

Relations entre le puceron du pois et la teneur en saponines de cultivars de luzerne

R. Bournoville*

Les objectifs de la sélection végétale peuvent tendre à la diminution du taux de certains composés présents dans les plantes, composés qui ont un rôle néfaste dans l'utilisation de ces productions. Or ces substances ont des effets multiples. Elles peuvent jouer le rôle d'allomones, c'est-à-dire de substances défensives contre les consommateurs de la plante, parmi lesquels se situent les insectes. Chez la luzerne, le rôle antiappétant et antinutritionnel des saponines a entraîné des travaux en Europe pour la création de variétés à faible teneur en ces glycosides. HORBER (1972) a publié une synthèse traitant de l'influence de ces composés sur les insectes. Les tentatives de fractionnement des parties aglycones des saponines de la luzerne ont rapporté l'activité toxique de l'acide médicagénique sur la larve du Coléoptère *Tenebrio molitor* L. (PRACROS, 1988a, 1988b). Les résultats sont plus ambigus pour les insectes piqueurs, puisque les preuves expérimentales de l'action toxique des saponines proviennent de l'incorporation de diverses génines dans les régimes artificiels sur lesquels sont élevés certains insectes piqueurs : pucerons et cicadelles (HORBER et al., 1974 ; KRZYMANSKA et WALIGORA, 1986).

* : avec la collaboration de J. CHARRUAULT

MOTS CLÉS

Acyrtosiphon pisum , cultivar, expérimentation, luzerne, puceron, saponine.

KEY-WORDS

Acyrtosiphon pisum , cultivar, experimentation, luzerne.

AUTEUR

Institut National de la Recherche Agronomique, Laboratoire de Zoologie, F-86600 Lusignan.

Pour notre part, nous avons cherché à préciser l'effet des saponines de la luzerne sur le puceron du pois, *Acyrtosiphon pisum* Harris, en évaluant les capacités de multiplication de cet insecte sur des plantes entières de différents cultivars dont les teneurs en saponines constituent une gamme. Ces recherches ont été conduites en premier lieu dans des pièces climatisées, où les plantes poussant en pot ont été infestées par les pucerons dans des conditions contrôlées de température et de photophase. En second lieu, elles ont été menées à l'extérieur dans des parcelles semées en conditions agronomiques dans le site du Centre de recherches de Lusignan (Vienne) où *A. pisum* est une espèce majeure parmi les espèces phytophages de la luzerne (BOURNVILLE et CANTOT, 1980).

Matériel et méthodes

• Les plantes

Les 6 cultivars de luzerne testés proviennent d'Europe ou des Etats-Unis (tableau 1) : ils présentent des teneurs variables en saponines selon le test biologique de l'inhibition du développement des colonies du champignon *Trichoderma viride* Pers. Ces tests ont été réalisés sur des échantillons de matière végétale des parties aériennes de ces génotypes, séchée à 80°C. On compare le diamètre des colonies de *T. viride* poussant sur un milieu contenant chaque extrait. Selon PIETRASZEK (1985), ce test donne une réponse rapide et des résultats fiables. Il impose une très bonne maîtrise des conditions expérimentales (enceinte stérile, milieu de culture

Variétés	Europe	Du Puits	Lutèce	Ruro	Robot	Lahontan
Origine	France	France	France	France	Italie	Etats-Unis
Taux (%) de développement de <i>T. viride</i> (*)	37a	38a	42a	50b	72c	78c

(*) Ce taux est d'autant plus important que la teneur des plantes en saponines est faible.

TABLEAU 1 : Caractéristiques des cultivars testés (les valeurs associées à des lettres différentes sont significativement différentes).

TABLE 1 : Characteristics of the lucerne cultivars (values followed by different letters are significantly different).

homogène). Trois classes de teneur en saponines ont été distinguées, par rapport au témoin sans extrait de luzerne, selon le pourcentage de développement des colonies, tel que PIETRASZEK (1985) l'a déterminé :

- de 0 à 40 % : variétés riches,
- de 40 à 70 % : variétés moyennes,
- plus de 70 % : variétés pauvres.

