 60, 76, 79
- méthyl carbamate 30
- propanoïde 629
- pyrazole 24, 32, 38, 88, 212, 226, 236
- pyrrole 62, 63
- sulfamide 271
- urée 272, 275, 276, 278, 281

phéromone 9, 10, 558, 563, 626, 627, 647, 663, 666, 667, 681, 703, 704, 705, 708, 853, 865, 873, 874, 877, 964

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

– d'alarme 663
– sexuelle 663, 665, 666, 675, 681, 684, 697, 698, 699, 700, 851
Phialophora 575
Phloeotribus scarabaeoïdes 485
phloroglucinol 660
Phoenix dalyctifera 631
phomopsis du tournesol 331
phorate 28
phosalone 28, 884
phosmet 28
phosphine 800
phosphonate 65
phosphorothiolate 271
phosphure
– d'hydrogène 403
– de zinc 388
Photobacterium phosphoreum 294
photodégradation 151
phoxime 29
Phragmenthera 435
phtalonitrile 48
Phtorimea operculella 825
Phyllocnistis citrella 479
Phyllonorycter blancardella 812, 826
Physostigma venenosum 29
physostigmine 29
phytoalexine 63, 66, 628, 632, 659, 660, 726, 738, 741, 871, 872
phytoanticipine 628
phytoecdystéroide 654
phytoène désaturase 86
phytohormone 52, 94, 95, 104, 106, 107, 738
Phytolaccaceae 656
Phytomyza orobanchia 451
phytopharmaceutique/phytopharmacie 3, 244, 348, 482
Phytophthora 45, 65, 577, 726
– *infestans* 61, 659, 660, 726
phytoprotecteur/phytoprotection 10, 82, 476, 713, 714, 802
phytoravageur 3
Phytoseiidae 219
Phytoseiulus
– *persimilis* 219, 505, 506, 607, 615
– *riegeli* 607
phytostigmine 634
phytostimulant/phytostimulation 124, 125, 133, 651, 851
phytotoxicité 22, 49, 121, 122, 126, 969
Picea 682
– *glauca* 682
– *mariana* 656
picolinafen 86
picoxystrobine 50, 52
Picrasma exelca 640
piège 485, 702, 817, 865
– à phéromone 317, 663, 664, 668, 669, 675, 676, 680, 688, 689, 708
piégeage 395, 404, 778, 809, 951
– de masse 703
– en lutte précoce 404
– sexuel 476
Pieris
– *brassicae* 633, 636
– *rapae* 636
piétin des céréales 53, 56, 62, 67, 311, 312, 321, 331, 488, 574, 577, 580
piment 133, 724, 822
Pinus 629, 645, 682, 683
– *contorta* 683
– *nigra* 672
– *ponderosa* 682, 683
– *resinosa* 656
– *sylvestris*/sylvestre 293, 298, 672, 682, 683, 690
– *taeda* 682, 683
Piper
– *adunctum* 655
– *novae-hollandiae* 655
pipéracées/*Piperaceae* 654, 655
pipéramide 654
Pisum sativum 440
Planococcus citri 616
plante 9, 288, 952
– aquatique 296, 302
– d'ornement 646
– fourragère 440
– hôte 670, 679, 680
– industrielle 487, 489
– maraîchère 128
– nématicide 133

