



**SCIENCES
DE LA NATURE
AGRONOMIE**

Des Recherches pour une meilleure gestion des pesticides en agriculture:

Étude de l'apparition et de la propagation de la résistance aux herbicides chez le Vulpin des champs

■ Christophe DÉLYE
delye@dijon.inra.fr
■ Yosra MENCHARI
■ Séverine MICHEL
■ Annick MATÉJICEK
■ Valérie LE CORRE
(INRA, UMR Biologie et Gestion des Adventices, Dijon)

L'emploi intensif d'herbicides en agriculture présente un risque non négligeable pour l'environnement, principalement pour la qualité des eaux. Nos recherches ont pour but d'optimiser l'efficacité des traitements herbicides tout en limitant les doses. Or, depuis les années 1980, l'apparition et l'extension de populations de mauvaises herbes devenues résistantes aux herbicides conduit à des traitements réalisés en vain et à une multiplication des molécules utilisées. Ce phénomène concerne des espèces très nuisibles comme le Vulpin des champs, une graminée responsable de pertes économiques importantes en grandes cultures (céréales, colza, pois...) qui est particulièrement répandue en Bourgogne. Les herbicides les plus utilisés contre le Vulpin sont les inhibiteurs de l'acétyl-coenzyme A carboxylase (ACC), un enzyme intervenant dans la synthèse des acides gras. La résistance du Vulpin à ces herbicides est en forte expansion et peut causer des échecs complets de désherbage.

Comme il n'est pas possible de gérer de manière globale ou préventive des systèmes que l'on ne connaît pas, nous avons entrepris une étude pluridisciplinaire afin 1) d'identifier les bases génétiques de la résistance aux herbicides et 2) de comprendre la dynamique de l'évolution de cette résistance dans les populations de Vulpin.

Bases génétiques de la résistance liée à la cible

La résistance aux herbicides peut faire appel à deux types de mécanismes. Le plus évident est la résistance liée à la cible. Un herbicide agit sur une cible cellulaire, en général un enzyme (ici, l'ACC). Toute mutation dans le gène codant pour cet enzyme qui aboutira à une réduction de l'action de l'herbicide sur sa cible enzymatique sans trop altérer l'activité intrinsèque de celle-ci pourra donc conférer une résistance à l'herbicide. Un autre type de résistance

est la résistance métabolique, aussi appelée résistance par détoxication. Ce type de résistance se fait par une ou des mutations conduisant à l'acquisition par une plante de voie(s) métabolique(s) de dégradation de l'herbicide. Au niveau d'une espèce végétale, voire d'une plante donnée, la résistance par détoxication est en général sous le contrôle de plusieurs gènes, ce qui la rend difficile à étudier. Nous avons donc entrepris l'étude de la résistance aux herbicides inhibiteurs de l'ACC chez le Vulpin par son aspect a priori le plus simple : la résistance liée à la cible. L'étude comparée de la séquence du gène de l'ACC chez plusieurs dizaines de plantes de Vulpin résistantes ou sensibles nous a permis d'identifier cinq mutations ponctuelles (donc cinq allèles de l'ACC) qui rendent le Vulpin résistant. Chacune de ces mutations provoque un changement d'acide aminé qui modifie la structure spatiale de l'ACC et peut empêcher les molécules d'herbicide d'atteindre leur site de

| Mutation | Herbicides | | | | |
|--------------|------------|------------|-----------|-------------|------------|
| | Fénoxaprop | Clodinafop | Haloxyfop | Cycloxydime | Cléthodime |
| Ile-1781-Leu | R | S | S | R | S |
| Trp-2027-Cys | R | R | R | S | S |
| Ile-2041-Asn | R | R | R | S | S |
| Asp-2078-Gly | R | R | R | R | R |
| Gly-2096-Ala | R | R | R | S | S |

Tableau 1. Profils de résistance croisée associés aux allèles résistants de l'ACC. R, S : l'allèle confère / ne confère pas de résistance à l'herbicide.

fixation. Toutefois les cinq mutations ne perturbent pas de la même manière la fixation des molécules d'herbicides différents. De ce fait, les différents allèles de l'ACC confèrent des profils de résistance croisée différents aux herbicides inhibiteurs de l'ACC, c'est à dire que deux plantes porteuses d'allèles différents ne sont pas forcément résistantes aux mêmes herbicides (Tableau 1). Afin de disposer d'un outil rapide et fiable de diagnostic de la résistance, nous avons développé pour chaque allèle un test moléculaire basé sur la PCR. Chaque test permet de détecter simultanément les deux variants (sensible et résistant) de chacune des cinq

positions ayant un rôle dans la résistance (Tableau 1), donc de distinguer les plantes homozygotes des plantes hétérozygotes (Figure 1). Ceci nous a permis de démontrer que la résistance conférée par chacun des cinq allèles était dominante (aux doses utilisées en agriculture, plantes homozygotes pour un allèle résistant et plantes hétérozygotes sont insensibles aux herbicides auxquels cet allèle confère une résistance). De ce fait, les profils de résistance croisée sont additifs : les plantes possédant deux allèles différents de l'ACC dans leur génome sont résistantes à tous les herbicides pour lesquels au moins un des allèles confère une résistance.

Grâce à un protocole d'extraction d'ADN très simplifié, l'analyse par PCR d'un échantillon de Vulpin, et donc l'obtention du diagnostic de la résistance, peut être effectuée dans la journée même où l'échantillon arrive au laboratoire. Cet échantillon peut être constitué de fragments de feuilles ou de tiges, voire de graines, vivantes ou mortes, fraîches ou desséchées. De ce fait, cette technique de diagnostic de la résistance est beaucoup plus réactive que les tests biologiques, dont le principe consiste à observer l'effet de doses d'herbicides censées tuer les plantes sensibles mais pas les plantes résistantes sur des plantes ou des plantules. Les tests biologiques nécessitent en effet plusieurs semaines à plusieurs mois pour fournir un résultat.

Cartographie de la résistance liée à la cible en Côte d'Or

Une fois les tests moléculaires développés, nous avons entrepris d'établir une cartographie de la résistance aux inhibiteurs de l'ACC en Côte d'Or. Pour ce faire, nous avons bénéficié d'une opération INRA-Délégation permanente à l'Agriculture, au Développement et à la Prospective menée par B. Chauvel (INRA Dijon) et du soutien de la Région Bourgogne. Un partenariat avec la coopérative Dijon Céréales, la chambre d'agriculture de Côte d'Or et le Service Régional de Protection des Végétaux a permis d'effectuer à la fin de la campagne 2003 une collecte de graines de Vulpin sur un réseau de 150 parcelles agricoles couvrant l'ensemble du

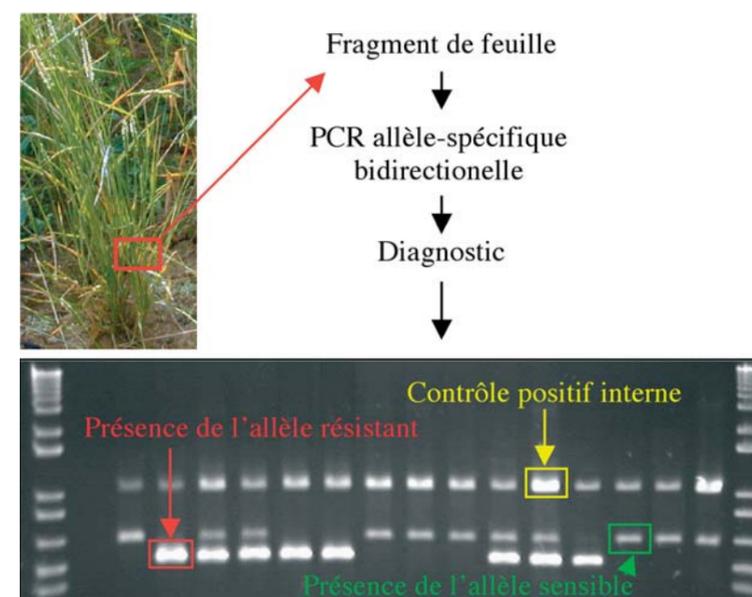


Figure 1 : Analyse par PCR allèle-spécifique bidirectionnelle du codon 2041 du gène de l'ACC. Les profils électrophorétiques illustrés comportent trois fragments. Le plus haut (contrôle positif interne) est amplifié chez toutes les plantes, quel que soit leur génotype. Sa présence atteste un bon fonctionnement de la PCR. Le fragment de taille intermédiaire n'est amplifié que chez les plantes possédant un codon Ile-2041 (allèle sensible). Le plus petit fragment n'est amplifié que chez les plantes possédant un codon Asn-2041 (allèle résistant). Les profils des plantes homozygotes possèdent donc deux fragments, ceux des plantes hétérozygotes en possèdent trois.
Crédit photo : C. Délye - INRA

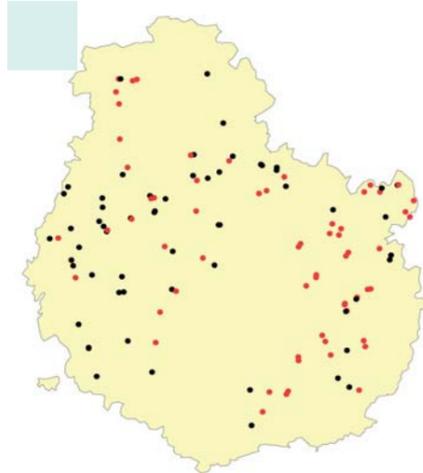


Figure 2 : Localisation des 128 populations de Vulpin de Côte d'Or étudiées. Une population est matérialisée par un point. Point noir : population dans laquelle aucune plante analysée ne contient d'allèle résistant d'ACC. Point rouge : population dans laquelle au moins une plante analysée contient un allèle résistant d'ACC.

département (75 communes échantillonnées, un agriculteur par commune et 2 parcelles par agriculteur). Toutes les parcelles n'étant pas infestées, ce sont 128 populations de Vulpin (85 % des parcelles) qui ont été collectées en fin de compte (Figure 2).

La présence des cinq allèles résistants de l'ACC a été recherchée par PCR dans 60 plantes par population. Les 7680 plantes concernées ont été analysées grâce à une collaboration avec l'équipe INRA du Centre National de Génotypage à Évry. Les analyses montrent une présence d'allèles résistants de l'ACC sur l'ensemble de la Côte d'Or, avec une incidence particulièrement importante dans la plaine de Dijon (Figure 2). Au total, au moins une plante contenant un allèle résistant a été détectée dans 66 des 128 populations analysées. Sur ces 66 populations, 40 contiennent un seul des cinq allèles résistants de l'ACC, 21 en contiennent deux et cinq populations contiennent trois allèles résistants.

