

Med. HACHMI Hamza

CHARARAS Constantin

ETUDE DE L'ATTRACTION PRIMAIRE ET DE
LA NUTRITION CHEZ BLASTOPHAGUS
PINIPERDA

Annales Vol.6

Fas. 3

Med. HACHMI Hamza

CHARARAS Constantin

ETUDE DE L'ATTRACTION PRIMAIRE ET DE
LA NUTRITION CHEZ BLASTOPHAGUS
PINIPERDA

Annales Vol.6

Fas. 3

S O M M A I R E

I	INTRODUCTION	1
II	ETUDE DE L'ATTRACTION PRIMAIRE (stimulus olfactif)	3
	EN CONCLUSION	14
III	ETUDE DU STIMULUS GUSTATIF ET DE LA NUTRITION CHEZ BLASTOPHAGUS PINIPERDA	16
	1 ^o Stimulus gustatif	16
	2 ^o La nutrition de Blastophagus piniperda	18
	3 ^o Les activités osidasiques de Blastophagus piniperda	20
	a)- Protocole opératoire	20
	b)- Principaux constituants glucidiques des végétaux	21
	c)- Activités osidasiques des larves et des adultes de blastophagus	21
IV	CONCLUSION ET PERSPECTIVES D'APPLICATION	27

I. INTRODUCTION

Nous nous sommes intéressés à Blastophagus piniperda (Coléoptère Scolytide) dès 1972, époque à laquelle nous avons observé des dégâts considérables provoqués par cet insecte dans certaines forêts de Tunisie telles que la forêt de Remel (région de Bizerte), la forêt de Pinus pinaster de Tabarka et la forêt de pin d'Alep du Boukornine (au sud de Tunis)*.

D'après des travaux antérieurs (CHARARAS, 1962) nous savons que l'extension géographique de cet insecte est très vaste puisqu'il est bien connu en Belgique, en Allemagne, en Autriche, en Hongrie, en Italie, en Russie, en Afrique du Nord, en Turquie, en Grèce et aux Canaries ; plus généralement il se rencontre dans toute la région paléarctique jusqu'au Japon (BALACHOWSKY, 1949) et il a même été introduit en Amérique où il existe actuellement.

Cette vaste répartition géographique pose un problème pour la définition même de l'espèce. Si l'on connaît depuis longtemps Blastophagus piniperda LINNE qui a été étudié dans de nombreux pays, tout récemment LEKANDER a décrit des différences morphologiques entre les larves de Blastophagus piniperda L. et les larves de Blastophagus destruens WOLLASTON. LEKANDER admet que Blastophagus destruens est une espèce de la zone méditerranéenne alors que Blastophagus piniperda est une espèce continentale que l'on rencontre aussi bien en Allemagne que dans les régions montagneuses de la France.

Cette proposition de LEKANDER de considérer Blastophagus destruens comme une espèce différente de Blastophagus piniperda soulève des difficultés de détermination puisque d'après la description donnée par LEKANDER, il n'existe absolument aucun caractère distinctif au stade adulte ; les seules différences signalées portent uniquement sur les pièces buccales des larves. Pour leur part, BALACHOWSKY (1949) et CHARARAS (1962 et 1964) n'établissent pas de distinction morphologique entre ces deux espèces et nous avons déjà

* Une note sera publiée sur l'action des radiations ionisantes et les fluctuations des enzymes chez les larves et les adultes de Blastophagus (CHARARAS et M'SADDA).

vu que, selon BALACHOWSKY, l'aire d'extension de Blastophagus piniperda recouvre toute la région paléarctique et englobe la région méditerranéenne où il le signale expressément. De même SCHEDL a déterminé Blastophagus piniperda dans toutes les provenances (Tunisie, Maroc, Turquie) qu'il a étudiées (SCHEDL in litteris).

Il est à noter cependant qu'à défaut de différenciation morphologique entre les adultes de Blastophagus piniperda et de Blastophagus destruens, nous avons relevé des particularités du cycle biologique respectif de ces deux insectes. Chez Blastophagus piniperda dont le cycle biologique a été précisé par CHARARAS (1962) les adultes sortent dans le courant du mois d'avril, en fonction des localités et des conditions climatiques, et à l'automne les jeunes adultes de la nouvelle génération s'orientent vers les pousses terminales aux dépens desquelles ils effectuent une nutrition complémentaire qui conditionne leur maturation sexuelle ; ils abandonnent ensuite ces pousses pour se diriger vers les arbres en déficience physiologique qui constituent des biotopes de prédilection pour la ponte. Par contre chez Blastophagus destruens les adultes apparaissent en été, à partir du mois de juin, réalisent leur nutrition de maturation durant la période estivale et commencent à pondre en automne ; la ponte peut se poursuivre pendant les mois d'octobre, novembre et parfois même décembre.

Il est important de souligner cette différenciation biologique entre Blastophagus piniperda et Blastophagus destruens mais il reste à résoudre la question de la détermination systématique de chaque espèce, que les systématiciens n'ont pas suffisamment éclaircie à notre sens.

En nous basant sur l'analyse des osidases de différentes provenances de Blastophagus (Tunisie, Maroc, Grèce, Sud de la Turquie, Fontainebleau et Alpes de Haute-Savoie) nous n'avons jamais décelé de différences dans l'équipement osidasique, pas plus pour les α -et β -glucosidases que pour les pectinases ou les amylases. Par ailleurs l'électrophorèse de l'hémolymphe de ces deux espèces sur gel de polyacrilamide n'a fait apparaître de différence ni au niveau des bandes pro-

téiques, ni dans leur position respective. Il faut cependant préciser que si l'on effectue la détermination comparée des bandes de protéines au même moment, on observe des différences qui sont liées au stade d'évolution respectif de chaque espèce, puisque les cycles biologiques sont différents. Nous ne nous étendrons pas plus sur ce sujet que nous développerons ultérieurement pour essayer de différencier les deux espèces par l'étude de leurs enzymes.

Dans les conditions climatiques de la Tunisie, la sortie des adultes de Blastophagus débute dès le mois de mai mais les jeunes adultes doivent encore effectuer une longue nutrition de maturation et c'est en septembre seulement qu'intervient l'installation définitive sur des arbres affaiblis propices à la ponte ; cette installation se poursuit en octobre et novembre et même début décembre si les conditions thermiques restent favorables. Ce sont les femelles qui pénètrent les premières, bientôt rejointes par les adultes mâles et aussitôt après l'accouplement, chaque femelle commence à forer sa galerie de ponte.

Il s'agit d'une espèce typiquement monogame puisque l'on ne trouve dans chaque système de galeries qu'une seule femelle associée à un seul mâle et dans ce cas c'est toujours la femelle qui exerce l'attraction sexuelle.

Nous ne décrirons ni le mécanisme de l'installation, ni le cycle biologique de l'insecte car nous nous proposons d'étudier ici l'attraction primaire puis le stimulus gustatif et la nutrition.