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

– ornementale 577, 639, 641, 660, 871
– parasite 8, 431, 441, 447, 454, 465
– refuge 375
– relais 618
– terrestre 297
– transgénique 778
– transgénique/GM 560, 562, 566, 586, 748, 751, 752, 754, 757, 761, 763, 768, 769, 770, 778, 779, 938
planticorps 724
Plasmodiophora 45
Plasmopara viticola 330
Pleodendron 654
Plodia interpunctella 210, 219, 559, 826
plomb 109, 178
Plutella xylostella 39, 210, 219, 557, 559
pluvio-lessivat 139
pluviométrie 159
p-menthane-3,8 diol 657
PNEC (*predicted no effect concentration*) 231
Poa annua 82, 86, 195, 201
Poaceae 655
poinsettia 97
point critique d'abaissement cryoscopique 792
poire/poirier 97, 100, 480
pois 96, 415, 424, 447, 726
– de printemps 416
poisson 173, 219, 290, 291, 296, 300, 498, 540, 952
poivron 614, 813, 822, 871
politique agricole commune (PAC) 836
pollen 752, 756, 763, 774, 944
polluant
– atmosphérique 297
– organique persistant (POP) 174
pollution 5, 94, 726, 896, 915
Pologne 608, 682
polyacétylène 628
polyamine 102, 104, 111, 113
polyandrie 671
Polygonacées 200
Polygonum 200
polygynie 671
polymère d'amines grasses 97
Polymyxa 45
Polyphagotarsonemus latus 615
polyphénol 629, 660, 741
pomme de terre 60, 98, 103, 110, 128, 130, 132, 133, 267, 278, 637, 641, 660, 717, 724, 725, 726, 749, 761, 768, 799, 822, 898
– transgénique 752, 768, 772
pomme/pommier 67, 96, 97, 98, 100, 101, 110, 480, 822
Popillia japonica 551, 553, 559
Populus 672, 682
– *deltoïdes* 629
– *euramericana* 672
Portugal 839
Portulaca oleracea 195
Portulacacées 195
post-récolte 806
PO.SY.PRE 312
potentiel 517
– agronomique 374
– biotique 359, 555, 618, 627
– cancérogène 252
– infectieux du sol 573
– phytosanitaire 654
– reproducteur 689
pou de Californie 478
poudre
– desséchante et/ou abrasive 826
– inerte 807, 818
pourriture grise 62
pouvoir infectieux 596, 603
Praon 945
pratique
– agricole 2, 371, 399, 422, 751, 937, 954, 972
– agronomique durable 351
– culturale 203, 486, 517, 752
Prays oleae 481
prédateur/prédation 8, 355, 357, 371, 378, 386, 390, 397, 404, 499, 504, 508, 511, 515, 518, 519, 536, 540, 612, 616, 664, 680, 691, 713, 762, 768, 798, 855, 873
pression de sélection 68, 190, 203, 208, 218, 347, 537, 554, 693, 753, 891

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Primula 616
principe
– de matérialité 921, 932
– de précaution 227, 922, 929, 930, 931, 932
probénazole 66, 871
processionnaire du pin 672, 703
prochloraz 232, 233
prochloraze 54, 55, 57, 232, 335
procymidone 62, 271, 281
production 45, 386, 406
– agricole 6, 12, 413
– agro-alimentaire/alimentaire 7, 22, 799
– en masse du virus 598
– *in vitro*/*in vivo* 599
– intégrée 351, 359, 490, 545, 565
– virus 599
productivité 225, 446
produit
– agroalimentaire/alimentaire 6, 269, 755, 799
– agrochimique 475, 487
– agropharmaceutique/agrosanitaire 835, 959
– antiparasitaire 959, 960, 970
– phytopharmaceutique/phytosanitaire 4, 10, 93, 174, 225, 237, 243, 310, 835, 848, 851, 877, 957, 959, 967, 975
prohexadione-calcium 96
pronamide 455
propanil 272
propazine 274
prophame 272
propiconazole 270
propoxur 30
propriété organoleptique 445
propyzamide 59, 60
protéagineux 798, 882
protection
– de l'environnement 6, 347, 534, 733
– des cultures 2, 4, 6, 7, 9, 19, 28, 347, 352, 360, 546, 563, 628, 637, 881
– des plantes/végétaux 93, 237, 244, 625, 752, 841, 895, 937
– intégrée 69, 351, 356, 373, 377, 378, 411, 412, 415, 420, 422, 427, 428, 476, 478, 533, 545, 546, 563, 607, 610, 611, 697, 698, 701, 702, 708, 787, 798, 799, 806, 812, 826, 888
– raisonnée 377
protectionnisme 928
protéine
– de défense 446
– PR 63, 66, 446, 631, 659, 726, 738
protéomique 734, 735, 742
prothioconazole 54, 55, 57
protozoaire 402, 500, 549, 555, 580, 855
prune/prunier 96, 97, 480, 822
pseudo-alcaloïde 634
pseudobactine 581
Pseudocercosporella herpotrichoides 331
Pseudococcidae 513
Pseudococcus
– *longispinus* 616
– *viburni* 616
Pseudomonas 62, 575, 578, 580, 581, 582, 874
– *chlororaphis* 584
– *fluorescens* 560
– *glycinea* 659
– *solannacearum* 635
– *syringae* 727, 793
Pseudoplusia includens 560
Pseudotsuga menziesii 682
Psila rosae 175
PSMO (polysubstrats mono-oxygénases à P-450) 653
psychrotorpeur (*chill coma*) 791
psylle
– de l'olivier 481, 483
– du poirier 477
Psyllidae 477, 483
Puccinia
– *recondita* 331
– *striiformis* 331, 937
puceron 3, 38, 369, 371, 489, 538, 607, 610, 613, 618, 629, 632, 817, 946, 951
pullulation 356, 359, 369, 388, 390, 393, 394, 395, 519, 525, 564, 679, 699
punaise 501, 504, 612, 825