Le nombre des populations dans lesquelles chaque allèle est présent s'est avéré varier très fortement entre allèles. Ainsi, si l'allèle Leu-1781 et dans une moindre mesure l'allèle Asn-2041 sont nettement prépondérants, les allèles Ala-2096 et Cys-2027 semblent très

peu présents en Côte d'Or, alors que l'allèle Gly-2078 est présent en fréquence intermédiaire (Figure 3).

Lorsque l'on compare la fréquence des cinq allèles entre les 66 populations où au moins l'un d'entre eux a été détecté, il apparaît que les fréquences des allèles Leu-1781 et Asn-2041 varient entre 1,6 % et 90 %, tandis que celles des allèles Cys-2027 et Ala-2096 varient de 1,6 à 5 %. La fréquence de l'allèle Gly-2078 varie quant à elle entre 1,6 et 25 % dans les populations où cet allèle est présent.

La cartographie de la présence des cinq allèles de l'ACC en Côte d'Or ne montre de répartition en foyers pour aucun allèle. Au contraire, les différents allèles sont répartis sur l'ensemble du territoire. En fait, que ce soit au niveau de leur présence dans les populations de Vulpin ou de la valeur de leur fréquence dans une population donnée, la répartition des allèles résistants de l'ACC en Côte d'Or ressemble à une mosaïque. Cette répartition en mosaïque se retrouve aussi à plus petite échelle : dans la plupart des communes étudiées où des allèles résistants de l'ACC ont été détectés, la composition en allèles des deux populations de Vulpin échantillonnées est très différente (voir figure 4 pour illustration). La cartographie de la résistance aux inhibiteurs de l'ACC liée à la cible en Côte d'Or fait donc ressortir une image complexe. Il n'y a pas de regroupement visible en foyers des allèles résistants : des allèles différents sont observés dans des populations proches, voire dans la même population. Réciproquement, le

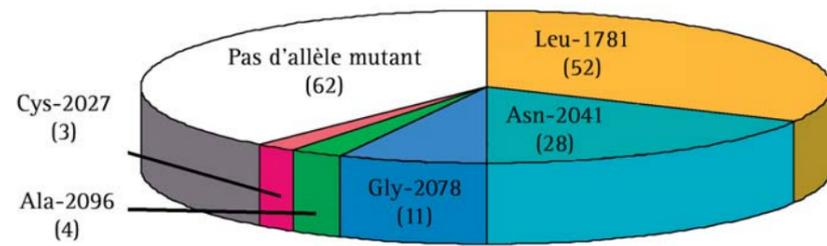


Figure 3 : Incidence des cinq allèles résistants de l'ACC dans les 128 populations de Vulpin de Côte d'Or. Les chiffres entre parenthèses donnent le nombre de populations dans lesquelles l'allèle a été détecté.

même type d'allèle peut être observé dans des populations très éloignées. On observe donc une mosaïque de populations avec des compositions en allèles de l'ACC extrêmement contrastées. Quand on considère la nature et la fréquence des allèles résistants de l'ACC présents dans les populations de Vulpin, la composition génétique de chaque population contenant un ou plusieurs de ces allèles est unique, et ne peut être déduite de celle des populations proches. Ceci vaut en particulier pour les couples de populations de Vulpin prélevées sur une même commune, qui proviennent de parcelles différentes mais appartenant pourtant à un même agriculteur. De ce fait, il semble peu probable de trouver des « parcelles-types » représentatives d'un « pays » agricole ou même d'une commune. Ceci a pour conséquence principale que le diagnostic de la résistance doit être effectué parcelle par parcelle.

Apparition de la résistance liée à la cible

La diversité des situations observées en Côte d'Or suggère fortement que la résistance du Vulpin aux inhibiteurs de l'ACC liée à la cible a évolué à partir de foyers multiples, c'est à dire que chaque allèle résistant de l'ACC est apparu plusieurs fois de manière indépendante dans des populations de Vulpin distinctes. Autrement dit, il semble que chacune des cinq mutations identifiées dans le gène de l'ACC (Tableau 1) ait été

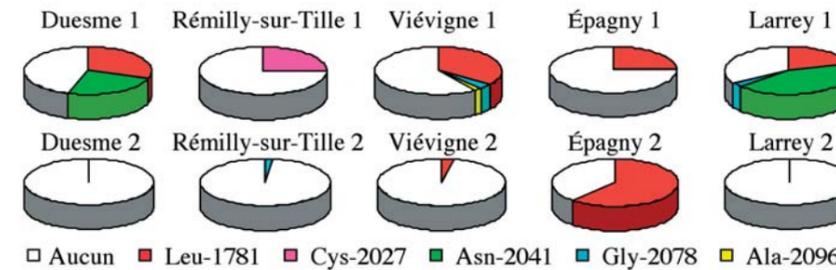


Figure 4 : Composition en allèles de l'ACC de 10 populations de Vulpin prélevées sur cinq communes de Côte d'Or (2 populations par commune). La surface blanche représente la proportion de plantes dans lesquelles aucun allèle résistant de l'ACC n'a été détecté.

sélectionnée plusieurs fois par l'utilisation d'herbicides dans des populations de Vulpin distinctes.

Afin d'éprouver la véracité de cette hypothèse, nous avons étudié la variabilité nucléotidique de la région du gène de l'ACC contenant les cinq mutations dans et entre des populations distinctes de Vulpin. Le but de ce travail était d'identifier par séquençage un grand nombre d'allèles de l'ACC, résistants ou non, puis d'établir une sorte « d'arbre généalogique » de ces allèles par les méthodes de la phylogénie moléculaire. Pour être assurés de ce que les populations de Vulpin utilisées étaient distinctes, donc n'échangeaient pas de gènes, nous avons travaillé sur 18 populations, dont quatre de Côte d'Or, collectées en 2000 et provenant des zones de grandes cultures en France (Figure 5).

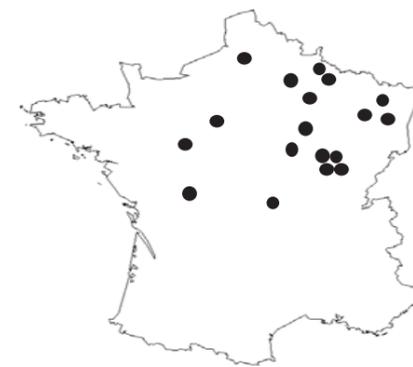


Figure 5 : Origines géographiques des 18 populations de Vulpin françaises utilisées pour l'étude de la variabilité nucléotidique du gène de l'ACC.

Le séquençage du ou des allèles de l'ACC contenus dans 86 plantes de Vulpin a permis d'identifier un total de 82 mutations ponctuelles et six petites insertions-délétions, ces dernières localisées dans les introns. Sur les 82 mutations ponctuelles, seules 13 causaient un changement d'acide aminé, les autres étant synonymes (changement de codon mais pas d'acide aminé) ou silencieuses (mutations situées dans un intron). Les cinq mutations conférant une résistance aux inhibiteurs de l'ACC ont été retrouvées parmi les 13. Les mutations Ile-1781-Leu et Ile-2041-Asn sont celles qui ont été trouvées le plus fréquemment, comme lors de la cartographie de la résistance en Côte d'Or (cf. figure 3). À partir des combinaisons des différentes mutations, un total de 38 allèles différents de l'ACC utilisables pour les analyses phylogénétiques ont été identifiés (Figure 6).

On constate que des allèles Leu-1781 et Asn-2041 se trouvent dans des « branches » très éloignées de l'arbre (Figure 6). Ceci est l'indice de plusieurs origines indépendantes de chacun de ces allèles. De ce fait, le résultat de cette analyse valide pleinement l'hypothèse d'une apparition indépendante des mêmes mutations dans des populations de Vulpin différentes. La résistance de cible aux inhibiteurs de l'ACC a donc été sélectionnée à partir de multiples foyers dans les populations de Vulpin.

Les premiers herbicides inhibiteurs de l'ACC ont été commercialisés à partir de

la fin des années 1980. Les 18 populations de Vulpin ayant servi à l'analyse de séquences ont été collectées en 2000, soit environ une quinzaine d'années après le début de l'emploi de ces herbicides. Toutes sauf une contenaient au moins un type d'allèle résistant de l'ACC, présent avec une fréquence comprise entre 10 et 80 %. Le Vulpin est une plante allogame. Si l'on suppose une fréquence d'apparition des allèles résistants de l'ACC classique (10^{-6} par génération), et sachant que ces allèles confèrent une résistance dominante, un taux de sélection de 85 % par génération pendant 10 ans en faveur de ces allèles suffit à expliquer les fréquences observées par un modèle simple de génétique des populations. Autrement dit, la destruction de 85 % des plantes sensibles et de 0 % des plantes contenant un allèle résistant de l'ACC par les herbicides inhibiteurs de l'ACC, et une application de ces herbicides chaque année pendant 10 ans, suffisent à expliquer les fréquences les plus élevées d'allèles résistants de l'ACC observées dans les populations de Vulpin collectées en 2000. Comme les inhibiteurs de l'ACC détruisent en général de 95 à 97 % des plantes de Vulpin sensibles, il est évident que l'augmentation de la fréquence des allèles résistants de l'ACC dans les populations de Vulpin sera nettement plus rapide : à partir du moment où un tel allèle se trouve dans une population de Vulpin jusqu'alors sensible, quelques années d'emploi d'inhibiteurs de l'ACC suffisent à sélectionner de fortes fréquences de plantes résistantes à ces herbicides.

Propagation de la résistance liée à la cible

Des allèles sensibles absolument identiques du gène de l'ACC sont présents dans jusqu'à six populations distinctes de Vulpin dispersées sur l'aire échantillonnée (Figure 6). De même, des allèles résistants Leu-1781 et des allèles résistants Asn-2041 identiques sont présents dans des populations distinctes (Figure 6). À ce stade, il faut faire la

différence entre allèles sensibles et résistants de l'ACC. Les allèles sensibles de l'ACC ont évolué naturellement depuis des milliers de générations de Vulpin. Les allèles résistants, eux, ont très probablement évolué à partir des allèles sensibles et n'ont été sélectionnés que récemment, lorsque les herbicides inhibiteurs de l'ACC ont été mis sur le marché. Compte tenu du nombre de mutations identifiées parmi les séquences étudiées (82 mutations), il est hautement improbable que des allèles sensibles rigoureusement identiques de l'ACC soient apparus indépendamment dans des populations de Vulpin génétiquement isolées. Ceci implique donc qu'il existe, ou qu'il a existé jusque dans un passé récent, des échanges de gènes importants entre les populations de Vulpin. Ces flux de gènes ont dissé-

miné les différents allèles de l'ACC qui sont apparus au cours de l'évolution dans les populations de Vulpin, ce qui explique que l'on retrouve aujourd'hui des allèles identiques à des centaines de kilomètres de distance.