II. ÉTUDE DE L'ATTRACTION PRIMAIRE (STIMULUS OLFACTIF)

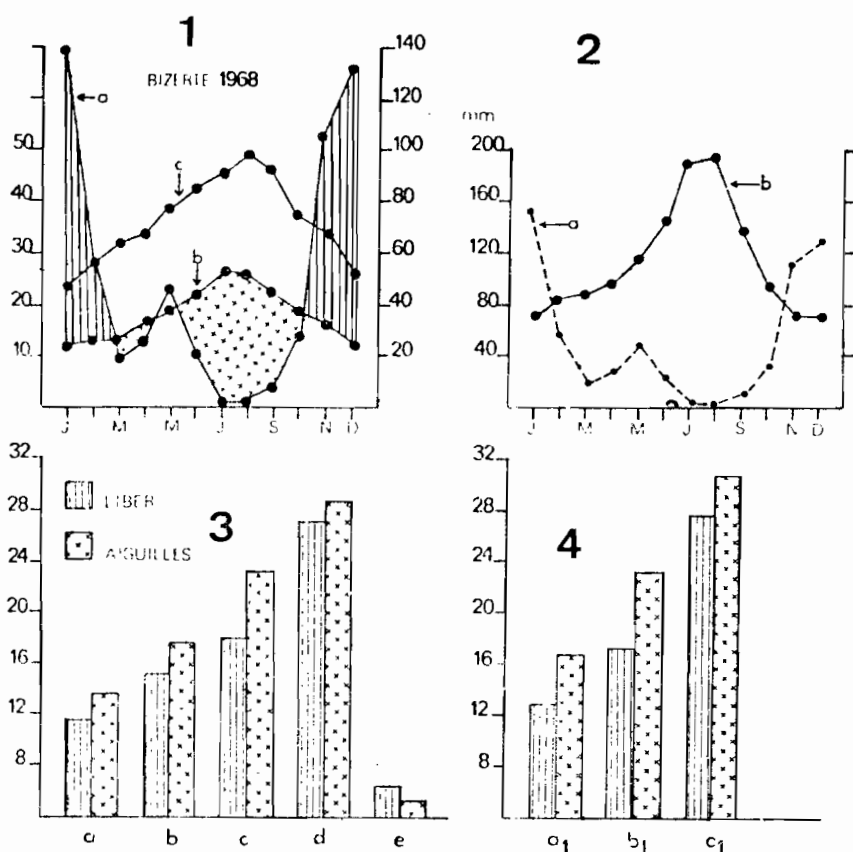
Sous le terme attraction primaire, il faut entendre l'attractivité exercée par les composés du végétal qui agissent au niveau des récepteurs sensoriels de l'insecte pour provoquer la réponse de ce dernier.

De précédents travaux (CHARARAS, 1958, 1961, 1964, 1966, 1967, 1968 et 1969 ; CHARARAS et HAMZA, 1972 entre autres) ont montré que les composés terpéniques exercent une attraction chimique sur divers Scolytides parasites des conifères. Les Pinacées

possèdent en effet des poches résinifères renfermant des huiles essentielles riches en composés terpéniques très différents d'une essence à l'autre et qui caractérisent chaque essence. Nous avons ainsi des conifères riches en α -pinène comme Pinus pinaster, Pinus halepensis et Pinus brutia, d'autres riches en phellandrène (Pinus contorta) ou d'autres encore riches en limonène comme Pinus pinea. On sait maintenant que les Scolytides parasites des conifères réagissent aux signaux attractifs émis par ces constituants terpéniques, qui déterminent la spécificité de ces insectes pour les essences résineuses et plus précisément pour une famille, un genre ou même une espèce botanique déterminés. Blastophagus piniperda ne fait pas exception à cette règle puisqu'il s'attaque de préférence aux Pinus bien qu'il puisse se rencontrer également sur Picea, sur Abies ou même exceptionnellement sur Larix.

Il a été reconnu cependant que les composés terpéniques ne sont attractifs qu'à l'état de traces car à fortes concentrations ils exercent au contraire sur les Scolytides un stimulus répulsif (CHARARAS, 1969, 1970, 1974, 1976 et 1980). Les conifères ont en effet développé tout au long de leur évolution des systèmes de défense contre leurs ennemis naturels, les insectes. Dans ces systèmes de défense, les composés terpéniques interviennent comme des substances allélochimiques assurant une protection lors des agressions parasitaires. Les arbres vigoureux dont les tissus sont en pleine turgescence font preuve d'un très net pouvoir de défense lors de la pénétration des Scolytides, auxquels ils opposent l'obstacle physique de fortes exsudations d'oléorésines, en même temps que l'action toxique de leurs composés terpéniques présents à concentrations élevées.

En approfondissant ses recherches dans ce domaine, CHARARAS (1960 à 1980) a mis en lumière le rôle prépondérant, dans le mécanisme des attaques, de l'équilibre physiologique végétal qui se traduit et peut donc s'apprécier par sa pression osmotique. Au stade de vitalité optimale, les arbres jouissent d'un pouvoir sécrétoire plus élevé que les sujets traversant une période de déséquilibre physiologique. Chez les sujets affaiblis, par la sécheresse ou par de mauvaises con-



LÉGENDE DES FIGURES

- Figure 1** Diagramme climatique de Bizerte pour 1968 a. Courbe des précipitations ; b. Courbe des précipitations mensuelles moyennes ; c. Courbe des températures maximales absolues. En hachures, périodes des précipitations importantes (courbe des précipitations supérieure à celle des températures) ; en pointillés, période aride (courbe des précipitations inférieure à celle des températures). Noter une forte aridité en mars et avril puis de juin à fin octobre (soit 7 mois au total).
- Figure 2** Comparaison de la courbe des précipitations (a) et de la courbe d'évaporation (b) dans la région de Bizerte. Les données relatives à l'évaporation proviennent de la Météorologie Nationale de Tunisie. Noter l'importance de l'évaporation de mai à septembre.
- Figure 3** Histogrammes des variations de pression osmotique chez *Pinus maritima* (= *P. pinaster*). a. Avril 1969 ; b. Fin juin ; c. Juillet ; d. Fin août ; e. Sujet mort en septembre 1970 dont la pression osmotique a été mesurée après les pluies. Noter en a l'optimum ; en b et c l'élévation due à la sécheresse, indice d'un léger affaiblissement ; en d, le stade d'attaques irréversibles.
- Figure 4** Histogrammes des variations de pression osmotique chez *Pinus halepensis* à Remel (secteur de Bizerte). a 1, En avril 1969, b 1, Début juillet ; c 1, Fin août. Il est remarquable de signaler qu'en dépit de l'élévation très importante on ne relève ni attaques, ni affaiblissement marqué.

ditions édaphiques par exemple, il se produit des perturbations physiologiques et notamment une diminution de la turgescence qui détermine une élévation de pression osmotique et une diminution du pouvoir sécrétoire.

Les sujets ainsi affaiblis se caractérisent par un spectre d'odeurs différent de ceux des sujets vigoureux. Lorsque les perturbations atteignent le stade de plasmolyse, la destruction de la membrane cellulaire semi-perméable autorise la pénétration de l'humidité et de microorganismes, dont l'action conjuguée provoque l'oxydation et la polymérisation des constituants terpéniques ; c'est ainsi que l' α -pinène s'oxyde en verbénol (alcool) et en verbénone (cétone) ; il se produit donc une réduction de la teneur en composés terpéniques originels et ces deux phénomènes se conjuguent pour faire de ces arbres des biotopes beaucoup plus attractifs que les sujets vigoureux.