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

pycoxystrobine 51
pymétrozine 38
pyochéline 581
pyocyanine 581
pyolutéorine 581
pyraclostrobine 50, 51
pyraflufen-éthyl 88
pyrale du maïs 311, 331, 560, 562, 563, 654, 702, 707, 728, 762, 792, 817, 943
Pyralidae 682
pyrazole 21
pyrazolium 193
pyrazophos 271
Pyrenophora graminea 331
pyrèthre/pyréthrine 10, 30, 31, 632, 641, 642, 660, 867
pyréthrinoïde 4, 20, 21, 24, 26, 30, 33, 36, 37, 208, 211, 212, 215, 216, 217, 226, 231, 236, 244, 275, 283, 369, 371, 478, 600, 641, 642, 643, 646, 647, 660, 841, 883, 890
Pyrethrum 641
pyributicarbe 54, 55, 57
Pyricularia
– *grisea* 52
– *oryzae* 660
pyriculariose 45, 61, 65, 743
pyridabène 38
pyridazinone 32, 38
pyridinamine 53
pyridine 54, 88
pyridinécarboxamide 86
pyrifénox 54
pyriméthanil 62
pyrimicarbe 30, 41, 270
pyrimidifen 32
pyrimidinamine 21, 32
pyrimidine 54
pyrimidinyl benzoate/pyrimidinyl thiobenzoate 197
pyrimidinylbenzoate/pyrimidinylthiobenzoate 197
pyrimidynaloxybenzoate 84
pyrimiphos-méthyl 180
pyriproxyfène 24, 33, 39
pyrrole 21, 32
pyrrolnitrine 62, 581
Pythium 45, 123, 572, 581, 617
– *aphanidermatum* 52

Q

QSAR (*quantitative structure-activity relationships*) 288
QTL (*quantitative trait loci*) 10, 658, 735
qualité 93, 97, 173, 620, 847, 875, 878, 881, 896
– agronomique/alimentaire 445, 713
– sanitaire/hygiénique 799, 806, 828
quarantaine 542, 794, 795, 800, 812, 814, 820, 822, 824, 938
Quassia 633, 640
– *amara* 640
quassine 635, 640
quassinoïde 633
Québec 679
Quercus 672, 682
quinalfos 40
quinazoline 38

R

radiations
– électromagnétiques 806
– ionisantes 794, 808
radiofréquences 790, 794, 806, 808, 814
radis 267, 717
Radopholus similis 128, 134
raisin 822
Raphanus raphanistrum 197
Rattus norvegicus 210
ravageur 369, 523, 699, 713
– des cultures 3, 497, 589, 697, 793, 817
– des denrées 793
– en serre 612
ray grass 97, 198, 201, 418, 488
rayonnement
– électromagnétique 814
– non ionisant 794
– gamma 814
– infra-rouge 814
– ionisant 499