La même explication pourrait s'appliquer pour les allèles résistants de l'ACC. À l'heure actuelle, nous n'avons pas de données sur les flux de gènes pouvant exister entre les populations de Vulpin. Les flux de gènes à courte distance (d'une parcelle à l'autre, par exemple) peuvent être dus au transport de graines par les engins agricoles, et/ou au transport de pollen par le vent. En revanche, les flux de gènes à longue distance (d'une région à l'autre) ne peuvent vraisemblablement se faire que par le transport de graines. Le vecteur le plus efficace des flux de gènes à lon-

gue distance chez le Vulpin a très probablement été les échanges de lots de semences contaminées par des graines de Vulpin. Toutefois, à cause de la petitesse et de la légèreté des graines de Vulpin, celles-ci sont à l'heure actuelle aisément éliminées des lots de semences de céréales par soufflage. Il est donc plausible qu'actuellement, les flux de gènes entre populations très éloignées de Vulpin soient extrêmement réduits, voire nuls. De ce fait, une autre explication, que nous trouvons plus probable, est que les allèles résistants identiques de l'ACC que nous avons trouvés dans des populations de Vulpin éloignées (Figure 6) soient apparus indépendamment dans chaque population, par mutation d'allèles sensibles identiques qui étaient déjà présents depuis longtemps dans ces populations.

En conclusion...

L'ensemble des données de séquençage ou de cartographie de la présence des allèles résistants de l'ACC suggère de manière concordante que la résistance aux herbicides inhibiteurs de l'ACC évolue de façon indépendante dans chaque population de Vulpin, que ce soit à l'échelle nationale ou à l'échelle de la Côte d'Or. D'autres travaux menés dans notre unité ont montré que la résistance liée à la cible n'est qu'une facette de la résistance aux inhibiteurs de l'ACC chez le Vulpin. Dans de nombreuses populations de Vulpin, voire

dans de nombreuses plantes, la résistance liée à la cible coexiste en effet avec une résistance par détoxification, gouvernée par plusieurs gènes. Une compréhension complète du phénomène de résistance aux herbicides chez le Vulpin nécessite donc d'élucider la nature et le déterminisme génétique de cette résistance par détoxification.

L'image de l'évolution de la résistance aux herbicides chez le Vulpin est donc celle d'un phénomène qui apparaît puis s'étend localement, sous forme de « taches ». Chaque tache, dont la taille reste à évaluer (groupe de plantes adjacentes dans une parcelle, parcelle, groupe de parcelles voisines...), constitue une population relativement indépen-

dante de plantes de Vulpin qui évolue en fonction de sa variabilité génétique, des herbicides utilisés pour la contrôler, et des flux de gènes (transport de pollen et de graines) qui la relie aux populations voisines. Ces facteurs contribuent à la sélection d'un certain nombre de gènes de résistance (allèles résistants de l'ACC et/ou gènes de détoxification), aboutissant à des profils de résistance propres à chaque population. De ce fait, comprendre et surtout prévoir l'évolution de la résistance aux herbicides du Vulpin au niveau local, régional, voire national, devra faire appel à des modèles complexes dont l'élaboration constitue une des suites à donner aux travaux présentés. ■

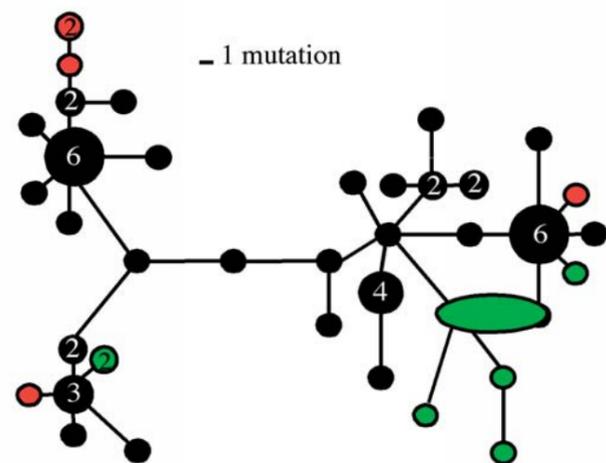


Figure 6 : Arbre phylogénétique montrant les relations de proximité génétique (« parenté ») entre 38 allèles de l'ACC. Chaque allèle est représenté par un cercle. Le diamètre des cercles est proportionnel au nombre de populations parmi les 18 analysées où l'allèle a été observé. Ce nombre est indiqué sur le cercle quand il est supérieur à un. La longueur des barres reliant les allèles est proportionnelle au nombre de mutations différenciant ces allèles. Les allèles représentés par des cercles rouges sont des allèles Leu-1781 ; ceux représentés par des cercles verts sont des allèles Asn-2041.

Bibliographie

- C. DÉLYE, É. CALMÈS et A. MATÉJICEK, « SNP Markers for Black-Grass (*Alopecurus myosuroides* Huds.) Genotypes Resistant to Acetyl CoA-Carboxylase Inhibiting Herbicides », *Theoretical and Applied Genetics* 104 (2002), 1114-1120.
- C. DÉLYE, A. MATÉJICEK et J. GASQUEZ « PCR-Based Detection of Resistance to Acetyl-Co A Carboxylase-Inhibiting Herbicides in Black-Grass (*Alopecurus myosuroides* Huds.) and Ryegrass (*Lolium rigidum* Gaud.) », *Pest Management Science* 58 (2002), 474-478.
- C. DÉLYE, X.-Q. ZHANG, C. CHALOPIN, S. MICHEL et S.B. POWLES, « An Isoleucine Residue Within the Carboxyl-Transferase Domain of Multidomain Acetyl-CoA Carboxylase Is a Major Determinant of Sensitivity to Aryloxyphenoxypropionate but not to Cyclohexanedione Inhibitors », *Plant Physiology* 132 (2003), 1716-1723.
- C. DÉLYE, C. STRAUB, A. MATÉJICEK et S. MICHEL, « Multiple Origins for Black-Grass (*Alopecurus myosuroides* Huds.) Target Site-Based Resistance to Herbicides Inhibiting Acetyl-Co A Carboxylase », *Pest Management Science* 60 (2004), 35-41.
- C. DÉLYE, C. STRAUB, S. MICHEL et V. LE CORRE « Nucleotide Variability at the Acetyl-Coenzyme A Carboxylase Gene and the Signature of Herbicide Selection in the Grass Weed *Alopecurus myosuroides* (Huds.) », *Molecular Biology and Evolution* 21 (2004), 884-892.
- C. DÉLYE, X.-Q. ZHANG, S. MICHEL, A. MATÉJICEK et S.B. POWLES, « Molecular Bases for Sensitivity to Acetyl-Coenzyme A Carboxylase Inhibitors in Black-Grass », *Plant Physiology* 137 (2005).
- A. LETOUZÉ et J. GASQUEZ, « Inheritance of Fenoxaprop-P-Ethyl Resistance in a Black-Grass (*Alopecurus myosuroides* Huds.) Population », *Theoretical and Applied Genetics* 103 (2001), 288-296.

Dynamique macroévolutive de la biodiversité

■ Pascal Neige,
Pascal.Neige@u-bourgogne.fr
■ Bruno David,
■ Gunther Eble,
■ Bertrand Lefebvre,
■ Didier Marchand,
*UMR CNRS 5561 Biogéosciences,
Université de Bourgogne.*
■ Nicolas Navarro,
Faculty of Life Sciences, University of Manchester.

Microévolution, Macroévolution...

Deux échelles pour en savoir plus

La biodiversité observée aujourd'hui n'est qu'une étape transitoire entre un futur en partie prévisible et un passé « lisible » si l'on prend soin d'analyser en détail les séries fossiles. Nous savons ainsi, par exemple, que les dinosaures s'éteignent il y a 65 millions d'années, à la fin du Crétacé, mais que certains vont survivre sous une forme différente nommée « oiseau ». Nous connaissons maintenant en détail l'incroyable diversité des formes prises par la vie il y a 540 millions d'années, dont peu survivront après. Grandeurs et décadence des formes de vie fossiles et actuelles sont les mots d'ordre permanents d'une biodiversité en lutte pour l'existence.

Dans les années cinquante, les règles du jeu de cette lutte furent bien explicitées par la théorie synthétique de l'évolution, héritière de la théorie de

Darwin. En incorporant les progrès apportés par la génétique, elle proposait une vision intégrée des mécanismes qui produisent l'évolution des organismes :

– le matériel génétique subit des modifications lors de sa répllication et/ou de sa transmission qui provoquent une variation entre les individus au sein des populations (chacun peut faire l'expérience de cette variation en regardant autour de soi : nous sommes tous différents les uns des autres) ;

– il se produit ensuite un tri par le mécanisme de la sélection naturelle, qui a pour effet de sélectionner les individus les mieux adaptés au regard des conditions du moment. Ce tri existe simplement parce que les ressources, par exemple alimentaires, ne sont pas suffisantes au développement de tous les individus.

D'un point de vue général, cette théorie identifie une cible biologique particulièrement importante : la population, où agissent les mécanismes de l'évolution (il existe cependant d'autres cibles potentielles : par exemple le gène, l'in-

dividu, l'espèce et, à de très grandes échelles, le clade : regroupement de nombreuses espèces issues d'un ancêtre commun). On nomme microévolution l'étude des mécanismes et des événements produits à cette échelle des populations. Dans le cadre de la théorie synthétique, les mécanismes de cette échelle sont aussi responsables de l'évolution à une échelle plus large, au-delà de l'espèce : à l'échelle dite macroévolutive.

A cette échelle macroévolutive, qui s'observe sur un temps long de plusieurs millions ou dizaines de millions d'années (temps géologiques), la théorie synthétique prévoit que les espèces évoluent par de petites modifications graduelles dues au mécanisme de la sélection naturelle. Si l'on suit cette théorie, les successions fossilifères observées par les paléontologues doivent montrer ces modifications graduelles. Il semble cependant que les données paléontologiques soient parfois en désaccord avec ce que prévoit la théorie synthétique de l'évolution.

Historiquement, c'est en 1972 que Niles Eldredge et Stephen J. Gould, deux paléontologues américains, viendront démontrer ce désaccord, à travers un article qui déclenchera une réelle polémique. Leur article propose que l'évolution des organismes observée dans les séries fossiles s'exprime sous forme de périodes exemptes de toutes modifications et interrompues d'événements de modifications brutales : c'est le modèle évolutif nommé « équilibres ponctués ». Ce modèle s'oppose donc à celui de l'évolution graduelle prôné par la théorie synthétique de l'évolution. Bien évidemment, ces propositions furent diversement reçues, mais le moins que l'on puisse dire est que cet article va déclencher une multitude de réactions dans de nombreux domaines. Les paléontologues alors présents à l'Université de Bourgogne participèrent activement au débat, avec comme point culminant en 1982, l'organisation d'un colloque international à Dijon intitulé « Modalités, rythmes et mécanismes de l'évolution biologique ». 140 scientifiques, dont Niles Eldredge et Stephen J. Gould participèrent. Plus de 20 ans après ce colloque, le débat « évolution graduelle » contre « évolution ponctuée » semble largement dépassé. Mais il en a produit un autre, aujourd'hui en plein essor, bien plus passionnant encore. Si l'évolution biologique à grande échelle de temps (à l'échelle macroévolutive), ne peut être expliquée uniquement par le mécanisme de la sélection naturelle agissant à une échelle de temps courte, à l'échelle microévolutive, alors pourrait-il exister des mécanismes évolutifs complémentaires, à d'autres échelles ?