Parmi les composés terpéniques nous avons testé plus particulièrement l' α -pinène le β -pinène, le Δ^3 -carène et le limonène ; tous ces constituants qui exercent sur Blastophagus piniperda un stimulus répulsif à fortes concentrations deviennent nettement attractifs dans les conditions naturelles où ils se trouvent à l'état de traces. Le même pouvoir répulsif de certains terpènes pour Blastophagus piniperda a été signalé également par KANGAS, PERTTUNEN et collaborateurs. Ces auteurs ont effectué leurs essais au printemps sur plusieurs centaines d'insectes immatures, en testant séparément les mâles et les femelles dans des chambres de choix. Ils ont utilisé soit des extraits de liber fractionnés par chromatographie, soit des constituants synthétisés industriellement, en prenant soin de placer les insectes dans des conditions de température et d'humidité constantes. Les essais durent trois heures et les comptages effectués toutes les cinq minutes durant la première et la troisième heures, conduisent aux observations suivantes :

- Blastophagus piniperda est attiré de façon similaire par le terpinéol synthétique et par les fractions qui contiennent l' α -terpinéol ou le Δ^3 -carène (Mierck).
- Contrairement aux conclusions d'autres auteurs (CHARARAS,

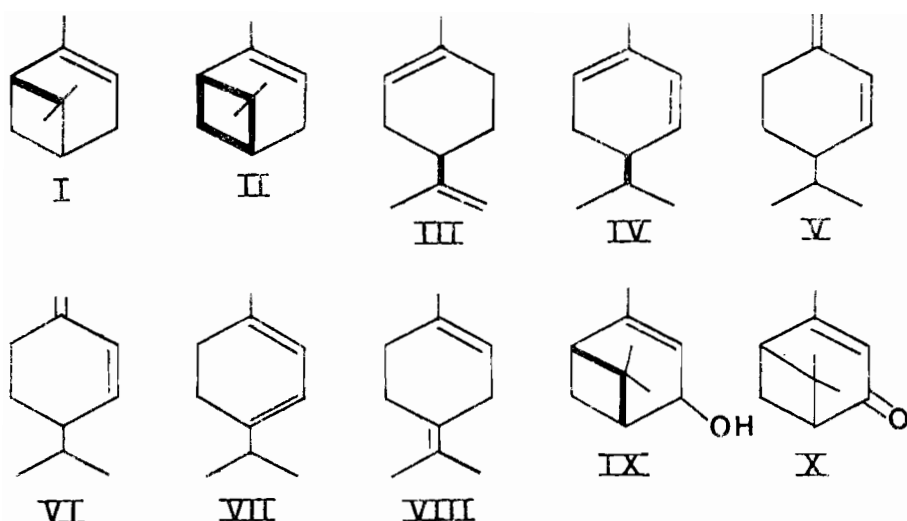


Figure 5 Formule chimique des principaux constituants terpéniques
 I = *d* - α - pinène ; II = *l* - α - pinène ; III = *D* - limonène ;
 IV = *L* - α - phéllandrène ; V = *D* - β - phéllandrène ;
 VI = *L* - β - phéllandrène ; VII = α - terpinène ;
 VIII = terpinolène ; IX = *trans*-verbénol ; X = verbénone.

YASUNAGA), l' α -pinène serait répulsif à fortes concentrations et neutre à faible dose.

- Les concentrations ont une influence importante sur l'attraction
- Le temps de diffusion des substances doit être pris en considération car les réponses sont plus faibles à la première heure qu'à la troisième heure.
- Entrent également en ligne de compte les particularités physiologiques, les insectes en activité (marche, vol) réagissant plus fortement ; de même la réaction diffère suivant le sexe.

En ce qui nous concerne, ni l'olfactomètre de MAC INDO (tube en Y) ni les chambres de choix de KANGAS et PERTTUNEN ne nous ont donné de résultats significatifs pour l'étude de l'olfaction qui se heurte dans ces conditions à de sérieuses difficultés.

Tout d'abord, dans les conditions naturelles, Blastophagus piniperda, comme tous les autres Scolytides, choisit son biotope de sélection en plein vol, ce qui implique la perception de faibles densités de molécules terpéniques au niveau des récepteurs sensoriels et ceci dans une atmosphère ventilée qui n'est jamais saturée. Les composés terpénoïdiques ont une tension de vapeur élevée et il suffit d'à peine 5 mg d' α -pinène, de β -pinène ou de Δ 3-carène pour saturer une enceinte expérimentale d'un volume de 500 ml. Or, lorsque dans un olfactomètre en Y ou dans une cage d'élevage fermée, les insectes se trouvent en présence de fortes densités de composés terpéniques, provoquant rapidement la saturation de leurs récepteurs sensoriels il n'y a pas de réponse positive. Pour essayer de pallier cet inconvénient, nous avons pris soin de n'utiliser que de très faibles quantités de terpènes (5 μ l d' α -pinène). Mais même avec cette faible concentration, si l'on répète l'expérience avec les mêmes insectes, leurs récepteurs déjà saturés ne répondent plus spécifiquement à une substance déterminée, ce qui fausse tous les résultats. Enfin la saturation des récepteurs sensoriels est encore plus rapide en présence d'un mélange de terpènes, α -pinène, β -pinène, Δ 3-carène, phellandène et limonène par exemple.

Dans les conditions naturelles, l'insecte se trouve sous l'influence des molécules volatiles exhalées par les conifères qui, formant autour de chaque arbre un milieu odorant particulier, différent d'un sujet à l'autre suivant la vitalité et la concentration des oléorésines. Le spectre d'odeurs varie d'un sujet à l'autre au sein d'une même essence suivant la vitalité de l'arbre mais aussi suivant les saisons, la température, l'ensoleillement et l'humidité notamment ; tous ces facteurs interviennent pour déterminer le stimulus exercé sur l'insecte. La détermination du spectre d'odeurs à l'aide des osmopiles démontre en effet qu'après une légère incinération, un conifère exhale des vapeurs terpéniques d'abord très concentrées puis de plus en plus réduites. Dans les cellules lésées par cette incinération, les constituants terpéniques s'oxydent rapidement (une quinzaine de jours) et l'on décèle alors la présence de composés différents, tels que des

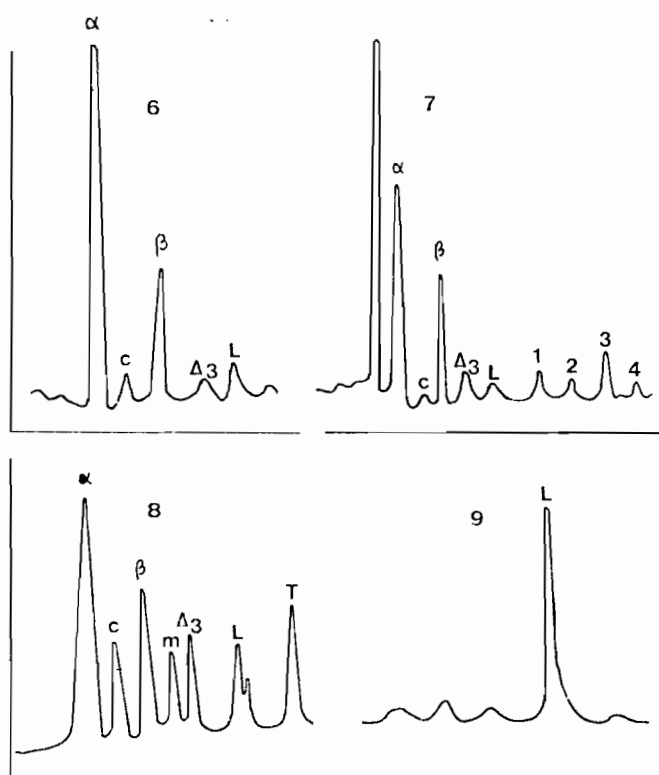


Figure 6 Spectre d'odeurs d'un échantillon de liber de *Pinus pinaster* hautement attractif ; la détermination par osmopile BERTON a été confirmée par chromatographie en phase gazeuse.