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

rayons X 814
recherche et développement (R&D) 19, 842, 874, 875, 919, 927, 939
Régent TS® 227, 238
règle/réglement/réglementation 6, 7, 289, 411, 424, 542, 543, 546, 645, 646, 699, 748, 835, 846, 849, 876, 881, 919, 928, 932, 934, 957, 958
– de Capus 314
régulateur de croissance 4, 73, 93, 218, 375, 477
– de l'insecte 20, 21, 24, 33, 38, 234, 654
– des plantes 56, 96
régulation 354, 387, 390, 514, 522, 526
relations
– dose-réponse/effet 251, 255
– hôte-parasite/ravageur 498, 507, 515, 521, 522, 523, 525, 527, 659
– oligogéniques 550
– structure-activité 288
rémanence 5, 31, 171, 177, 211, 263, 652, 811
rendement 8, 93, 125, 204, 412, 459, 465, 472, 713, 895
renouvellement des générations 688
rentabilité 379, 489, 657
reproduction 5, 38, 180, 200, 246, 247, 254, 386, 397, 406, 408, 513, 541, 629, 632, 664, 676, 689, 701, 747, 752
répulsif/répulsivité 236, 461
Réseau 949
réseau 948, 950
– climatologique 328
– d'expérimentation 972
– d'expertise 972
– d'observation biologique 309
– de stations météorologiques 309
– de toxicovigilance 245
Resedaceae 656
résidus 5, 6, 130, 140, 149, 155, 157, 161, 162, 164, 179, 244, 263, 265, 267, 271, 283, 389, 411, 420, 564, 584, 619, 755, 774, 800, 801, 811, 848, 877, 959, 961, 969
résistance/résistante 2, 4, 5, 7, 10, 46, 49, 52, 53, 60, 63, 69, 94, 95, 116, 189, 193, 194, 195, 197, 198, 201, 204, 207, 209, 214, 215, 219, 367, 369, 419, 445, 476, 499, 534, 535, 549, 554, 559, 560, 562, 563, 572, 574, 575, 602, 620, 628, 631, 641, 652, 657, 660, 693, 713, 729, 734, 735, 737, 743, 748, 753, 761, 855, 890, 902, 920, 937, 938, 943, 947
– acquise 46, 49, 52, 56, 58, 61, 67, 208, 727
– croisée 21, 46, 60, 126, 191, 197, 198, 214, 217, 218, 600, 754
– des sols 573, 575
– induite 659
– innée 208
– locale 65, 631
– systémique 63, 65, 631, 738
resméthrine 30
résurgence 5, 504, 652
rétention 139, 140, 142, 146, 154
rétrotransposon 597
Reynoutria sacchalinensis 660
RGA (*resistance gene analogs*) 737
Rhamphicarpa 433, 436
Rhapanus sativus 655
Rhinocyllus conicus 540
Rhizobia sp. 874
rhizobitoxine 102
Rhizoctonia solani 579, 581
rhizosphère 108, 123, 124, 153, 581, 583, 751
Rhopalosiphum padi 632, 645
Rhyacionia
– *buoliana* 682
– *frustana* 683
– *zozana* 683, 692
Rhynchosporium secalis 331
Rhyzobius
– *forestieri* 616
– *lophanthae* 616
ricin/*Ricinus* 614, 655
– *communis* 440, 655
RISA (*ribosomal intergenic spacer analysis*) 577

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

risque 7, 8, 11, 13, 60, 225, 227, 228, 230, 236, 238, 245, 249, 250, 253, 256, 288, 300, 314, 355, 379, 386, 394, 427, 447, 536, 546, 589, 603, 604, 702, 748, 757, 845, 896, 912, 930, 931, 934, 938, 939, 940, 943, 947, 950, 953, 958, 960, 968
riz 12, 31, 39, 49, 54, 60, 61, 65, 66, 67, 134, 164, 180, 461, 462, 463, 472, 637, 660, 717, 739, 743, 753, 836, 871
– transgénique 730
rodenticide 7, 210, 625, 639, 964
Rodolia cardinalis 528
rongeur 1, 6, 8, 357, 385, 386, 395
rosier 96
Rosmarinus officinalis 645, 654
rotation 201, 353, 752
– culturale/des cultures 132, 360, 374, 411, 413, 444, 452, 454, 455, 461, 462, 490, 577, 655
roténone 251, 629, 640, 867
rouille 45, 49, 312, 321, 331, 488, 489, 937
Roumanie 446, 608, 921
Roundup Ready® 749
Royaume-Uni 175, 179, 194, 200, 283, 301, 515, 640, 643, 645, 757, 813, 819, 824, 873
ruche 225, 227, 235, 752, 766
ruissellement 140, 149, 160, 176
Russie 357
Rwanda 512
Ryania 637, 639, 641
– *speciosa* 639
ryanodine 635, 639