C'est dans cette perspective que l'équipe Macroévolution et dynamique de la biodiversité (Tableau 1) du laboratoire Biogéosciences (UMR CNRS 5561) au sein de l'Université de Bourgogne a construit son projet de recherche en cours. Les chercheurs membres de cette équipe sont spécialisés dans l'étude de cette évolution biologique à grande échelle. Il s'agit pour nous de docu-

menter l'évolution de la biodiversité sur des durées de temps pouvant atteindre plusieurs millions, voire dizaines de millions d'années. Mais analyser la biodiversité passée nécessite aussi une compréhension de la biodiversité actuelle et de son fonctionnement. C'est ainsi que nous développons également des travaux sur des organismes vivant actuellement. Notre priorité est l'analyse des fluctuations des formes de vie au cours des temps géologiques ou dans l'espace géographique actuel ou fossile et l'identification des mécanismes qui provoquent ces fluctuations. Nous développons des exemples tirés d'organismes fossiles ou actuels, principalement parmi les céphalopodes, les échinodermes et les rongeurs, et nous proposons également de nouveaux outils d'études ou de nouveaux modèles d'interprétation plus conceptuels (Eble 2004, Navarro 2003, Neige 2003a). Le présent article expose des avancées de notre équipe concrétisées par des publications récentes. Trois exemples sont choisis : le premier se déroule sous nos yeux, dans un monde actuel, le long des côtes de l'ancien monde (Neige 2003b) ; le deuxième nous recule dans le temps, il y a 170 millions d'années environ, dans un océan Boréal alors sans glace (Navarro et al 2005) ; et le troisième nous entraîne vers des formes de vie bien singulières d'il y a 520 millions d'années (Lefebvre et al 2004).

Quantifier pour mieux comprendre

Si le mot biodiversité est maintenant largement utilisé, il reste que décrire précisément un morceau de cette biodiversité – par exemple les organismes marins du Jurassique – reste une activité complexe, longue et qui n'admet pas de réponse unique ! Faut-il par exemple s'intéresser au nombre d'espèces ? Ou au contraire aux variations morphologiques plus ou moins intenses qui existent entre elles ? Ou encore aux

tailles atteintes par les différents individus ?

Le système de description le plus classique est le dénombrement des espèces. Cette mesure de la biodiversité est nommée diversité taxinomique. A l'échelle macroévolutive, l'analyse de cette diversité taxinomique a permis de mettre en évidence des extinctions majeures – des moments où beaucoup d'espèces disparaissent – ainsi que de documenter les modalités d'augmentation des espèces au cours des temps géologiques. Mais cette approche bien que très informative ne dit rien sur l'amplitude des différences morphologiques entre les espèces : qu'un milieu de vie contienne deux fois plus d'espèces qu'un autre n'indique pas s'il possède des organismes morphologiquement deux fois plus variés. Pourtant l'amplitude des différences morphologiques est une donnée particulièrement informative, par exemple pour comprendre les réactions de la biodiversité vis-à-vis de modifications environnementales.

Un second système descriptif, développé depuis une dizaine d'années environ, complète le précédent. Il a pour objectif de chiffrer la quantité de morphologies présentes à un moment donné de l'histoire de la vie (ou dans une zone géographique précise), sans référence à leur appartenance à des groupes taxinomiques (Gould 1991). Cette mesure de la biodiversité est nommée disparité morphologique. Pour chiffrer cette disparité morphologique, plusieurs étapes sont nécessaires. Il faut d'abord décrire les morphologies. Une multitude de techniques existent : certaines s'appuient sur des mesures linéaires caractéristiques de la forme, d'autres sur l'identification de points anatomiques singuliers, d'autres encore ne s'intéressent qu'au contour de la forme. Quelles qu'elles soient, ces descriptions fournissent des données – dimensionnelles, topologiques ou autres – qui sont ensuite analysées afin d'ordonner et de hiérarchiser les res-

semblances et différences entre les morphologies. Les techniques statistiques utilisées permettent de synthétiser les données morphologiques sous formes d'espaces géométriques, nommés – dans notre domaine spécifique – espaces morphologiques (David et al 2004) ou sous forme de paramètres arithmétiques révélateurs de la quantité de morphologies présentes à un temps t ou dans une zone géographique donnée (Foote 1993).

C'est seulement une fois cette étape réalisée que l'observation et l'interprétation peuvent commencer, parce que nous possédons maintenant une double quantification des fluctuations de la biodiversité : l'une basée sur le dénombrement des groupes taxinomiques (des espèces par exemple), l'autre sur la disparité des morphologies.

Huit bras, deux tentacules et un os !



Figure 1. Seiche actuelle (*Sepia officinalis*). Photo P. Neige prise au laboratoire océanologique de Banyuls-sur-Mer.

Les seiches (Figure 1), proches parentes des calmars et des poulpes (tous des céphalopodes) ont une anatomie bien étonnante : elles possèdent une coquille interne, l'os (ou sépion) qui leur permet d'avoir une densité à tout moment proche de celle de l'eau de mer, par remplissage ou vidange de ces loges internes, à la manière d'un sous-marin. Elles possèdent 10 appendices autour de la bouche : les deux plus grands – les tentacules –, rétractables dans des sortes de poches lui serviront à chasser.

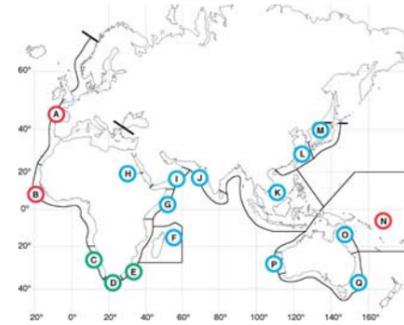


Figure 2. (d'après Neige 2003b). Répartition géographique actuelle des seiches (Céphalopode). 17 unités biogéographiques (nommées A à Q) permettent l'analyse détaillée de la distribution géographique de ces céphalopodes.

Envisagées à l'échelle globale, les seiches ont d'autres particularités tout aussi étonnantes : elles sont présentes dans les mers peu profondes (jusqu'à 600 mètres de profondeur maximale) le long des côtes depuis la Norvège jusqu'au Japon et à l'Australie en passant par l'Afrique et l'Inde mais totalement absentes des côtes américaines ou en Nouvelle-Zélande par exemple (Figure 2). Dans leur zone de présence actuelle, elles sont parfois peu diversifiées, comme en Méditerranée, ou au contraire, très diversifiées, comme sur les côtes d'Afrique du Sud ou sur les côtes Nord australiennes.

La question générale qui nous a intéressés ici fut celle de la mise en place de cette répartition géographique très particulière. L'auteur de cette étude, Pascal Neige, en suivant la démarche explicitée précédemment, a pu établir deux quantifications de la biodiversité. L'une fait état de la diversité taxinomique (ici le nombre d'espèces) par unité géographique et l'autre de la disparité morphologique (ici la diversité des formes des coquilles internes). La confrontation de ces deux mesures (Figure 3) permet de révéler des zones géographiques singulières :

- les aires de répartition géographiques extrêmes (A, B et N, sur les figures 2 & 3) sont caractérisées par l'association attendue d'un faible nombre d'espèces avec peu de disparité morphologique ;
- le pourtour sud-africain (C, D & E sur les figures 2 & 3) est quant à lui singu-

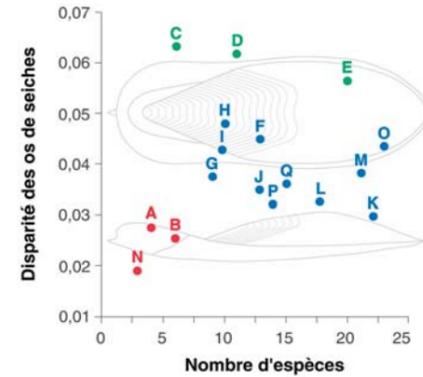


Figure 3. (d'après Neige 2003b). Relations entre le nombre d'espèces et la disparité morphologique chez les seiches actuelles. Les lettres correspondent aux unités biogéographiques définies dans la figure 2. Fond de l'image : morphologie d'un os de seiche (haut : vue ventrale, bas : vue latérale).

lier par l'association d'une très forte disparité morphologique quel que soit le nombre d'espèces présentes. Cette association inattendue révèle le jeu de mécanismes évolutifs à grande échelle. Il est probable que cette zone géographique fut le théâtre de colonisations successives d'espèces de seiches, venant soit de l'océan Atlantique soit de l'océan Indien, dans un contexte géographique variable : à l'origine de la diversification des seiches, il y a environ 50 millions d'années, existait encore une connexion directe entre l'océan Indien et la mer Méditerranée (au niveau de l'actuel Golfe Persique) qui a probablement été utilisée par les seiches. Cette connexion fut fermée il y a environ 35 millions d'années par le jeu de la tectonique des plaques, modifiant alors très largement les possibilités de migration de ces organismes. La singularité du pourtour Sud-africain résulterait donc de la rencontre d'espèces européennes anciennes colonisant les côtes africaines (de l'Ouest vers l'Est) et d'espèces de l'océan Indien colonisant ces mêmes côtes mais dans un sens inverse (de l'Est vers l'Ouest).

Dans un tel contexte, la diversification des seiches semble due au jeu parallèle de la sélection naturelle à l'échelle locale (il n'est pas question ici de nier le rôle fort de ce mécanisme évolutif) et de mécanismes évolutifs à grande échelle jouant sur la capacité de migration de certaines espèces.