Figure 7 Spectre d'odeurs d'un échantillon prélevé sur le même arbre 21 jours après l'abattage ; noter la présence d'un pic alcool (oxydation), ainsi que la formation de nombreux composés non déterminés (1, 2, 3 et 4). Ces quatre derniers composés sont vraisemblablement formés sous l'action des bactéries du tube digestif provoquant des bioconversions. Notons que l'arbre exerce alors une très forte attraction sur les insectes.

Figure 8 Spectre d'odeurs de *Pinus brutia* très attractif ; remarquer le profil nettement différent du précédent.

Figure 9 Spectre d'odeurs de *Pinus pinea* attractif ; noter la présence caractéristique de limonène

α = α -pinène ; β = β -pinène ; c = camphène ; Δ_3 = Δ_3 carène ; m = myrcène ; L = limonène ; T = terpinéol
alc = alcool.

alcools. Par ailleurs, après pulvérisation avec du permanganate de potassium ou du résinate de cobalt, nous avons enregistré une attraction nettement plus forte qui pourrait s'expliquer par l'oxydation des composés terpéniques.

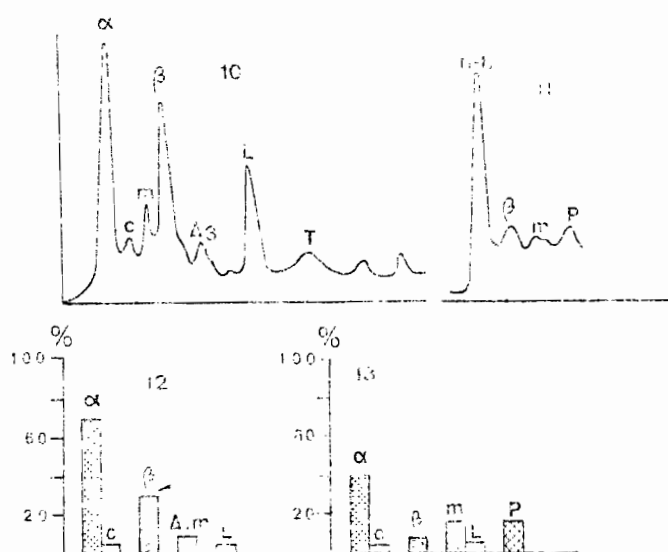


Figure 10 Osmodiagramme de *Pinus taeda* (échantillon hautement attractif)
Tr = terpinène ; les autres composés sont figures comme dans
l'osmodiagramme précédent.

Figure 11 Osmodiagramme de *Pinus jeffreyi* faisant apparaître la prédominance
du n-heptane (n-h).

Figure 12 Histogramme figurant les taux des principaux constituants
monoterpéniques dans l'aubier et le liber de *Pinus maritima*
de Tabarka (Tunisie). α = α -pinène ; c = camphène ;
 β = β -pinène ; Δm = Δ_3 -carène et myrcène ;
L = limonène.

Figure 13 Même histogramme établi pour *Pinus coulteri* (essence intro-
duite) dans l'Arboretum de Souiniet ; précisons que l'arbre
étudié exerçait une attraction nettement positive sur
Blastophagus piniperda.

Un dispositif expérimental constitué par un support cellulose imprégné de divers constituants terpénoïdiques, avec addition d'une substance adhésive (glu) nous a permis de mettre en évidence l'orientation préférentielle des Scolytides vers les panneaux ainsi installés en pleine forêt. Par ailleurs nous avons vérifié le pouvoir attractif des terpènes extraits de Pinus pinaster (α -pinène, β -pinène et Δ 3-carène notamment) dans les conditions naturelles, alors qu'au cours des expériences en laboratoire les mêmes produits deviennent répulsifs aux mêmes concentrations.

Blastophagus piniperda est attiré par les constituants terpéniques de Pinus pinaster mais il ne s'agit pas d'une attraction spécifique car l'expérimentation nous a montré que d'autres composés terpéniques peuvent exercer sur cet insecte un stimulus attractif comparable, notamment les constituants caractéristiques des oléorésines de Pinus sylvestris, Pinus taeda, Pinus coulteri, Pinus patula, Pinus contorta, Pinus nigra et Pinus brutia pour ne citer que quelques exemples.

Répartition préférentielle de Blastophagus piniperda L. sur différents Pinus.

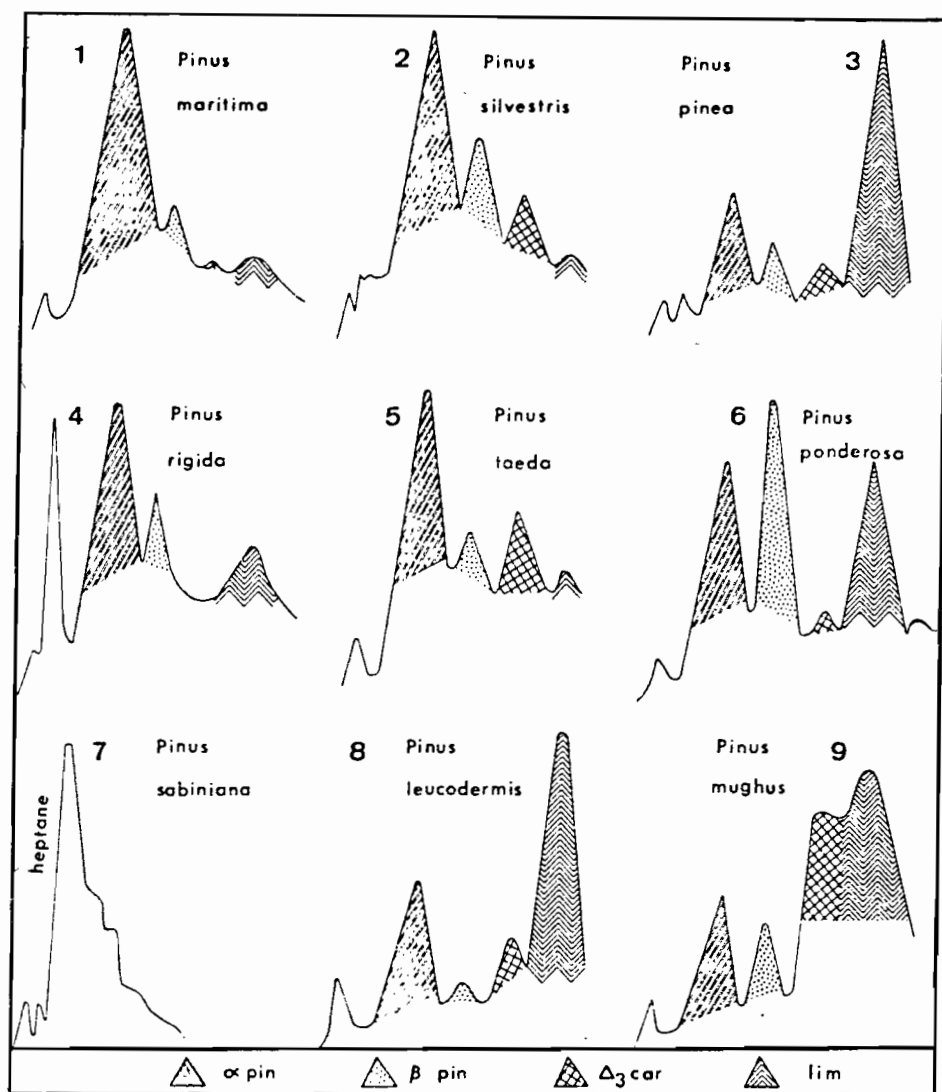
Mesures de nutrition sur	<u>Pinus pinaster</u> Sol.	<u>Pinus sylvestris</u> L.	<u>Pinus pinea</u> L.	<u>Pinus rigida</u> Mill.	<u>Pinus taeda</u> L.	<u>Pinus ponderosa</u> Dougl.	<u>Pinus sahliniana</u> Dougl.	<u>Pinus leucodermis</u> Ant.	<u>Pinus mughus</u> Scop.
Évolution initiale sur									
<u>Pinus sylvestris</u> L. 94 insectes ont réagi 6 sans réaction	16	28	7	9	13	6	0	7	8
<u>Pinus pinaster</u> Sol. 91 insectes ont réagi 9 sans réaction	21	23	9	7	12	5	0	6	6
<u>Pinus pinea</u> L. 96 insectes ont réagi 4 sans réaction	15	17	14	11	9	9	0	10	11