• **Expérimentations réalisées en pots sous conditions contrôlées**

Ces expérimentations sont conduites dans une pièce climatisée où la photophase est de 16 heures et où l'énergie lumineuse sous les rampes est de $200 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$. La température est maintenue à $21 \pm 1^\circ\text{C}$. On utilise des plantes poussant dans des pots contenant un mélange de terre et de terreau. Un couvercle perforé recouvre le pot, en laissant pousser les tiges de luzerne. Il permet également de maintenir verticale une tige métallique, solidaire du pot, qui sert de support (grâce à des bandes aimantées) à des cagettes de polystyrène selon le modèle décrit par BOURNOVILLE ET CANTOT (1974). Ces cagettes, d'une hauteur de 20 cm, ont les faces perforées et grillagées. On laisse des pucerons ailés, provenant d'une souche élevée sur luzerne, déposer leur descendance durant 24 heures. On retire alors ces adultes tandis qu'on laisse les larves de 1^{er} stade se développer dans les cagettes de chaque variété jusqu'à leur mue imaginale.

Ce jour là (jour J), les pucerons aptères adultes sont pesés un à un avant d'être répartis, à raison d'un individu par cagette, dans 20 répétitions par variété. On choisit, pour chaque variété, les 20 adultes représentatifs de la moyenne des individus pesés et de son intervalle de confiance. On laisse ces adultes se reproduire durant une semaine. A ce terme (jour J + 7), on relève la survie et le poids de ces insectes ; les larves issues de chacun d'eux sont dénombrées, les adultes sont reportés dans les cagettes placées sur des plantes du génotype correspondant. Sept jours après (jour J + 14), on dénombre également les larves nées durant la 2^e semaine, ce qui permet d'établir les taux nets de reproduction des pucerons lors des 2 semaines d'expérimentation, qui sont les nombres de descendants par puceron initial.

• **Etude au champ des contaminations naturelles des variétés**

On a installé les 6 variétés dans une expérience en blocs aléatoires complets : chaque parcelle élémentaire mesure 5×5 m. L'écartement des lignes de semis est de 35 cm. Entre 2 parcelles d'un même bloc, on a supprimé 1 ligne de semis pour identifier les variétés. Chaque bloc est séparé de l'autre par une bande de 5 m de largeur semée en ray-grass. L'année d'implantation, le semis ayant été réalisé le 20 avril, aucune population consécutive de puceron du pois n'a été relevée. Les

3 années suivantes (notées années 1, 2, 3 dans le tableau 4) à la mi-juin, des relevés de population d'*A. pisum* ont été réalisés. Pour cela, on donne 10 coups de filet par parcelle élémentaire et on dénombre les pucerons du pois. Les résultats des comptages font l'objet d'une analyse de variance.

Résultats

L'expérience réalisée en conditions contrôlées (tableau 2) prouve que, malgré une gamme de teneurs en saponines importante et d'origine "naturelle" (non issue de sélection), on ne mesure aucun effet sur le puceron du pois. Les différences de poids des adultes lors du début de leur vie imaginale (jour J) n'ont pas de relation

Variétés	Lutèce	Europe	Du Puits	Ruro	Robot	Lahontan
Poids des adultes (mg)						
- J	1,90ac	1,55b	1,85ac	1,58b	2,02c	1,71ab
- J + 7	3,18a	3,43a	3,48a	3,45a	3,55a	3,28a
Taux net de reproduction						
- de J à J + 7	40,7a	34,8a	41,0a	35,6a	40,9a	42,0a
- de J à J + 14	85,4a	85,5a	94,5a	82,3a	92,2a	90,0a

TABLEAU 2 : Poids et fécondité du puceron du pois à partir du jour (J) de la mue imaginale, élevé en conditions contrôlées sur 6 cultivars de luzerne à teneurs variées en saponines (sur une même ligne, les valeurs associées à des lettres différentes sont significativement différentes).

TABLE 2 : *Weights and fecundities of the pea aphid from the imaginal moult (J) to the 14th day of the imaginal life (J + 14), for aphids bred under controled conditions on 6 lucerne cultivars (for a given line, values followed by different letters are significantly).*

Source de variation	Sommes des carrés	ddl	Carrés moyens	F
Variétés	1513	5	302	0,7
Erreur	44167	102	433	
Total	45681	107		

TABLEAU 3 : Analyse de variance du taux net de reproduction des pucerons pendant les 14 jours qui suivent le jour (J) de la mue imaginale.