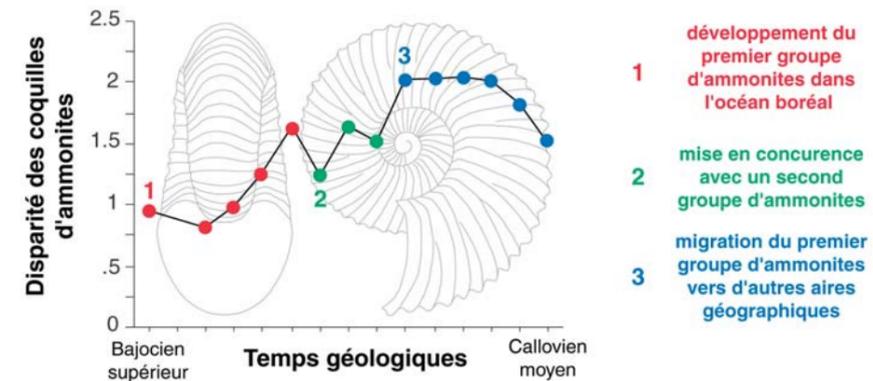


Figure 4. (d'après Navarro et al 2005). Fluctuations de la disparité morphologique des coquilles d'ammonites (Céphalopode) dans l'océan Boréal du Bajocien supérieur au Callovien moyen (Jurassique). Fond de l'image : morphologie d'une coquille d'ammonite (gauche : vue de l'ouverture, droite : vue latérale).

Migrer pour innover

Les ammonites, elles aussi des céphalopodes, proches parentes des seiches, des calmars et des poulpes (Jacobs & Landman 1993) s'éteignent il y a 65 millions d'années. Elles sont caractérisées par une coquille externe fonctionnant à la manière d'un sous-marin. Cette coquille porte un grand nombre de caractères morphologiques révélateurs à la fois de l'histoire évolutive des espèces et dans une certaine mesure des conditions environnementales.

L'étude menée par Nicolas Navarro, Pascal Neige et Didier Marchand (Navarro et al 2005) a permis de suivre pas à pas pendant plus de 11 millions d'années au cours du Jurassique moyen les changements morphologiques intervenus chez un groupe d'ammonites qui a colonisé l'océan Boréal. Il y a 170 millions d'années (au cours du Jurassique), le pôle Nord n'était pas gelé et sa place s'étendait l'océan Boréal qui servit d'incubateur à ce groupe d'ammonites (les *Cardioceratidae*) venu le coloniser. Mais au milieu de cette période, un autre groupe d'ammonites viendra perturber le développement des premiers colonisateurs. Cette lutte entre groupes provoquera une réaction surprenante, mise en évidence par une analyse précise de la disparité morphologique selon l'ap-

proche exposée précédemment. Trois événements semblent particulièrement importants dans l'histoire de ces ammonites, et ont provoqué des réactions marquées :

- la colonisation initiale de l'océan Boréal va provoquer une augmentation rapide de la disparité des formes (Figure 4, événement 1). Cette réaction marque l'opportunité pour ces ammonites d'inventer de nouvelles morphologies à la faveur de l'exploration d'un nouveau domaine géographique et donc de nouvelles conditions environnementales ;
- l'arrivée et l'expansion d'un autre groupe d'ammonites en concurrence avec les premières viendront fortement diminuer puis bloquer cette « expansion » morphologique des *Cardioceratidae* (Figure 4, événement 2). La concurrence entre clades a débuté ;
- les modifications de l'environnement vont finalement offrir aux *Cardioceratidae* une chance unique : coloniser un nouveau domaine géographique en marge de l'océan Boréal. L'effet sera immédiat en terme morphologique par une augmentation brutale de la disparité des formes (Figure 4, événement 3).

Dans cet exemple encore, le rôle des migrations géographiques fut prépondérant. Mais il soulève en plus la ques-

tion de l'interaction entre groupes (dans notre cas deux groupes majeurs d'ammonites). En effet, les *Cardioceratidae* n'atteindront leur véritable apogée de disparité morphologique qu'après une longue histoire finissant par la colonisation d'un second domaine géographique. Mais avant cela il leur aura fallu coloniser un premier domaine géographique puis lutter contre un second groupe migrant d'ammonites. Paradoxalement, alors qu'ils ont d'abord en quelque sorte « perdu » cette lutte (leur disparité morphologique diminue) ils trouveront un deuxième « souffle » par la colonisation d'un second domaine géographique. Il est probable que sans leur capacité à migrer, possibilité offerte à la faveur de modifications géographiques, les *Cardioceratidae* auraient disparu.

120 millions d'années pour évoluer

En matière de formes bizarres, les stylophores font référence ! Ces échinodermes de l'ère primaire vivant sur les fonds marins et dont les premiers individus apparaissent il y a plus de 520 millions d'années se composent d'un corps en deux parties : la thèque, sorte de boîte aplatie contenant la plupart des organes du corps et l'aulacophore, appendice flexible portant un bras nourricier et la bouche (Figure 5).

Selon la méthode décrite précédemment, Bertrand Lefebvre, Gunther Eble, Bruno David et Nicolas Navarro (Lefebvre et al 2004) ont suivi sur plus de 120 millions d'années (du Cambrien moyen au Dévonien moyen, il y a 400 millions d'années) l'histoire morphologique de ce groupe. Mais pour mieux comprendre la diversification puis l'extinction de ces échinodermes, les auteurs de cette étude ont inventé un indice d'occupation géographique : une mesure qui reflète la diversité des zones géographiques colonisées par les stylophores. La Figure 6 montre ainsi les



Figure 5. Stylophore (Echinoderme) de l'Ordovicien (-490 millions d'années) du Maroc. Photo J. Thomas (service commun Transtyfipa).

relations entre la disparité morphologique et l'occupation géographique de ces échinodermes. Elles sont paradoxales à plusieurs points de vue :

- au début de leur histoire (Figure 6, phase 1), les stylophores expriment une faible disparité des formes même s'ils occupent de nombreuses zones géographiques ;
- inversement (Figure 6, phase 2), lorsque leur dispersion géographique sera très réduite, ils exprimeront une très forte disparité morphologique ;

- leur période de plus forte colonisation géographique (Figure 6, phase 3) est marquée par une baisse de la disparité morphologique ;

- ce n'est que plus tard au cours de leur histoire (Figure 6, phase 4) que les deux paramètres présenteront des variations plus ou moins parallèles.

Trouver une logique à ces observations reste bien difficile ! Il n'existe pas de relation forte entre l'expansion géographique et l'augmentation de la disparité des formes. Tout se passe en fait comme si les stylophores étaient capables de migrer seulement si les conditions environnementales qu'ils affectionnent étaient elles aussi répandues géographiquement. Dans un tel contexte, la disparité morphologique reste stable. Il est alors probable ici que l'indice d'occupation géographique ne soit que très peu révélateur des conditions environnementales. Les phases d'augmentation forte de la disparité seraient alors sous contrôle de contraintes environnementales locales, sans pour autant que ces organismes aient colonisé des aires géographiques fort distantes.

La biodiversité n'est pas un long fleuve tranquille

A l'heure où la biodiversité est un sujet dépassant largement le cadre du domaine scientifique, quels enseignements tirer de ces exemples ? A l'évidence, la biodiversité est en perpétuel ajustement, évidemment sous contrôle de facteurs locaux et de contraintes génétiques, mais également sous contrôle de facteurs agissant à de grandes échelles comme nous venons de l'expliquer. Ainsi, il semble que l'échelle microévolutive (sur un temps court, de l'ordre de quelques générations) et macroévolutive (sur un temps long, au-delà du million d'années) soient pour une part non négligeable indépendantes. Dans un tel contexte, le paléontologue apporte une dimension irremplaçable à l'étude de cette biodiversité : le temps. Il démontre ainsi des phases de modifications brusques des morphologies, ou des phases de stabilité tout au long des temps géologiques. Il démontre également le rôle fort du hasard dans la dynamique de la biodiversité (si la deuxième migration des ammonites de l'océan Boréal jurassique n'avait pas été possible, que seraient-elles devenues ?).

Si l'on accepte ce découplage entre microévolution et macroévolution, une conséquence apparaît alors : il est nécessaire – et de notre point de vue indispensable – de développer des travaux offrant une pluralité des approches, en particulier en ce qui concerne les échelles de temps et d'espaces. Notre prochain défi sera donc d'intégrer des données descriptives variées de la biodiversité, en termes de temps et d'espace, selon des approches elles aussi variées (morphologiques, phylogénétiques, ontogénétiques, environnementales ou autres). C'est à la faveur de cette pluralité, exprimée au sein de l'UMR Biogéosciences, que nous affinerons notre compréhension du monde biologique actuel ou fossile et que nous pourrions espérer en tirer des conséquences quant à la gestion de la biodiversité actuelle. ■

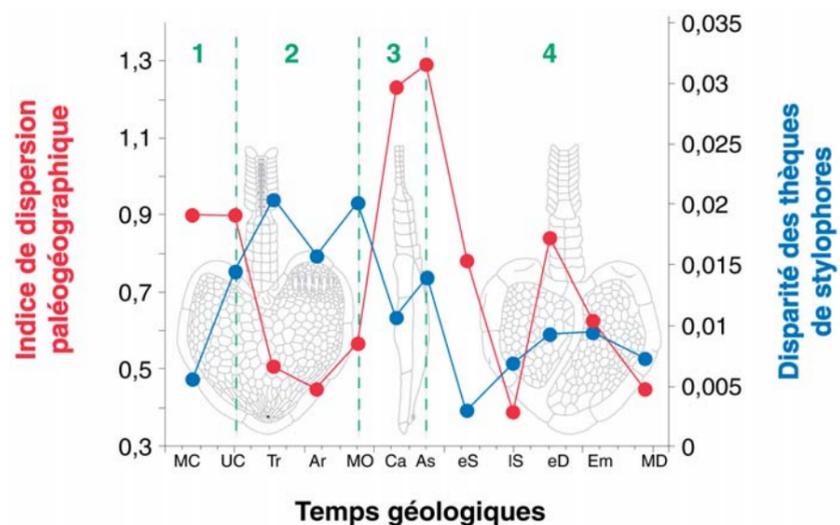


Figure 6 (d'après Lefebvre et al in prep.). Fluctuations de la disparité géographique et de la disparité morphologiques des thèques de stylophores (Echinodermes) du Cambrien moyen au Dévonien moyen. Fond de l'image : morphologie d'un stylophore (droite : vue inférieure, centre : vue latérale, gauche : vue supérieure). Les chiffres en vert indiquent les différentes phases de l'histoire des stylophores (voir texte).