(100 insectes en expérience - moyenne de trois tests)

Il ressort de ce tableau que Blastophagus piniperda ne montre pas de stricte spécificité puisqu'en présence de différents échantillons de conifères les adultes ne choisissent pas systématiquement une essence déterminée. On note une préférence pour Pinus silvestris lorsque les adultes ont évolué initialement sur cette essence mais de nombreux autres Pinus exercent également un pouvoir attractif comme nous avons pu le constater pour Pinus pinea, Pinus pinaster, Pinus rigida, Pinus taeda, Pinus ponderosa et Pinus magnus. Signalons toutefois l'absence de toute attractivité chez Pinus sabiniana, essence très riche en n-heptane.

Afin de faciliter la comparaison entre diverses essences résineuses, nous avons illustré par des osmodiagrammes les résultats de nos expériences sur le stimulus attractif exercé sur Blastophagus piniperda par les principaux composés terpéniques.

Il existe cependant des conifères qui n'attirent jamais Blastophagus piniperda et c'est le cas notamment de Pinus sabiniana, essence californienne introduite au Maroc dans l'arboretum d'Ouazzane ou de Pinus jeffreyi. Les analyses par osmopiles et par chromatographie en phase gazeuse nous ont permis de constater que ces deux essences renferment du n-heptane qui a toujours exercé une action répulsive sur tous les Scolytides étudiés (CHARARAS, 1968). En revanche, pour les autres conifères, il est impossible d'établir de distinction entre Pinus pinea très riche en limonène, Pinus sylvestris dans lequel prédomine l' α -pinène (65%) ou Pinus brutia et Pinus halepensis dont le spectre d'odeurs est formé essentiellement d' α -pinène (95%), puisque malgré leur spectre d'odeurs différent toutes ces essences exercent une attraction comparable dans les conditions naturelles. Une place à part doit être réservée à Pinus taeda car si dans son aire naturelle cette essence n'a jamais été attaquée par Blastophagus piniperda, en Tunisie elle a pu constituer un biotope de sélection lorsqu'elle a été introduite dans un secteur où Blastophagus piniperda se trouvait au stade de pullulation ; c'est ainsi que sur un tronc de Pinus taeda mesurant 4 mètres de hauteur sur 12 cm de diamètre,



Osmodiagrammes de neuf *Pinus* qui ont constitué des biotopes de nutrition pour *Blastophagus piniperda* L. à la seule exception de *Pinus sabiniana* dont le spectre d'odeurs est totalement différent de celui des autres *Pinus* (présence d'heptane).

Parmi ces huit essences, la nutrition s'effectue de préférence sur *Pinus maritima* et *Pinus silvestris*, moins souvent sur *Pinus pinea* ; les autres essences ont été infectées par voie expérimentale.

Noter que *Pinus rigida*, *Pinus taeda*, *Pinus ponderosa* et *Pinus sabiniana* sont des essences américaines tandis que *Pinus leucodermis* croît dans le Sud de l'Italie et des Balkans et *Pinus mughus* dans les Alpes orientales et les Balkans.

nous avons pu dénombrer 350 orifices de pénétration de Blastophagus piniperda. Par contre, lorsque Pinus taeda végète dans des conditions optimales (Souiniet), les infections expérimentales effectuées en septembre et octobre 1972 nous ont donné des résultats tout à fait différents puisque les insectes ont été étouffés par le flux d'oléorésines alors qu'ils pratiquaient leurs morsures de pénétration, ce qui confirme la vitalité optimale de cette essence, attestée par une pression osmotique du liber de 11 atmosphères.

Enfin, si Pinus coulteri n'est jamais non plus attaqué par Blastophagus piniperda dans les conditions naturelles, nous avons constaté que les composés volatils de cette essence ne sont pas pour autant répulsifs puisque des troncs transférés aux fins d'expérience dans un secteur de pullulation de Blastophagus (forêt de Remel en 1972) se sont trouvés attaqués quatre jours après leur introduction dans cette forêt; il en va de même pour d'autres essences qui n'ont jamais constitué des biotopes naturels, notamment pour Pinus attenuata, pin exotique que CHARARAS a eu l'occasion d'étudier en 1976 au Maroc où cette essence a été introduite il y a quelques années.

EN CONCLUSION

1. De toutes nos recherches sur ce sujet, nous pouvons conclure que Blastophagus piniperda n'est pas un insecte parasite spécifique d'une essence résineuse déterminée ; il attaque indifféremment des conifères riches en α -pinène, en Δ^3 -carène, en limonène, en phellandène ou même en méthylchavicol (Pinus taeda).
2. L'action synergique de plusieurs composés terpéniques ne modifie pas le stimulus olfactif puisque les conifères que nous avons étudiés renferment des composés terpéniques différents (cf. osmogrammes).
3. Dans les conditions naturelles, tous les conifères étudiés ont une action répulsive lorsqu'ils se trouvent au stade de vitalité opti-

male. Les infections expérimentales ont démontré que Blastophagus piniperda se trouve dans l'impossibilité de pénétrer dans le liber des sujets vigoureux, qui opposent aux insectes l'obstacle physique que constitue le flux intense des oléorésines sécrétés activement par les cellules résinifères en pleine turgescence.

4. Par contre, chez les sujets en déficience physiologique même passagère, la diminution de la turgescence et de la quantité d'eau dans le liber (diminution de 35%) rend ces arbres propices à l'installation de Blastophagus piniperda car ils ne peuvent plus opposer de défense suffisante à la pénétration des insectes.

5. Les oléorésines constituent pour les conifères des composés allélochimiques ou allomones qui jouent un rôle favorable au végétal en participant à sa défense mais ces mêmes composés peuvent constituer également dans certaines conditions des signaux qui guident les insectes vers les arbres propices à leur installation.