TABLE 3 : *Variance analysis of the net reproductive rate of adults of pea aphid bred during the 14 days following the imaginal moult (J).*

Le puceron du pois et la teneur en saponines des cultivars de luzerne

Variétés	Lutèce	Europe	Du Puits	Ruro	Robot	Lahontan
Année d'exploitation						
Première année	207a	243a	250a	190a	272a	222a
Deuxième année	67a	75a	87a	57a	67a	64a
Troisième année	64a	76a	67a	57a	63a	60a

TABEAU 4 : Comparaison, par année, des effectifs de pucerons prélevés au champ sur les 6 cultivars de luzerne (pour 10 coups de filet ; sur une même ligne, les valeurs associées à des lettres différentes sont significativement différentes).

TABLE 4 : Comparison of the maximum number of pea aphids sampled (per 10 sweep-net strokes) each year on 6 lucerne cultivars (for a given line, values followed by different letters are significantly).

Année	Source de variation	Sommes des carrés	ddl	Carrés moyens	F
1	Bloc	25405	5	5081	1,50
	Variété	27186	5	5437	1,60
	Erreur	84740	25	3390	
	Total	137330	35		
2	Bloc	1860	5	372	1,31
	Variétés	2391	5	478	1,68
	Erreur	7104	25	284	
	Total	11353	35		
3	Bloc	1730	5	346	1,14
	Variété	1174	5	235	0,77
	Erreur	7620	25	305	
	Total	10524	35		

TABEAU 5 : Analyse de variance des effectifs de pucerons prélevés au champ.

TABLE 5 : Variance analysis of the maximum number of pea aphids sampled each year.

avec le classement des variétés. Ultérieurement (jour J + 7), ces poids s'homogénéisent. On note des descendance élevées sur les diverses variétés se situant dans une fourchette de plus de 80 à plus de 90 larves par femelle initiale, ce qui les situe parmi les variétés sensibles au puceron du pois. Le détail de l'analyse de variance du tableau 3 porte sur ce critère qui est essentiel pour exprimer l'aptitude de l'ensemble des variétés à la multiplication des pucerons.

Quant au nombre de pucerons présents au champ sur les diverses variétés, les effectifs moyens prélevés lors des 3 années, à la fin du printemps, sont relativement faibles (tableau 4) puisqu'ils sont d'environ 230, 70 et 65 individus mais ils sont très homogènes pour une même variété. Le dispositif utilisé permet l'analyse des résultats (tableau 5) sur le facteur variété comme sur le facteur bloc. Aucune de ces sources de variation n'est significative.

Discussion - conclusion

Une remarque peut être faite sur notre dispositif d'étude des variétés en conditions agronomiques : lors des prélèvements qui ont été réalisés pour estimer les populations de pucerons, d'autres espèces de la biocoenose de la luzerne ont également été recueillies : c'est le cas notamment des larves de phytonome (*Hypera variabilis* Herbst., Coléoptère, Curculionidae) et de punaises du genre *Lygus* (Hétéroptère, Miridae). Dans le cas du premier insecte, des différences significatives de contamination des diverses variétés existent chaque année. Ainsi, en moyenne, la variété Europe ne supporte de façon remarquablement constante que 66 à 68 % des effectifs de la variété Lahontan. Si ce dernier résultat ne suffit pas à conclure que le phytonome est sensible aux saponines, il prouve que notre dispositif est bien adapté à la distinction des variétés.