Tableau 1

Personnels impliqués dans le thème Macroévolution et dynamique de la biodiversité au sein de l'UMR CNRS 5561 Biogéosciences de l'Université de Bourgogne (contrat en cours).

| | |
|-----------------------|--|
| Pascal Neige | PR uB, responsable de l'équipe |
| Paul Alibert | MCF, uB |
| Jean Chaline | DR CNRS Emérite |
| Thérèse Choné | IE CNRS |
| Sébastien Couette | Doctorant |
| Bruno David | DR CNRS |
| Jean-Louis Dommergues | DR CNRS |
| Gunther Eble | CR CNRS |
| Eric François | Ancien doctorant |
| Sylvain Gerber | Doctorant |
| Nathalie Guichard | TCN CNRS |
| Bernard Laurin | PR uB |
| Bertrand Lefebvre | CR CNRS |
| Françoise Magniez | CR CNRS |
| Didier Marchand | MCF uB |
| Frédéric Marin | CR CNRS |
| Sophie Montuire | MCF EPHE |
| Sébastien Moyne | ATER uB |
| Elise Nardin | Doctorant |
| Nicolas Navarro | Ancien doctorant, Stage post-doctoral à Manchester |
| Aurélien Pierre | Doctorant |
| Isabelle Rouget | Ancienne doctorante, MCF Université Paris 6 |
| Michel Roux | PR Université de Reims |
| Thomas Saucède | Ancien doctorant, Vacataire Université Grenoble |
| Jacques Thierry | PR uB |
| Jérôme Thomas | IGE uB |
| Christelle Tougard | CR CNRS |
| Loïc Villier | Ancien doctorant, MCF Université de Provence |

Bibliographie

- David, B., Alibert, P. & Neige, P. 2004. Promenade dans un espace des formes. *Pour la Science*, Dossier n°44, 46-50.
- Eble, G.J. 2004. The macroevolution of phenotypic integration, pp. 253-273. In : M. Pigliucci & K. Preston (Eds.), *Phenotypic integration. Studying the Ecology and Evolution of Complex Phenotypes*. Oxford University Press.
- Eldredge, N. & Gould, S.J. 1972. Punctuated equilibria: an alternative to phyletic gradualism, pp. 82-115. In : T.J.M. Schopf (Ed.), *Models in paleobiology*. Freeman, San Francisco.
- Foote, M. 1993. Discordance and concordance between morphological and taxonomic diversity. *Paleobiology* 19, 185-204.
- Gould, S.J. 1991. *La vie est belle*. 396 pages. Editions du Seuil, Paris.
- Jacobs D.K. & Landman N.H. 1993. Nautilus - a poor model for the function and behavior of ammonoids ? *Lethaia* 26, 101-111.
- Lefebvre, B., Navarro, N., David, B. & Eble, G. 2004. Stylophoran diversification in space and time : a quantitative approach, pp. 593. In : T. Heinzeller & J.H. Nebelsick (Eds.), *Echinoderms : München*. A.A. Balkema Publishers, Leiden.
- Navarro, N. 2003. MDA : a MATLAB-based program for morphospace-disparity analysis. *Computer & Geosciences*, 29, 655-664.
- Navarro, N., Neige, P. & Marchand, D. 2005. Faunal invasions as a source of morphological constraints and innovations ? The diversification of the early *Cardioceratidae* (Ammonoidea; Middle Jurassic). *Paleobiology*, 35, 98-116.
- Neige, P. 2003a. Le débat macroévolutif : apports de la disparité morphologique. *Comptes Rendus de l'Académie de Sciences Palevol*, 2, 423-433.
- Neige, P. 2003b. Spatial patterns of disparity and diversity of the Recent cuttlefishes (Cephalopoda) across the Old World. *Journal of Biogeography* 30(8), 1125-1137.

Les Mécanismes de défenses chez les plantes

■ Professeur Alain PUGIN
Equipe « Signalisation cellulaire et moléculaire
dans les interactions plantes/microorganismes »
UMR INRA 1088-CNRS 5184

Statutaires :

■ Marielle ADRIAN,
■ Marc BENTEJAC,
■ Stéphane BOURQUE
■ Annick CHILTZ
■ Xavier DAIRE,
■ Angela GARCIA-BRUGGER
■ Marie-Claire HELOIR

■ Agnès KLINGUER
■ Benoit POINSSOT
■ Alain PUGIN
■ Elisabeth TROUCHE
■ Sophie TROUVELOT
■ David WENDEHENNE

Allocataires de recherches :

■ Mathilde ALLEGRE
■ Sabrina BLANC
■ Cécile COURTOIS
■ Jennifer DAHAN
■ Elodie VANDELLE

Situation du sujet

Dans la nature, les plantes sont confrontées à un grand nombre de pathogènes potentiels : virus, bactéries, phytoplasmes, oomycètes, champignons, insectes, herbivores etc... Néanmoins, une espèce végétale, voire un cultivar, n'est sensible qu'à quelques-uns d'entre eux, souvent même à une seule souche de microbes. La maladie est donc une situation plutôt exceptionnelle même si les dégâts occasionnés ont des conséquences socio-économiques très importantes. Le phylloxera qui a anéanti le vignoble français, le mildiou de la pomme de terre en Irlande au 19^e siècle (2 millions de morts et une émigration importante vers les Etats-Unis) ou aujourd'hui une rouille du riz en Asie du Sud Est (15 milliards de dollars de perte annuelle) ne sont que quelques exemples de ces fléaux. Pour lutter contre les maladies, l'homme a développé une panoplie de méthodes et d'outils : introduction de gènes de résistance dans les espèces cultivées sensibles par croisement avec des espèces sauvages résistantes (hybrides), greffage des cépages de vigne français sensibles sur des porte-greffes de vigne américains résistants (situation actuelle),

lutte biologique (confusion sexuelle par exemple), utilisation de pesticides variés. Néanmoins, des estimations récentes indiquent que dans le monde, 30 % des récoltes sont détruites au champ ou sur les lieux de stockage par des pathogènes. L'introduction de gènes de résistance aux pathogènes (quand ils sont connus) par génie génétique est une stratégie actuellement rejetée, en France en particulier. Par ailleurs, l'utilisation intense des pesticides, dont l'efficacité est certaine, pose plusieurs problèmes, en particulier, l'apparition de souches de pathogènes résistantes, la toxicité des produits phytosanitaires pour l'utilisateur et le consommateur et la présence de résidus toxiques dans l'alimentation et l'environnement. Les nouvelles normes européennes en matière de protection de la santé et de l'environnement vont conduire à une interdiction progressive de nombreux produits phytosanitaires (environ 60 %) laissant parfois les producteurs désarmés face aux pathogènes qui ravagent leurs cultures.

Comprendre les origines de la résistance chez les plantes doit permettre à terme de proposer des solutions alternatives/complémentaires aux stratégies

actuelles pour mieux contrôler les pathogènes et réduire l'apport de produits phytosanitaires.

Les plantes possèdent des barrières naturelles physiques et chimiques qui s'opposent au développement des pathogènes : cuticules et parois cellulaires et composés à activité antimicrobienne. Certains pathogènes parviennent néanmoins à franchir ces premières lignes de défense en pénétrant par des blessures, des orifices naturels, en digérant les parois ou en métabolisant les composés antimicrobiens (détoxification). L'issue de la confrontation entre la plante et le « microbe » dépend alors de la capacité de la plante à identifier le pathogène. L'absence de reconnaissance permet au pathogène d'envahir son hôte et la maladie se développe. Au contraire, lorsque la plante reconnaît l'envahisseur, elle active un processus complexe de défenses qui va conduire à l'arrêt du développement et à la mort du pathogène. Cette étape de reconnaissance, déterminante pour l'issue de la confrontation, implique une interaction physique entre des « éliciteurs » (voir encadré) et des récepteurs de la plante. Schématiquement, on peut considérer

que les éliciteurs sont les produits des gènes d'avirulence du « microbe » et les récepteurs les produits des gènes de résistance de la plante (concept gène à gène proposé par Flor en 1947 et étendu à interaction éliciteur-récepteur par Albersheim en 1975). L'absence de l'un ou l'autre des gènes, et donc des produits correspondants, chez l'un ou l'autre des protagonistes empêche la plante de reconnaître son agresseur qui l'envahit. Dans la situation où la plante possède les éléments de reconnaissance, l'interaction éliciteur/récepteur déprime ou stimule une cascade de réactions au sein de la plante qui va conduire à l'expression de défenses efficaces contre les pathogènes. Néanmoins, certains pathogènes identifiés par la plante ont la possibilité d'inhiber ces réactions de défense.

Notre équipe et d'autres ont contribué à comprendre ces mécanismes de reconnaissance et ceux qui activent les défenses. La conclusion majeure de ces travaux est que les plantes possèdent des éléments similaires à ceux de l'immunité innée bien connue chez les animaux. Sur ces bases de recherches fondamentales, il est possible maintenant d'envisager d'activer ces mécanismes de défenses par l'application d'éliciteurs d'origine naturelle et ainsi de réduire l'utilisation des pesticides. La validité de cette stratégie de lutte contre les pathogènes a été démontrée au laboratoire. Il nous reste à réussir sur le terrain.

Résultats de l'équipe et applications

Au cours des dix dernières années nous avons obtenu des résultats originaux sur les mécanismes d'action de plusieurs éliciteurs chez des plantes modèles (Tabac et Arabidopsis) et chez une plante d'un grand intérêt économique, la vigne. Le schéma ci dessous (Figure 1) résume l'état des connaissances acquises par l'équipe, du mode d'action d'un éliciteur, la cryptogéine, une petite protéine de 98 acides aminés sécrétée

par l'oomycète *Phytophthora cryptogea*. Cet éliciteur induit la protection de plants de tabac contre un large spectre de pathogènes et une réponse hypersensible (mort cellulaire) qui bloque le développement du pathogène (Ricci et al., 1989). En premier lieu, l'éliciteur se fixe sur un récepteur protéique de la membrane plasmique qui a été caractérisé pour ses propriétés biochimiques et sa spécificité (Bourque et al., 1999). Cette étape de reconnaissance s'accompagne d'événements de phosphorylations de protéines impliquant des protéines kinases et leurs substrats phosphorylés. Nous avons montré qu'une protéine phosphatase contrôle négativement l'ensemble de la cascade de signalisation qui conduit à l'expression des défenses (Lecourieux-Ouaked et al., 2000). Cette observation indique qu'en absence de pathogène, les mécanismes de défense sont présents mais « en sommeil », évitant à la plante une consommation d'énergie inutile. Ensuite, un fort influx de calcium (Tavernier et al., 1995) induit de nombreux événements dont : - une sortie d'anions de la cellule (chlorure et nitrate) qui induit une dépolarisation de la membrane plasmique et qui est impli-

qué dans la mort cellulaire (Wendehenne et al., 2002), - l'activation d'une NADPH-oxydase, génératrice d'anions superoxydes transformés en H₂O₂ (peroxyde d'hydrogène) par une superoxyde dismutase (SOD), et responsable d'une acidification du cytosol (Pugin et al., 1997), - l'activation de deux MAPK (Mitogen Activated Protein Kinases), des enzymes connues dans le monde animal pour « conduire » une information jusqu'au noyau (Lebrun et al., 1998), - la dépolymérisation des microtubules (Binet et al., 2001), - une élévation de la concentration en calcium libre dans le cytoplasme qui active des canaux calciques intracellulaires (Lecourieux et al., 2002), - l'inhibition des transporteurs du glucose et d'acides aminés associée à une diminution de la respiration cellulaire (Bourque et al., 2002), - la production de monoxyde d'azote (NO ; Figure 2) qui active des canaux calciques intracellulaires (Wendehenne et al., 2001; Lamotte et al., 2004) et dont les effets pro- et anti-apoptotiques ou encore vasodilatateurs sont bien connus chez l'homme (l'un de nous, D.W., a participé à la découverte de cette molécule chez les plantes), - la