III. ÉTUDE DU STIMULUS GUSTATIF ET DE LA NUTRITION CHEZ BLASTOPHAGUS PINIPERDA

Au moment de leur pénétration dans le liber, les adultes de Blastophagus se trouvent en contact avec les composés terpéniques mais aussi avec d'autres constituants très complexes tels que les composés phénoliques, la cellulose, les héli-celluloses ou la lignine ; le déclenchement de la nutrition dépend alors du stimulus gustatif puisqu'en présence de composés dépourvus d'action gustative il n'y a ni prise de nourriture ni poursuite de l'alimentation. Le stimulus gustatif revêt donc une grande importance et c'est pourquoi nous étudierons séparément le stimulus gustatif et la nutrition.

1⁰ -- Stimulus gustatif

Chaque insecte manifeste des préférences alimentaires spécifiques. Certains Scolytides montrent une préférence pour l'Ulmus (orme) comme c'est le cas de Scolytus scolytus et Scolytus multistriatus, d'autres pour le chêne (Quercus) comme Scolytus intricatus; dans le cas de Blastophagus piniperda, les extraits de liber des conifères et notamment des Pinus (Pinus pinaster, Pinus pinea, Pinus canariensis) exercent un stimulus gustatif très net sur cet insecte même en l'absence de composés terpéniques. Les analyses réalisées par chromatographie sur papier à partir de la sève extraite par simple pression (250 kg/cm²), sans intervention de solvant, nous ont montré la présence de glucides tels que le glucose, le saccharose, le fructose et le raffinose ; dans certains échantillons nous avons déterminé également la présence d'arabinose et de xylose (CHARARAS, 1960) .

On sait par ailleurs que les végétaux renferment de nombreux autres constituants glucidiques avec des aldopentoses comme l'arabinose (produit d'hydrolyse des arabanes) et le xylose (produit d'hydrolyse des xylanes), des aldohexoses comme le mannose lié aux mannanes, des cétohexoses comme le fructose, des triholosides comme le raffinose ou des tétraholosides comme le stacchiose.

Tous ces composés glucidiques possèdent une double action, à la fois nutritionnelle et gustative, notamment le glucose, le saccharose et le fructose qui exercent toujours, même à des concentrations peu élevées (0,5 à 2%) le stimulus gustatif qui déclenche la nutrition des insectes.

Peuvent également intervenir dans le stimulus gustatif d'autres constituants, notamment divers hétérosides et divers composés phénoliques (flavones et flavonoïdes) ; parmi les hétérosides nous avons testé le picéoside (extrait de l'épicéa) dont l'action gustative se manifeste à très faible concentration (0,002g/ml) ; les composés phénoliques séparés par chromatographie sur papier exercent également un stimulus gustatif nettement positif.

L'appétence peut se définir comme la tendance qui pousse l'insecte à une série d'actes organisés lui permettant d'accomplir sa nutrition. Les substances agissant sur le stimulus gustatif ont donc une importance comparable à celle des substances qui sont à l'origine du stimulus olfactif car si l'insecte choisit son biotope sous l'action des composés volatils, il ne peut entreprendre sa nutrition qu'en présence de constituants exerçant un stimulus gustatif.

Comme le stimulus olfactif, le stimulus gustatif n'apparaît pas lié à une substance déterminée et nous avons constaté au contraire que différents glucides exercent une influence sur le stimulus gustatif, comme d'ailleurs divers composés phénoliques. En revanche, il suffit qu'il existe une substance inhibitrice du stimulus gustatif pour que la nutrition se trouve inhibée. L'expérimentation nous a montré que Blastophagus piniperda peut exercer sa nutrition sur de nombreux conifères mais chez aucune des essences étudiées les analyses de la sève élaborée ne nous ont permis de mettre en évidence l'existence d'une substance inhibitrice du stimulus gustatif.

Les extraits d'essences feuillues telles qu'Esculus hippocastanum, Fraxinus excelsior, Populus 1214, Salix caprea, Salix viminalis, Eucalyptus maideni, E. diversicolor, E. maculata, E. sargenti, E. astringens,

E. camaldulensis ou E. saligna n'exercent jamais de stimulus gustatif sur Blastophagus piniperda mais il existe néanmoins à l'origine une action gustative liée à la présence de certains composés glucidiques. Toutefois les tentatives d'élevage sur des échantillons de ces différents feuillus n'ont jamais donné de résultat positif, ce qui montre bien que Blastophagus est un parasite spécifique des conifères ; précisons que Blastophagus est une espèce oligophage dont la spécificité étroite se limite à des conifères renfermant des constituants très voisins.

Certains composés volatils des conifères peuvent agir non seulement sur les antennes de l'insecte mais également sur les organes gustatifs, c'est ainsi que la présence dans la sève de composés terpéniques à forte concentration ne constitue pas un milieu favorable à la nutrition ; en mélange avec les extraits glucidiques et phénoliques du liber, le camphène, le terpinéol, le terpinolène, les α - et β -pinènes ou le Δ^3 -carène provoquent une inhibition gustative. Le déclenchement et la poursuite de l'alimentation se trouvent donc sous l'influence conjuguée de constituants phytochimiques très différents qui règlent le comportement appétitif et nutritionnel de l'insecte.

2⁰ La nutrition de *Blastophagus piniperda*

Avant la ponte, les adultes de Blastophagus piniperda doivent effectuer une nutrition de maturation sur les bourgeons ou les jeunes pousses terminales ; dans les régions continentales ou dans les secteurs de montagne, c'est en automne seulement qu'a lieu cette nutrition de maturation, qui se situe au contraire en plein été dans la zone méditerranéenne. Indispensable pour permettre aux insectes d'acquérir leur maturité physiologique, cette nutrition demande un temps variable, de un à deux mois en moyenne mais parfois plus de deux mois, suivant les conditions climatiques. Très riches en constituants glucidiques, les pousses terminales offrent aux insectes une haute teneur en glucides solubles (glucose, fructose, saccharose, raffinose) et en amidon car les insectes adultes s'enfoncent jusqu'à la moelle. Après cette nutrition de maturation, les adultes quittent les pousses termi-

nales pour se diriger vers les arbres affaiblis ou les troncs fraîchement abattus sur lesquels a lieu l'installation définitive en vue de la ponte.



Figure 13 bis *Galleries maternelles et galeries larvaires de*
Blastophagus piniperda, Scolytidae monogame

Nous ne traiterons pas ici de l'attraction sexuelle, exercée par les femelles sur les mâles puisqu'il s'agit d'une espèce monogame ; nous nous bornerons à rappeler que le mâle rejoint la femelle qui a la charge de forer l'orifice de pénétration et sitôt après l'accouplement la

femelle effectue sa ponte en déposant ses oeufs un par un dans de petites encoches, de chaque côté d'une galerie longitudinale qu'elle creuse au fur et à mesure de sa progression ; dès l'éclosion des oeufs,

les larves néonates commencent à effectuer leur nutrition dans le liber riche en glucides solubles. Il y a donc lieu de distinguer en pratique quatre phases de nutrition :

- nutrition des adultes sur les pousses terminales en vue de la maturation ;
- nutrition des adultes au moment où ils creusent les galeries de ponte ;
- nutrition des larves ;
- nutrition au stade de jeune adulte immature, sur le biotope de ponte.