S

sabadilla 639
Saccharomyces cerevisiae 718
Saccharopolyspora spinosa 33
Sahel 442, 443
Saissetia
– *coffeae* 616
– *oleae* 616
salanine 643
Salix 672, 682
Salmonella typhimurium 294
Salvadoraceae 656
Sanguisorba minor 420
santé 5, 13, 19, 22, 131, 178, 182, 210, 251, 427, 698, 897
– des plantes 113, 348
– humaine 243, 287, 300, 301, 374, 698, 735, 853, 922, 930, 932, 960
– publique 290, 928, 929, 932, 939, 950
saponine 633
SAR (*systemic acquired resistance*) 871
Schizaphis graminum 629
Schoenocualon officinale 639
Sciaridae 617
Sclerospora graminicola 465
Sclerotinia 49, 58
– *minor* 579
– *sclerotiorum* 331, 579, 585, 660
sclérotiniose du colza 331
Scolytidae 485
Scolytus
– *multistriatus* 629
– *quadrispinosus* 629
Scrophulariaceae/Scrophulariacées 431, 433, 436, 654
Scutellista cyanea 616
Scutellonema cavanessi 116
SDN (voir stimulateur de défense naturelle)
Secale cereale 655, 656
sécheresse 490
sécurité alimentaire 852, 877, 896, 919, 928, 929
seigle 839
sélection 714, 736
– assistée par marquage (SAM) 658
– variétale 355, 361, 445, 446, 488, 657, 658
sélectivité 31, 45, 46, 53, 74, 88, 89, 189, 554, 652, 969
Selenastrum capricornutum 289, 296, 297
semences 32, 203, 227, 230, 231, 238, 413, 434, 475, 561, 582, 584, 813,

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

824, 843, 903, 907, 912, 920, 924, 928, 939
Semielacher petiolatus 479
semis 452, 910
Senecio
– *inaequidens* 950
– *jacobaea* 498, 636
– *vulgaris* 195, 201
senécionine 634
séneçon 498, 950
Sénégal 450, 451, 459, 460, 462, 463, 472, 512, 513, 523
sentinelle 681, 685, 686, 687
septoriose 45, 67, 311, 321, 488, 489
– du blé 52, 56, 321, 331
Serratia 550
– *entomophila* 553
serre 8, 132, 248, 442, 500, 506, 540, 542, 564, 607, 608, 611, 612, 616, 639, 645, 813, 824, 872, 874
Sesamia/sésamie 315, 331, 705, 944
Sesamum orientale 655
Sesiidae 672
sesquiterpène 628, 632
sétaire verte/*Setaria viridis* 198
seuil
– d'intervention 412, 414
– de nuisibilité 477, 478, 484, 490, 823
– de tolérance 404
– économique 361, 377, 664, 806
Signiphoridae 515
silthiofam 50, 53
silyamide 53
simazine 154
Simmondsia californica 656
Sinapis
– *alba* 655
– *arvensis* 445
Sitobion avenae 554
Sitona discoideus 540
Sitophilus
– *granarius* 793
– *oryzae* 794
Smicronyx 451
SNPV (*single nucleopolyhedrovirus*) 592
soja 79, 106, 130, 133, 199, 415, 416, 599, 728, 836, 896, 898, 903, 910, 920, 921, 923
– transgénique 898, 910
sol 32, 73, 74, 79, 86, 106, 112, 115, 116, 117, 121, 125, 126, 130, 133, 139, 143, 146, 151, 163, 172, 174, 175, 183, 204, 264, 266, 270, 282, 288, 302, 310, 354, 394, 395, 411, 437, 556, 571, 572, 583, 679, 726, 799, 824, 845, 874, 943
Solanaceae/Solanacées 574, 632, 634, 639
Solanum demissum 635
solarisation 442, 577, 619, 801, 808, 813, 823
Sophora japonica 672, 675, 683
sorgho/*Sorghum* 440, 442, 443, 446, 452, 467, 470, 656, 753
sorption 140
Soudan 431, 440, 450
soufre 267, 641
spécialité 227, 640, 643, 645, 652, 844, 849, 877, 881, 882, 892, 964
spécificité 21, 600, 652, 676, 727, 874
spectrofluorimétrie 279
spectrométrie de masse 274, 666, 742
spermatophyte 431
spinosad 32, 480
spiroxamine 55, 56, 57
Spodoptera 367
– *exigua* 39, 598, 654
– *frugiperda* 598, 602, 633
– *littoralis* 591, 634
spongieuse 682
Spongospora 45
S-propyl-L-cystéine sulfoxide (PCSO) 635
Sri Lanka 922, 933
stabilisation 149
Stegobium paniceum 826
Steinernema 555, 559
– *feltiae* 614, 617
stellaire 200, 416
Stellaria media 86, 200
stéréo-isomérie 684
stéroïde 36, 181, 629, 631, 633, 727