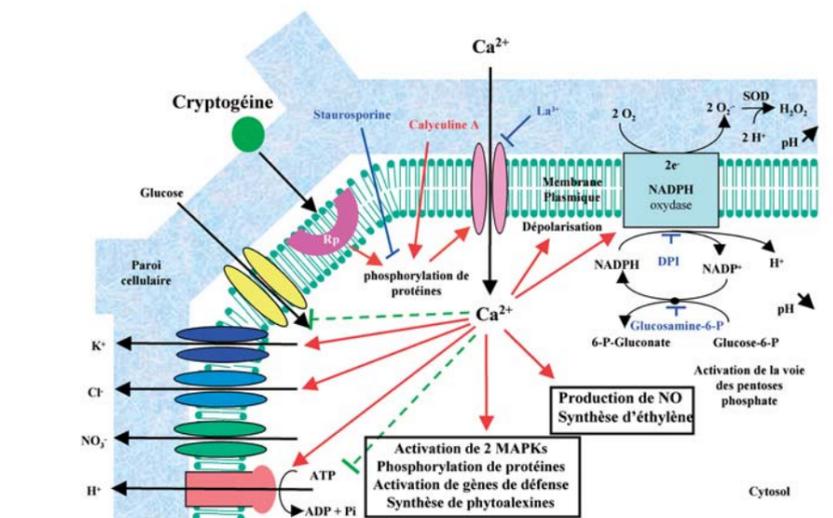


Figure 1 : Mécanismes d'action d'un éliciteur de réactions de défenses

production de phytoalexines qui sont des composés antimicrobiens (Tavernier et al., 1995), - l'activation de gènes de défenses. Des travaux en cours au laboratoire sont focalisés sur l'étude des relations entre NO, H₂O₂ et le calcium dans ce processus de signalisation et l'identification des cibles de NO. D'autres travaux visent à identifier les protéines kinases activées et leurs cibles. Nous avons aussi étudié le mode d'action sur le tabac d'autres éliciteurs, de nature chimique différente, en particulier des oligogalacturonates (fragments de pectine, composant de la paroi cellulaire des plantes libérés par des enzymes hydrolytiques de champignons). Cet éliciteur oligosaccharidique qui n'induit pas de réaction hypersensible (mort cellulaire localisée) a un mode d'action comparable à celui de la cryptogéine. La seule différence réside dans l'intensité de l'influx de calcium. Cette observation suggère que, sur une même espèce végétale, différents éliciteurs activeraient les mêmes mécanismes.

La cascade de signalisation décryptée et les acteurs qui la composent: récepteur, enzymes, canaux ioniques, seconds messagers tels que calcium libre, pH cytosolique, H₂O₂, NO... correspondent à ceux décrits dans des cellules animales spécialisées dans la défense, les macrophages. Nos travaux et d'autres ont conduit à la conclusion que les mécanismes de l'immunité innée décrits chez les animaux étaient conservés dans le monde végétal. Dès lors, en cas d'attaque parasitaire d'une espèce végétale, l'activation des défenses par des éliciteurs efficaces ou encore l'application de produits capables d'activer/inhiber des protéines de ce processus devrait permettre de protéger la plante contre les pathogènes sans apport de produits phytosanitaires. Tel est l'enjeu appliqué de cette recherche fondamentale.

La vigne est sensible à de nombreux pathogènes (Botrytis, agents du mildiou et de l'oïdium...) qui sont combattus essentiellement au moyen de la lutte

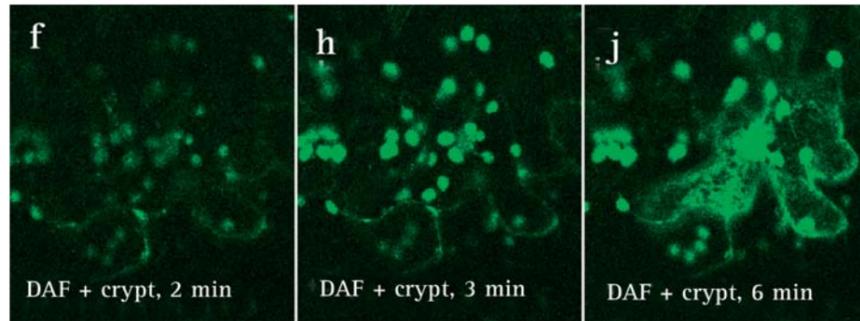


Figure 2 : Production de NO dans des cellules de tabac en réponse à l'éliciteur cryptogéine après 2, 3 et 6 min de traitement. DAF, Diaminofluorescéine : sonde fluorescente utilisée pour détecter le NO

chimique. En France, la viticulture consomme 50 % des produits phytosanitaires alors qu'elle représente 3,2 % des surfaces cultivées. Les réglementations internationales incitent d'ailleurs à limiter l'utilisation des produits phytosanitaires en viticulture afin de maintenir, voire améliorer, la qualité du raisin tout en adoptant des pratiques culturales qui respectent l'environnement et assurent la santé du consommateur. La synthèse des enquêtes réalisées par le Comité d'Intérêt Scientifique et Technique (CIST) de Bourgogne, présentée dans le « Rapport d'orientation 2000-2006, pour une viticulture durable et des vins de qualité » fixe également comme priorité d'accélérer la production raisonnée en viticulture notamment par une meilleure utilisation des défenses naturelles de la vigne.

La vigne est une plante pour laquelle la résistance aux pathogènes ne peut pas être obtenue par amélioration génétique (hybridation classique et génie génétique) dans le cadre de la législation actuelle. En effet, en France, nos Appellations d'Origine font référence à des cépages définis qui permettent l'expression de la typicité de nos crus alors que l'hybridation, en particulier, provoque des remaniements importants du patrimoine génétique des cépages et des modifications de la typicité variétale. Tel fut le cas après la destruction du vignoble français par le phylloxera, et à la suite de la production d'hybrides résistants issus de croisements entre nos cépages sensibles et des plants de vigne américains résistants. En 1955, une loi

fut donc promulguée obligeant l'arrachage des hybrides producteurs directs (HPD) sur plusieurs millions d'hectares. Néanmoins plusieurs pays, notamment européens (Allemagne, Suisse, Pays de l'Est), produisent des hybrides résistants et sont en passe de les cultiver à grande échelle parce qu'ils nécessitent peu ou pas de produits phytosanitaires. Par ailleurs, L'INAO a rejeté la possibilité d'utiliser des organismes génétiquement modifiés dans les vignes destinées à produire des vins d'AOC (Juin 1999). Une alternative à ces deux stratégies consiste à activer les défenses naturelles de la vigne pour accroître sa tolérance aux pathogènes et limiter ainsi l'emploi de produits phytosanitaires et la quantité de résidus de ces produits présents dans les vins. Cette nouvelle approche correspond aux attentes de la profession et des consommateurs. C'est dans ce contexte et sur la base de nos recherches fondamentales avec des plantes modèles que nous avons engagé des recherches sur les défenses de la

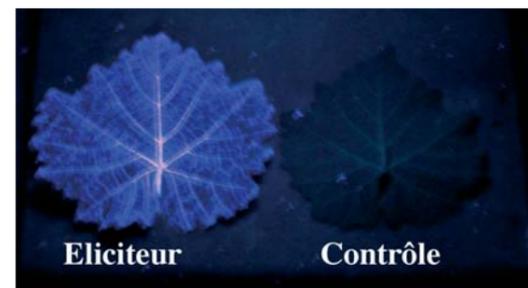


Figure 3 : Production de resvératrol (fluorescence bleue) dans une feuille de vigne traitée par un éliciteur.

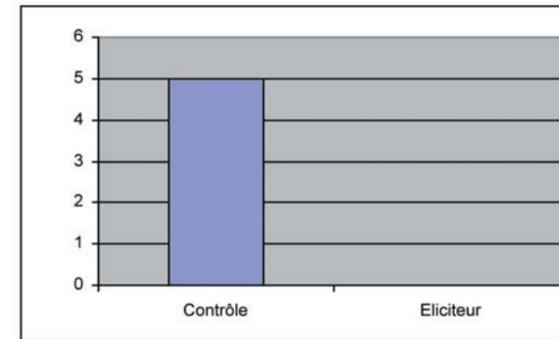


Figure 4 : Effet protecteur d'un éliciteur des réactions de défense de la vigne contre *Plasmopara viticola*. Des disques de feuilles de vignes sont mis à flotter pendant 48 h sur une solution contenant l'éliciteur avant d'être inoculés par le champignon. La figure représente le niveau d'infection 6 jours après l'inoculation (photo : développement mycélien en blanc; histogramme : millions de spores par disque).

vigne, étape préliminaire à des applications d'éliciteurs au vignoble. Nous avons d'abord mis au point plusieurs tests biologiques pour : - mettre en évidence des activités élicitrices à l'aide de suspensions cellulaires de différents cépages de vigne (Gamay, Pinot) avec lesquelles nous pouvons déceler les événements caractéristiques d'une élévation exposés figure 1, dont la production de phytoalexines (resvératrol et dérivés, Figure 3), - vérifier l'aptitude des éliciteurs sélectionnés à protéger la vigne contre Botrytis et le mildiou. Les tests de protection sont réalisés sur disques foliaires, feuille entière, et plante entière. Ils consistent à traiter le matériel végétal par un éliciteur puis à l'infecter par un pathogène, en particulier *Plasmopara viticola* (agent du mildiou) et Botrytis, dont on suit le développement en comparaison avec du matériel végétal non élicité (Figure 4). Ces tests sont aussi utilisés pour définir l'adjuvant

approprié à la meilleure pénétration de l'éliciteur dans la plante. L'ensemble de ces tests sont des outils indispensables à la base de toute stratégie de recherche de molécules capables d'activer les réactions de défense. Ils nous ont permis d'analyser l'efficacité d'environ vingt composés dérivés d'algues fournis par la Société Goëmar ou produits au laboratoire et de sélectionner des composés actifs. En particulier nous avons purifié et identifié un éliciteur très efficace produit par une souche de Botrytis peu pathogène pour la vigne (l'absence de virulence de cette souche pourrait être liée à la présence de ce composé). A notre grande surprise, cet éliciteur est l'endopolysaccharuronase 1 (BcPG1) de Botrytis, une enzyme susceptible d'hydrolyser les parois de la plante et donc considérée comme un facteur de virulence. Son activité élicitrice pouvait être due à ses produits d'hydrolyse, les oligogalacturonates, dont nous et d'autres

avons montré l'activité élicitrice. En fait, nos résultats montrent que ce n'est pas le cas et que c'est la protéine elle-même qui est élicitrice. Ce résultat est conforme à un modèle récent (modèle de garde) qui suggère que de nombreux éliciteurs sont, à l'origine, des agents de virulence maintenant reconnus par des récepteurs spécifiques de la plante qui activent la cascade conduisant à l'expression des défenses. Nous avons montré que BcPG1 induit des mécanismes de défense dans des cellules de vigne via la reconnaissance spécifique d'un motif protéique propre à l'enzyme. La perception de l'éliciteur par un récepteur spécifique active de nombreux événements cellulaires de défense précoces, dont nous avons analysé la séquence (Poinssot et al., 2003 ; Vandelle et al., 2005). Ainsi, grâce à ce premier éliciteur efficace sur la vigne, nous avons pu pour la première fois décrire dans cette plante un large éventail de réactions de défenses qui sont qualitativement comparables à celles induites dans le tabac par un autre éliciteur (Figure 1) mais différentes dans leur organisation.