L'ensemble des résultats acquis prouve que la sélection de variétés de luzerne à basse teneur en saponines ne soulèvera pas de nouveaux problèmes de nuisibilité de la part du puceron du pois. HORBER (1972) émettait l'hypothèse que les saponines pourraient avoir un rôle dans l'expression de la résistance de la luzerne à des insectes polyphages, parmi lesquels il rangeait le puceron du pois ; dans une autre publication, il insistait sur le rôle de l'acide médicagénique (HORBER et al., 1974). Pour leur part PEDERSEN et al. (1976) ont estimé les effets de la sélection pour une basse teneur en saponines en prenant en compte 7 caractéristiques agronomiques et la résistance de ces cultivars à 6 pathogènes, 5 insectes (dont le puceron du pois) et 2 nématodes. Le puceron du pois est le seul insecte qui soit corrélé négativement avec la teneur en saponines. Cependant, en 1975, PEDERSEN et al. ont montré que la sélection pour la résistance au puceron du pois ne modifie pas la teneur totale en saponines des feuilles des cultivars de luzerne. PEDERSEN et al. (1976) concluent que des variétés à basse teneur en saponines mais résistantes au puceron du pois peuvent être sélectionnées car ce n'est pas la teneur en saponines totales qui intervient. C'est bien le sens de nos résultats. Cela rejoint l'absence d'effet de la sélection pour une basse teneur en glucosinolates chez le colza. Les travaux sur ce sujet, tout en se questionnant sur l'effet de ces composés dans les parties vertes du colza, ont montré que les cultivars à basses teneurs en glucosinolates ne sont pas l'objet d'attaques particulières tant de la Cécidomyie *Dasineura brassicae* Winn. (AHMAN, 1982) que des Coléoptères *Ceuthorhynchus assimilis* et *Ceuthorhynchus napi* Gyll. (LERIN, 1983), *Meligethes aeneus* F., *Ceuthorhynchus assimilis* Payk., *Phyllotreta* sp. (LARSEN et al., 1985).

D'autres facteurs que des composés antinutritionnels peuvent participer à l'explication de la relation entre les insectes phytophages et leur plante-hôte. C'est ainsi que, dans le cas de la luzerne et du puceron du pois, nous avons récemment signalé que l'obturation plus rapide des tubes criblés après leur perforation par les stylets d'*A. pisum* pouvait contribuer à limiter l'alimentation et, par voie de conséquence,

la reproduction du puceron sur un génotype de luzerne. En revanche, la concentration en acides aminés et en sucres de la sève phloémienne n'apparaît pas dans ce cas déterminer le niveau des performances du puceron du pois (GIROUSSE et BOURNOVILLE, 1993).

Accepté pour publication, le 12 novembre 1993.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AHMAN I. (1982) : "A comparison between high and low glucosinolate cultivars of summer oilseed rape (*Brassica napus* L.) with regard to their level of infestation by the brassica pod midge (*Dasineura brassicae* Winn.)", *Z. angew. Entomol.*, 94, 103-109.
- BOURNOVILLE R., CANTOT P. (1974) : "Matériel utilisé pour l'élevage d'insectes sur la luzerne", *Ann. Zool. Ecol. anim.*, 6, 333-336.
- BOURNOVILLE R., CANTOT P. (1980) : "Variations d'effectifs des principaux insectes nuisibles à la luzerne selon le rang de la pousse et l'âge de la culture", *Fourrages*, 84, 113-130.
- GIROUSSE C., BOURNOVILLE R. (1993) : "Role of phloem sap quality and exudation characteristics on performance of pea aphid grown on lucerne genotypes", *Entomol. exp. appl.* (sous presse).
- HORBER E. (1972) : "Alfalfa saponins significant in resistance to insects", *Insect and mite nutrition*, Rodriguez J.G. ed., North-Holland, Amsterdam, 611-628.
- HORBER E., LEATH K.T., BERRANG B., MARCARIAN V., HANSON C.H. (1974) : "Biological activities of saponin components from Du Puits and Lahontan alfalfa", *Ent. exp. and appl.*, 17, 410-424.
- KRZYMANSKA J., WALIGORA D. (1986) : "Etude des saponines de la luzerne et de leur action sur le puceron du pois (*Acyrtosiphon pisum*) (en polonais)", *Mater. XXVI Sess. Nauk. Inst. Ochr. Rosl.*, 267-274.
- LARSEN L.M., NIELSEN J.K., PLÖGER A., SORENSEN H. (1985) : "Responses of some beetle species to varieties of oilseed rape and to pure glucosinolates", *Advances in the production and utilization of cruciferous crops*, Sorensen ed., M. Nijhoff/Dr. Junk publ. Dordrecht, 230-244.
- LERIN J. (1983) : "Sélection variétale du colza et problèmes entomologiques", *Actes du 6^e Cong. Int. sur le colza* (Paris), 1 111-1 113.
- PEDERSEN M.W., SORENSEN E.L., ANDERSON M.J. (1975) : "A comparison of pea aphid-resistant and susceptible alfalfas for field performance, saponin concentration, digestibility, and insect resistance", *Crop Sci.*, 15, 254-256.
- PEDERSEN M.W., BARNES D.K., SORENSEN E.L., GRIFFIN G.D., NIELSON M.W., HILL Jr R.R., FROSHEISER F.I., SONODA R.M., HANSON C.H., HUNT O.J., PEADEN R.N., ELGIN J.H. Jr., DEVINE T.E., ANDERSON M.J., GOPLEN B.P., ELLING L.J., HOWARTH R.G. (1976) : "Effects of low and high saponin selection in alfalfa on agronomic and pest resistance traits and the interrelationship of these traits", *Crop Sci.*, (16), 2, 193-198.