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

stigmastérol 54
stimulateur de défenses naturelles des plantes (SDN) 10, 651, 659, 744, 851
Streptomyces 85
– *avermitilis* 24
– *griseoluteus* 104
– *hygroscopicus* 33
– *viridochromogenes* 85
stress
– abiotique 714, 729
– biotique 714
– hydrique 789
– mécanique 798
– métabolique 792
– thermique 788, 808
s-triazines 148
Striga 436, 437, 465
– *asiatica* 436
– *hermonthica* 431, 434
– *spp.* 440
strobilurine 50, 51, 67, 69
Strobilurus tenacellus 51
structure paysagère 353, 406
substance active 5, 226, 651, 882, 958, 964, 967
Suède 608, 683, 813
Suillus luteus 294
Suisse 194, 357, 358, 516, 608, 952
sulcotrione 86, 87
sulfate-8-hydroxyquinoléine 98
sulfonylaminocarbonyltriazolinones 197
sulfonylurées 84, 85, 155, 191, 197, 266, 270, 280, 750, 841
sulfosate 97
sulfure de carbone 22, 117
super-parasitisme 521
support de culture 571
surface écologique 357
Surinam 640
surveillance 5, 289, 290, 301, 664, 669, 953
– biologique 5, 289, 292, 299, 301, 938, 939, 953
– générale 940, 944, 947
– spécifique 938, 940, 952
Swietenia humulis 654
synapse 34, 37, 38
synergie/synergiste 41, 231, 255, 600, 645, 646, 652, 654, 768, 790, 802, 913, 972
syrphe/*Syrphidae* 515, 945, 951
système
– « push-pull » 375
– d'aide à la décision 317, 426, 800
– d'avertissement 376
– d'information géographique 408
– de culture 348, 352, 359, 374, 411, 414, 422, 423, 424, 460, 471, 550, 754, 761
– de prévision 314
– de production 914
– endocrinien 246
– expert 315, 337
– intégrateur 321
– nerveux 27, 31, 33, 245, 246, 250, 797
– respiratoire 245
systémique 29, 30, 46, 49, 54, 123, 480

T

tabac 66, 98, 103, 128, 133, 442, 444, 447, 448, 612, 633, 717, 726, 728, 824, 871
– transgénique 771
tachinaire 506
Tagetes 133
– *erecta* 655
– *minuta* 655
– *patula* 655
Tamarixia dryi 541
Tanacetum 641
tanin 629
Tanzanie 451, 512, 642
Tapinanthus 435
Tarsonemus pallidus 615
tavelure 45
– des arbres fruitiers 62
– du pommier 52, 56, 311, 330, 871
Taxaceae 654
Taxillus chinensis 453
Tchad 431
Tchécoslovaquie/République tchèque 194, 682