3⁰ Les activités osidasiques de *Blastophagus piniperda*

a) — Protocole opératoire

- Prélèvement du tube digestif des larves et des adultes, séparément, au cours des phases nutritionnelles caractéristiques.
- Broyage des tubes digestifs en vue de libérer les enzymes
- Préparation d'une solution du broyat dans le sérum physiologique à raison de 1g de tissu digestif pour 10 cc de sérum.
- Centrifugation à 18 000 tours/minute
- Mesure du taux de protéines au biuret.
- Préparation des solutions de substrats + enzymes + tampon.
- Incubation pendant 12 heures suivant la nature du substrat.
- Détermination des sucres libérés sous l'action de l'enzyme par la méthode Nelson-Somogyi et la méthode de la glucose-oxydase.

Les produits de l'hydrolyse ont été caractérisés par chromatographie sur papier en utilisant comme solvant de migration isopropanol

+ n-butanol + eau et comme révélateur l'orthophénylène-diamine. Ont été également utilisés comme révélateurs les réactifs au nitrate d'argent de Trévélyan, les réactifs au triphényl-tétratosodium ou les réactifs à l'oxalate d'aniline. Enfin pour la détermination des cétones nous avons eu recours au réactif spécifique à l'urée chlorhydrique de Dedonder.

b) -- Principaux constituants glucidiques des végétaux

A côté des glucides solubles dont nous avons déjà parlé, le liber et l'aubier des arbres renferment des polysaccharides très divers, parmi lesquels l'amidon constitue le principal polyoside de réserve des végétaux. Constituant essentiel de la lamelle moyenne des cellules végétales, les pectines sont formées de galactanes ; les hémicelluloses sont des composés complexes de pentosanes et d'hexosanes qui donnent naissance à des xylanes, des glucuronoxylanes, des arabinogalactanes ou des glucuronoarabinogalactanes. Dans les membranes des tissus végétaux, les chaînes d'hémi-celluloses s'enchevêtrent avec les chaînes de pectines et les chaînes de cellulose ; cette dernière résulte de la condensation d'unités de cellobiose soit comme pyranique par liaisons β (1 --- 4).

c) -- Activités osidasiques des larves et des adultes de Blastophagus

Nous avons groupé dans le tableau ci-après les activités osidasiques sur divers oligosaccharides, hétérosides et polysaccharides.

On voit que les larves comme les adultes possèdent des activités enzymatiques très importantes sur le saccharose et le maltose mais aussi sur certains polysaccharides tels que la laminarine, la glucomanane, l'amidon, la pectine et la carboxyméthylcellulose.

L'activité apparaît beaucoup plus faible sur xylane, avec 29% pour les larves et 26% pour les adultes mais il est à noter que le xylane est une hémicellulose à structure complexe. Il en va de même pour l'hémicellulose B 7, tandis que le taux d'hydrolyse de la cellulose est pratiquement nul (3 à 4%), ce qui montre que les larves et les

**Tableau 1 : ACTIVITÉS OSIDASQUES DES LARVES ET ADULTES DE
BLASTOPHAGUS PINIPERDA (sp. méditerranéenne). LES
ACTIVITÉS SONT EXPRIMÉES EN POURCENTAGE
D'HYDROLYSE DES SUBSTRATS**

Substrats glucidiques	Pourcentage d'hydrolyse	
	Adultes	Larves
Saccharose	100	68
Lactose	15	17
Maltose	67	58
Raffinose	3	3
Mélézitose	14,2	6
Cellobiose	11	10
β - méthyl-glucoside	25	38
α - méthyl-galactoside	15	17
Laminarine	100	100
Glucomannane	85	87
Galactomannane	8	12
Amidon	65	78
Pectine	98	85
Carboxyméthyl-cellulose	62	67
Xylane	26	29
Hémicellulose	12	16

adultes de Blastophagus peuvent utiliser pour leur nutrition des substances polysaccharidiques variées, à l'exclusion de la cellulose qui reste inutilisable par cet insecte.

Parmi les polysaccharides, l'amidon constitue d'amylose et d'amylopectine peut être utilisé d'une façon active, comme d'ailleurs la pectine formée de chaînes de galactane, d'arabane et de galacturonane, ainsi que les hémicelluloses. On sait que les hémicelluloses sont classées en trois catégories, selon que leur structure comporte essentiellement des unités de xylose (xylanes, glucuronoxylanes et glucuronoarabo-xylanes), des unités de mannose (galactomannanes et galactoglucomannanes) ou des unités de galactose (arabinogalactanes et glucuronoarabino-galactanes). L'hydrolyse partielle d'une hémicellulose conduit à des oligosaccharides possédant un groupement uronyl à leurs extrémités non réductrices, les glucuronosylxyloses.

Les galactomannanes se composent d'une chaîne centrale d'unités de β -mannopyranosyl liées en 1 $\rightarrow$ 4 et s'hydrolysent sous l'action de deux groupes d'enzymes, les α -galactosidases et les β -mannanases.

Les hémicelluloses à chaînes de xylanes se rencontrent dans les végétaux lignifiés, les xylanes formant la transition entre les celluloses et les autres hémicelluloses ; c'est pour cette raison que le xylose ne se trouve que faiblement hydrolysé par les enzymes de Blastophagus.

Très répandue chez les végétaux (42 à 45% chez les conifères) la cellulose n'est pas hydrolysable par les enzymes digestives de Blastophagus. En effet cet insecte qui vit dans les arbres encore en sève trouve dans ces biotopes de nombreux glucides solubles ou moins complexes et n'a donc pas besoin d'utiliser les constituants très complexes comme la cellulose, qui est au contraire utilisée par d'autres insectes xylophages spécifiques des bois dégradés, notamment divers Cerambycidae, comme Phoracantha semipunctata par exemple.

En dehors de l'activité enzymatique sur les substrats précédents, nous avons employé les substances chromogènes spécifiques pour vérifier la nature de chaque osidase :

- 1.- P. Nitrophényl - α - D glucopyranoside(spécifique de l' α - glucosidase)
- 2.- P. Nitrophényl - β - D glucopyranoside(spécifique de la β - glucosidase)

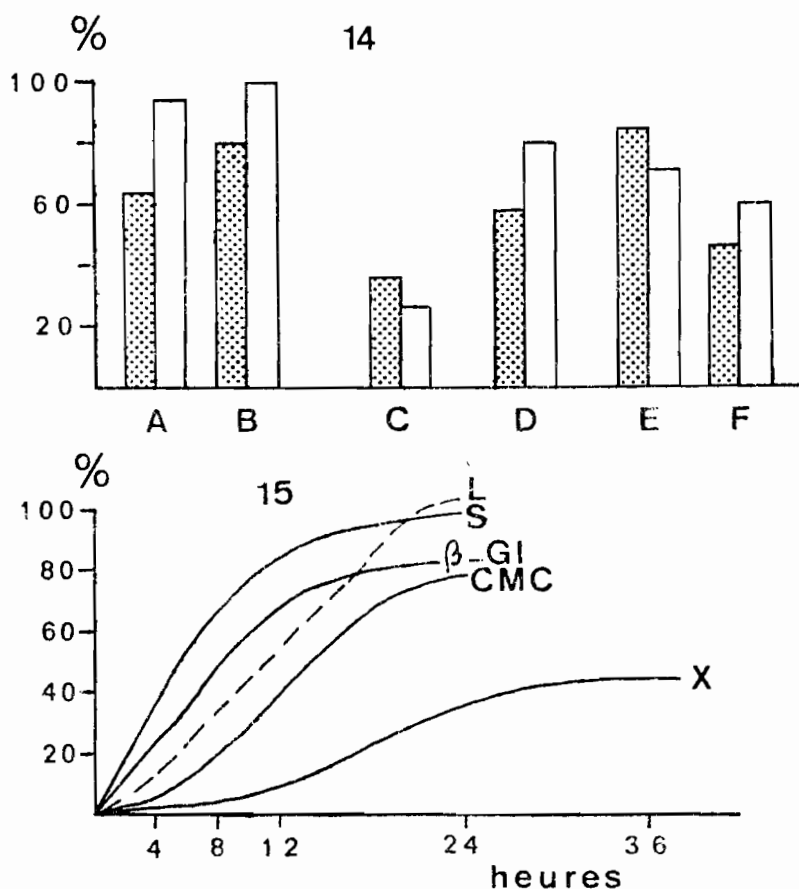


Figure 14 Fluctuations de certaines osidases de *Blastophagus piniperda* suivant le stade évolutif.