- PIETRASZEK W. (1985) : *Contribution à l'étude des saponines chez la luzerne (M. sativa L.) : rôle antinutritionnel, variabilité génétique, aspects technologiques*, thèse Docteur d'Université, Université Paris-Sud, Orsay, 68 p+annexes.
- PRACROS P. (1988a) : "Mesure de l'activité des saponines de la luzerne par les larves du ver de farine : *Tenebrio molitor* L. (Coléoptère, Tenebrionidae). 1. Comparaison avec les résultats de divers tests biologiques", *Agronomie*, 8, 257-263.
- PRACROS P. (1988b) : "Mesure de l'activité des saponines de la luzerne par les larves du ver de farine : *Tenebrio molitor* L. (Coléoptère, Tenebrionidae). 2. Recherche des fractions de saponines responsables des effets antinutritionnels observés", *Agronomie*, 8, 793-799.

RÉSUMÉ

On a évalué les capacités de multiplication du puceron du pois (*Acyrtosiphon pisum* Harris) sur 6 cultivars de luzerne de teneurs variées en saponines. Cette teneur a été appréciée par un test biologique utilisant le champignon *Trichoderma viride*. En conditions contrôlées (température de 20°C, photophase de 16 heures), les taux nets de reproduction d'adultes aptères du puceron ne diffèrent pas entre les variétés lors des 2 premières semaines de leur vie imaginale. Des prélèvements de populations naturelles du puceron du pois dans un essai bloc installé en conditions agronomiques n'ont pas montré de différence de contamination des variétés durant les 3 années de l'exploitation des parcelles. On en déduit que la teneur globale des variétés en saponines n'est pas un facteur qui détermine le niveau de résistance des cultivars de luzerne au puceron du pois.

SUMMARY

Relationship between the pea aphid and the saponin content of lucerne cultivars

Several authors reported an effect of lucerne saponins on various species of Homoptera ; we therefore tested the reaction of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum* Harris on 6 different cultivars of lucerne, bred either in Europe or the USA. Three groups of cultivars were distinguished according to their saponin contents : those with high levels (cv. Europe, Du Puits), those with medium levels (cv. Lutèce, Ruro), and those with low levels (Lahontan, Robot). The contents were measured by a biological test using the fungus *Trichoderma viride*. The tests were carried out with pea aphids under two different conditions : controlled in a growth chamber, or outdoors in the field. In the growth chamber (temperature : 20°C, photophase : 16 hours), the net reproductive rate of apterous adults on the 14th day of their imaginal life was tested ; there was no difference between the 6 cultivars ; neither did the weight of adults differ on the 7th day of their imaginal life. The trial in the field consisted of a randomized complete block design with 6 replications, which lasted for 3 years. At mid-June, pea aphids were sampled with a sweep net (10 strokes per replicate). Aphid populations were rather low : between 70 and 300 aphids per 10 strokes, but no differences were observed in any year between the mean values of the 6 cultivars. It is concluded that resistance to the pea aphid is not associated with the saponin concentration of the host plant.