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

tébuconazole 54, 57, 96, 232, 734
tébufénozide 25, 39
techniques
– agronomiques 347, 372, 374, 412
– culturales 361, 369, 416, 475, 571
– simplifiées (TCS) 416, 950
– d'échantillonnage 395
– d'inoculation 609
– de conservation des sols 912
– de lâcher 521
– de lutte 361, 367
– de modélisation 309, 318
– de traitement 369
technologie des diffuseurs 700
téflubenzuron 39, 478
teigne 481
– de l'olivier 481
– de la farine 612
– de la pomme de terre 825
– des crucifères 210, 549, 559
Telenomus 691
tellurique 106
téméphos 217
température 121, 150, 155, 156, 157, 164, 175
Tenebrio molitor 790
Tephritidae 480, 484, 814
Tephrosia 641
– *toxicaria* 641
– *virginiana* 641
téphrosine 640
terbinafine 54
terbufos 120, 131
terbuthylazine 164
terbutryne 274
termite 28, 559
terpène/terpénoïde 4, 629, 631, 644, 867
test
– « cresson » 121
– de toxicité/toxicologique/écotoxicologique 228, 233, 234, 237, 289, 296, 643
– Elisa 281
tétraméthrine 30, 36
Tetranychus
– *cinnabarinus* 615
– *urticae* 477, 607, 615, 635
tétrathiocarbonate de sodium 117
Texas 219
Thaïlande 451, 921
Thaumetopoea pityocampa 672
Thaumetopoeidae 672
thé 39
Therioaphis trifolii 556
Thesium 433
thiabendazole 58, 59
thiaclopride 232
thiadiazine 122
thiadiazinone 39
thiamethoxam 31
Thielaviopsis basicola 581
thiocarbamate 54, 82, 193, 249
thiocyanate 116, 122
thiométon 40
thiophanate 58, 270
thiosulfate de sodium et d'argent 98, 110
thirame 48
Thrips/thrips 330, 553, 614, 617, 639, 813, 817
Thuya occidentalis 656
thymol 644
Thymus vulgaris 644, 645, 654
Tipula trivittata 793
tolclofos-méthyl 62
tolérance/tolérante 445, 902, 920
tolyfluanide 48
tomate 66, 97, 128, 132, 133, 447, 448, 460, 463, 472, 564, 607, 610, 614, 616, 618, 660, 717, 724, 728, 821, 822, 871, 898
TOP 321, 325, 334, 335
tordeuse
– de Chine 672, 683
– de la grappe 703
– des bourgeons de l'épinette 681, 682
– des vergers 703
– orientale du pêcher 330
Tortricidae 476, 672, 682, 683
tournesol 66, 97, 227, 238, 315, 416, 420, 446, 753, 839
toxaphène 27, 182, 219, 255
toxicité 24, 29, 32, 153, 226, 227, 228, 229, 231, 232, 233, 234, 238, 245,

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

247, 289, 448, 632, 645, 647, 960, 964
– aiguë 229, 232, 233, 244, 764
– chronique 232, 764
– résiduelle 230
toxine *Bt* 751, 752, 753, 754, 943, 945, 947
toxique 578, 958
traçabilité 922
trachéomycose 66
traitement 49, 116, 140, 294, 448, 455
– à la vapeur 812
– des sols 121, 132
– électromagnétique/pneumatique 3
– foliaire 116
– inoculatif 549
– inondatif 549, 557
– thermique d'éradication 820
tralométhrine 40
transfert de gènes 11, 714, 718, 762, 895, 943
transgénèse 112, 552, 714, 722, 748, 895
travail du sol 201, 415, 416, 424, 471, 571
trèfle 97, 393
TRFLP (*terminal restriction fragment length polymorphism*) 577
triadiméfon 271
triadiménol 54
Trialeurodes vaporariorum 607, 612, 646
triazines 74, 76, 79, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 201, 249, 253, 270, 274, 276, 952
triazinone 76, 79, 269
triazole 54, 95, 96, 193, 271, 276, 841
triazolinethione 54
triazolinone 88
triazolopyrimidine 197
Tribolium 471
– *castaneum* 215
Trichoderma 578, 579, 580, 582, 875
Trichogramma/trichogramme 505, 507, 534, 558, 616, 702
– *brassicae* 507, 610, 615
– *evanescens* 615
Trichoplusia ni 594, 693, 817
trichothécènes 734, 742
triclopyr 96, 296, 298
tridémorphe 55, 56, 57
trifloxystrobine 50, 51, 52
triflumuron 39
trifluraline 146, 192, 447
Trifolium alexandrinum 440
trinexapac-éthyl 97
Trinidad 539
Trioxys complanatus 556
Trioza erytreae 541
triphénylétain 53
triticale 96, 97, 839
Triticum aestivum 358, 656
troubles du comportement 227
TSWV (*tomato spotted wilt virus*) 609
Tunisie 475, 477, 478, 480, 481, 487, 488, 489
Tyria jacobaea 498, 636

U

Ukraine 921
Ulmus 682
ultrasons 817
Umbelliferae (voir Ombellifères)
Uncinula necator 330
Union européenne 6, 226, 228, 255, 282, 543, 565, 566, 580, 585, 698, 819, 835, 839, 895, 919, 926, 931, 939, 957, 958, 960, 968
urées substituées 76, 79, 200
Uruguay 921