- A = invertase chez les insectes en pleine activité nutritive ;
 B = invertase chez les larves 4^{ème} stade et les adultes parvenus à complet développement ;
 C = β - glucosidase chez les larves et adultes en hibernation ;
 D = β - glucosidase chez les larves et adultes en activité nutritive ;
 E = amylase chez les larves et adultes en activité nutritive ;
 F = amylase chez les larves et adultes en quiescence.

Figure 15 Fluctuations de certaines osidases de *Blastophagus piniperda* en fonction du temps d'incubation.

- S = invertase
 β = β - glucosidase
 L = laminarine
 CMC = carboxyméthylcellulose
 X = xylane

- 3.- P. Nitrophényl - α - D galactopyranoside(spécifique de l' α galactosidase)
- 4.- O. Nitrophényl - β - D galactopyranoside(spécifique de la β - galactosidase)
- 5.- P. Nitrophényl - α - D mannopyranoside(spécifique de l' α - mannosidase)
- 6.- P. Nitrophényl - β - D xylopyranoside (spécifique de la β - xylosidase).

Nous avons préparé des solutions de chacun de ces substrats en diluant respectivement 150 mg du produit dans 5 ml d'eau distillée ; au moment de l'étude des osidases nous prélevons 50 μ l de la solution enzymatique de l'insecte en ajoutant 50 μ l du réactif et 30 μ l de tampon.

Après incubation de 10 minutes ou de 5 minutes, suivant l'activité de l'osidase étudiée, nous ajoutons du carbonate de sodium (3 ml. à 2%) et nous lisons la densité optique à 400 nm. La coloration jaune est immédiate et précise pour chaque osidase étudiée, par la libération du nitrophénol. Cette méthode nous a permis de déterminer d'une façon précise la nature de chaque osidase.

Nous donnons ci-joint un tableau concernant l'activité spécifique exprimée en m.moles de nitrophénol libéré par mg de protéines présentes.

Tableau 2 : ACTIVITÉ SPÉCIFIQUE DES OSIDASES DE BLASTOPHAGUS ADULTE

Substrats	Activité spécifique
P.N.P. α - D - glucopyranoside	32
P.N.P. β - D - glucopyranoside	9,5
P.N.P. α - D - galactopyranoside	0,5
O.N.P. β - D - galactopyranoside	17,2
P.N.P. α - D - mannopyranoside	3,7
P.N.P. β - D - xylopyranoside	1,3

Du point de vue nutritionnel, les adultes et les larves de Blastophagus piniperda sont en mesure d'utiliser, grâce à leur équipement enzymatique très complet, divers polysaccharides, amidon, pectine et hémicelluloses mais cet insecte tire l'essentiel de son potentiel énergétique du saccharose, qui constitue un diholoside très important pour le métabolisme nutritionnel des larves et des adultes.

Comme nous le montre le tableau 2, larves et adultes possèdent des β -glucosidases, des β -galactosidases, des α -mannosidases et des β -xylosidases, équipement enzymatique qui leur permet d'utiliser un très large éventail de constituants du bois. Sur milieux synthétiques, nous avons constaté que cet insecte peut survivre même en l'absence de saccharose, sur des substances telles que l'amidon et les hémicelluloses mais le développement des adultes n'en dépend pas moins et avant tout de la présence des oligo-saccharides qui constituent la principale source énergétique. Toutefois, si les glucides jouent un rôle essentiel dans la nutrition, nos recherches sur milieux synthétiques ont montré que certains acides aminés sont indispensables, comme l'arginine, la leucine, la lysine, la méthionine, le triptophane ou la tyrosine entre autres. De même certains constituants lipidiques des végétaux, tels que l'acide palmitique, l'acide stéarique, l'acide caprylique et des acides gras insaturés comme l'acide oléique et l'acide linoléique, interviennent eux-aussi dans le processus de nutrition de Blastophagus.

Enfin, en ce qui concerne les vitamines du groupe B, nous avons pu vérifier que la thiamine, la riboflavine, la pyridoxine et l'acide panthénique, ont joué un rôle favorable dans le développement des larves de Blastophagus piniperda. Il n'est pas exclu que ces vitamines soient élaborées par les micro-organismes du tube digestif, bien que chez Blastophagus piniperda il n'existe pas de mycétomes nettement différenciés comparables à ceux que CHARARAS(1956) a décrits chez les insectes Curculionides. Selon cet auteur la présence de ces micro-organismes contribuerait sans doute à l'élaboration de métabolites indispensables au développement des insectes xylophages.

IV. CONCLUSION ET PERSPECTIVES D'APPLICATIONS

Les recherches sur le spectre d'odeurs et la dispersion des molécules volatiles qui déterminent l'attraction primaire (stimulus olfactif) et les recherches sur la nutrition de Blastophagus piniperda permettent d'envisager certaines possibilités d'application pratique des résultats obtenus.

Connaissant le comportement de Blastophagus piniperda qui s'oriente au moment de la ponte vers les arbres en légère déficience physiologique, connaissant l'attraction massive exercée par la femelle sur les arêtes mâles et connaissant le rôle des composés terpéniques des conifères dans l'orientation des insectes, on pourrait envisager de procéder à une sélection préalable des essences, en vue de favoriser l'implantation et l'extension des conifères qui ne sont pas propices à l'installation de Blastophagus piniperda. Il serait également intéressant de rechercher les hybrides ou les provenances qui renferment des composés terpéniques répulsifs pour cet insecte. On sait par exemple, par les travaux de SMITH et de CHARAPAS (1966, 1969 et 1972) que Pinus jeffreyi n'est pas attaqué par les Scolytides, à la seule exception de Dendroctonus jeffreyi, parasite spécifique de cette essence aux Etats-Unis.

Puisqu'il a été démontré que certains composés terpéniques exercent non seulement une action répulsive mais aussi une action toxique, nous proposons d'utiliser les résultats de ces recherches pour sélectionner des essences qui ne sont pas des biotopes favorables aux Scolytides.

Par ailleurs, sachant que les Scolytides sont en général des parasites de faiblesse qui s'attaquent aux arbres en déficience physiologique, la sélection de conifères bien adaptés aux conditions méditerranéennes, c'est-à-dire supportant une forte sécheresse prolongée, constitue un excellent moyen pour préserver la vitalité des arbres. En combinant ces deux éléments, action répulsive des constituants végétaux et adaptation aux facteurs du milieu, il est possible de procéder à la sélection

tion d'essences qui soient à la fois résistantes aux conditions écologiques assez sévères des régions méditerranéennes et non propices à l'installation de Blastophagus piniperda.