V

valorisation économique 546
variabilité génétique/génotypique 523, 596
variété
– immune 445
– résistante 133, 134, 353, 374, 445, 461, 490, 511, 657
– sensible 445
– tolérante 445
– transgénique 448
Venezuela 640
Venturia inaequalis 52, 330, 812

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

vératidine 639
vératramine 634
vératrine 635
Veratrum album 639
verger 8, 476, 481, 540, 549, 639, 642, 703, 800, 812, 883, 884, 888
vergerette 199
Verticillium 554, 564
– *dahliae* 635
– *inaequalis* 56
vesce commune 97
Vicia sativa 440
Vietnam 921
Vigna
– *radiata* 440
– *unguiculata* 440, 446
vigne 30, 49, 56, 66, 67, 96, 97, 132, 133, 194, 314, 315, 475, 646, 703, 726, 756, 836, 882
vinchlozoline 62, 255, 272
virus 132, 388, 402, 500, 543, 549, 589, 609, 721, 729, 751, 882, 883, 886
– de la granulose 590, 596, 891
– du carpocapse 603, 883
– de la mosaïque
– du chou-fleur 719
– du tabac 721
– de polyédrose nucléaire 590, 596
– entomopathogène 9, 589, 855
– modifié génétiquement 604
viscacées/*Viscaceae* 431, 433, 435, 452
Viscum album 435, 452
viticulture 95, 111, 330, 702, 704
volatilisation 141, 149, 156, 157, 176
vulpin 192, 197, 201, 413, 415, 416, 417, 423, 424

W

Warburgia 654
withanolide 633

X

Xanthomonas oryzae 66, 660
xénobiotique 177, 191, 207, 211, 212, 220, 247, 256, 289, 290
xéno-hormone 254
xéno-œstrogène 254

Z

Zaïre 512, 513, 517, 520
Zambie 512
zarilamide 59, 60
Zea mays 99, 629
zéaralénone 734
zéatine 99
Zimbabwe 450
zinc 109
zone refuge 213, 505, 560, 561, 563, 754
Zoophthora
– *infestans* 554
– *radicans* 556
zoxamide 59, 60

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

Achevé d'imprimer sur les presses de
l'Imprimerie France Quercy à Mercuès
N° 785 (I) - GP 80°
N° d'impression 82010
Dépôt légal : octobre 2008

Imprimé en France

Après un demi-siècle d'utilisation intensive de produits phytosanitaires organiques de synthèse, d'effets non intentionnels et de désordres écologiques, un des enjeux essentiels de l'agriculture du XXIe siècle est de répondre à la demande croissante dans le respect de l'environnement. La protection des cultures est devenue un défi majeur.

Pour aider à le relever, cet ouvrage se présente comme une réflexion globale sur la lutte phytosanitaire passée, présente et future. Il rassemble les contributions de chercheurs et d'universitaires, d'experts et de professionnels de la protection des végétaux, dresse un état des lieux et dégage des perspectives.
Après avoir examiné les activités phytopharmaceutiques des pesticides organiques de synthèse et leurs impacts toxicologiques et environnementaux, il traite des approches alternatives, complémentaires et innovantes de l'agriculture intégrée, raisonnée ou biologique, ainsi que des biopesticides et des organismes génétiquement modifiés. Il aborde les dimensions économiques ou réglementaires et analyse les méthodes de surveillance et de contrôle mises en œuvre.

Parce qu'aucun autre livre francophone récent ne prend en considération les différents aspects de cette question d'actualité, *Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement* constitue un outil indispensable pour tous ceux qui s'impliquent, à travers l'agriculture et la protection de l'environnement, dans le développement durable.

Catherine Regnault-Roger est pharmacien, docteur ès sciences naturelles et professeur à l'université de Pau et des Pays de l'Adour (UPPA). Elle y dirige actuellement le master Sciences de la vie. Elle est membre du Conseil national des universités (68e section) et vice-présidente de la commission nationale " Ingénierie et expertise " (CGRA1) de l'Institut de recherche pour le développement (IRD).

Pour coordonner cette équipe (77 auteurs africains, américains et européens), elle a bénéficié du concours du **Dr Gérard Fabres**, directeur de recherche honoraire de l'IRD, et du **Pr Bernard J.R. Philogène**, professeur émérite de l'université d'Ottawa (Canada).

2-7430-0785-0

9 782743 007850