Les dérivés d'algues fournis par la Société Goëmar, actifs, en terme d'activation de réactions de défenses et de protection de la vigne contre *Plasmopara viticola* et *Botrytis cinerea* au laboratoire (Aziz et al., 2003) (Figure 2) se sont avérés peu ou pas efficaces au vignoble alors que l'un de ces produits brevetés (Iodus 40) est, selon la Société Goëmar, efficace sur le blé. L'analyse des raisons de l'inefficacité de nos éliciteurs au vignoble par une étude fine de la structure de la feuille de vigne et des analyses de pénétration des produits nous ont conduit à la conclusion que ces produits ne pénètrent pas la feuille de vigne alors qu'ils pénètrent la feuille de blé. Des démarches expérimentales sont en cours pour tenter de faire pénétrer ces dérivés d'algues à l'aide d'adjuvants appropriés. En cas d'échec, nous chercherons d'autres éliciteurs plus hydrophobes susceptibles de diffuser au travers des cuticules.

Conclusions et perspectives

Notre équipe a largement contribué à mieux comprendre les bases moléculaires de la résistance chez les plantes qui fait appel à des mécanismes/acteurs comparables à ceux de l'immunité innée décrite dans le monde animal. Néanmoins, nos connaissances sont encore très rudimentaires et insuffisantes pour parfaitement appréhender la complexité des relations entre la plante, les microbes et son environnement. Concernant les applications, nos travaux et d'autres ont démontré la crédibilité d'une stratégie d'activation des réactions de défense de la plante pour lutter contre ses pathogènes. Cette stratégie, complémentaire et/ou alternative à l'utilisation massive de produits phytosanitaires doit permettre de réduire l'utilisation de ces produits et ainsi contribuer à préserver la qualité de notre environnement et des produits de notre alimentation. Néanmoins, cette stratégie est complexe : alors qu'un pesticide cible directement le pathogène, l'éliciteur doit d'abord agir sur la plante qui, elle-même, doit agir contre le pathogène. Sachant que l'aptitude de

la plante à se défendre dépend aussi des conditions de son environnement (par exemple, disponibilité en eau, en nutriments en calcium libre, intensité lumineuse), il est évident qu'une meilleure connaissance de la physiologie de la vigne est nécessaire pour espérer dominer la stratégie d'activation des défenses. Conscients de ces difficultés, les scientifiques du campus de Dijon impliqués dans des recherches sur la physiologie de la plante et ses interactions avec les pathogènes et l'environnement vont se regrouper et unir leurs compétences au sein d'un seul et même Institut (CMSE pour Centre de Microbiologie des Sols et de l'Environnement) dont la première pierre a été posée par les instances de l'Etat, de la Région, de la Ville de Dijon, de l'Université, de l'INRA le 12 Janvier 2005). Cette nouvelle structure doit à coup sûr fédérer les compétences complémentaires en physiologie, biochimie et microbiologie pour relever les défis futurs et en particulier mieux gérer notre environnement et notre santé. ■

Eliciteurs : produits émis par les micro-organismes ou composés libérés des parois de la plante ou du microbe par des enzymes du micro-organisme ou de la plante. Tout composé, naturel ou de synthèse, capable d'activer les réactions de défense de la plante peut être qualifié d'éliciteur. Les éliciteurs ont des natures chimiques très variées : protéique, glucidique, glycoprotéique, lipidique... Il existe aussi des éliciteurs de synthèse, dérivés de substances naturelles produites par la plante pour sa défense.

Bibliographie

- P. RICCI, P. BONNET, J.C. HUET, M. SALLANTIN, F. BEAUVAIS-CANTÉ, M. BRUNETEAU, V. BILLARD, G. MICHEL, J.C. PERNOLLET, « Structure and Activity of Proteins from Pathogenic Fungi Phytophthora Eliciting Necrosis and Acquired Resistance in Tobacco », *European Journal of Biochemistry*, 183 (1989), 555-563.
- S. BOURQUE, M.N. BINET, M. PONCHET, A. PUGIN, A. LEBRUN-GARCIA, « Characterization of the Cryptogein Binding Sites on Plant Plasma Membrane », *Journal of Biological Chemistry*, 274 (1999), 34699-34705.
- F. LECOURIEUX-OUAKED, A. PUGIN, A. LEBRUN-GARCIA, « Phosphoproteins Involved in the Signal Transduction of Cryptogein, an Elicitor of Defense Reactions in Tobacco », *Mol. Plant-Microb. Interac.*, 13 (2000), 821-829.
- A. LEBRUN-GARCIA, F. OUAKED, A. CHILTZ, A. PUGIN, « Activation of MAPK Homologues by Elicitors in Tobacco Cells », *The Plant Journal*, 15 (1998), 773-781.
- E. TAVERNIER, D. WENDEHENNE, J.P. BLEIN, A. PUGIN, « Involvement of Free Calcium in Action of Cryptogein, a Proteinaceous Elicitor of Hypersensitive Reaction in Tobacco Cells », *Plant Physiology*, 109 (1995), 1025-1031.
- D. WENDEHENNE, O. LAMOTTE, J.M. FRACHISSE, H. BARBIER-BRYGOO, A. PUGIN, « Nitrate Efflux is an Essential Component of the Cryptogein Signaling Pathway Leading to Defense Responses and Hypersensitive Cell Death in Tobacco », *The Plant Cell*, 14 (2002), 1937-1951.
- A. PUGIN, J.M. FRACHISSE, E. TAVERNIER, R. BLIGNY, E. GOUT, R. DOUCE, J. GUERN, « Early Events Induced by the Elicitor Cryptogein in Tobacco Cells : Involvement of a Plasma Membrane NADPH Oxidase and Activation of Glycolysis and Pentose Phosphate Pathway », *The Plant Cell*, 9 (1997), 2077-2091.
- M.N. BINET, C. HUMBERT, D. LECOURIEUX, M. VANTARD et A. PUGIN, « Disruption of Microtubular Cytoskeleton Induced by Cryptogein, an Elicitor of Hypersensitive Response in Tobacco Cells », *Plant Physiology*, 125 (2001), 564-572.
- D. LECOURIEUX, C. MAZARS, N. PAULY, R. RANJEVA, A. PUGIN, « Analysis of Cytosolic Free Calcium Elevations in Response to Elicitors in Tobacco Cells », *The Plant Cell*, 14 (10) (2002) : 2627-41.
- B. POINSSOT, E. VANDELLE, M. BENTÉJAC, M. ADRIAN, C. LEVIS, Y. BRYGOO, J. GARIN, F. SICILIA, P. COUTOS-THÉVENOT, A. PUGIN, « The Endopolygalacturonase 1 from Botrytis Cinerea Activates Grapevine Defence Reactions Unrelated to its Enzymatic Activity », *Molecular Plant Microbe Interactions*, 16 (6) (2003) : 553-64.
- O. LAMOTTE, K. GOULD, D. LECOURIEUX, A. SEQUEIRA-LEGRAND, A. LEBRUN-GARCIA, J. DURNER, A. PUGIN, D. WENDEHENNE, « Analysis of Nitric Oxide Signaling Functions in Tobacco Cells Challenged by the Elicitor Cryptogein », *Plant Physiology*, 135 (1) (2004) : 516-29.
- S. BOURQUE, R. LEMOINE, A. SEQUEIRA-LEGRAND, L. FAYOLLE, S. DELROT, A. PUGIN, « The Elicitor Cryptogein Blocks Glucose Transport in Tobacco Cells », *Plant Physiology*, 130 (4) (2002) : 2177-87.
- E. VANDELLE, B. POINSSOT, D. WENDEHENNE, M. BENTÉJAC, A. PUGIN, « Relationships between Calcium, Nitric Oxide and Active Oxygen Species in Grapevine Defence Responses » (2005). *Mol. Plant-Microb. Interac.* sous presse.
- D. WENDEHENNE, A. PUGIN, D. KLESSIG and J. DURNER, 2001. Nitric oxide: comparative synthesis and signaling in animal and plant cells. *Trends Plant Sci.*, 6: 177-183.

La mycologie prévisionnelle et la sécurité alimentaire : de la prédiction à la prévention

■ Philippe DANTIGNY
 ■ Maurice BENSOUSSAN
 GTR en Mycologie et Sécurité microbiologique, UMR UB/INRA 1232 ENSBANA

La sécurité microbiologique des aliments est l'un des défis majeurs de la filière agro-alimentaire. Dans le cadre de la directive européenne 93/43 qui établit une nouvelle conception de l'hygiène alimentaire, les professionnels ont à s'assurer de la qualité de leurs produits. Ainsi, pour répondre aux attentes des consommateurs, les matières premières, et les produits alimentaires issus de transformations technologiques de moins en moins drastiques, doivent présenter le risque microbiologique le plus faible possible.

Les moisissures sont à l'origine de risques le plus fréquemment d'ordre économique par leur potentialité d'altération des aliments. Elles ne sont pas cependant exemptes de risque sanitaire, car certaines produisent des mycotoxines, parfois cancérigènes. Il est donc essentiel de maîtriser ce risque de contamination.

L'Université de Bourgogne compte dans ses rangs une unité de recherche en Mycologie et Sécurité microbiologique Ce laboratoire a développé une nouvelle thématique de recherche intitulée « mycologie prévisionnelle »^{1,2,3} dont l'objectif général est l'élaboration de modèles mathématiques prédictifs du développement fongique et de la production de mycotoxines en fonction des conditions environnementales. Les moisissures se développent habituellement de manière végétative en surface des produits et leur dissémination est assurée par des spores. En conditions favorables, ces spores gonflent grâce à une entrée d'eau, émettent des tubes germinatifs [germination] et constituent des mycéliums qui s'allongent [croissance] jusqu'à former des colonies visibles à l'œil nu. Après quelques jours, des cellules matures du mycélium produisent de nouvelles spores, et pour certaines excrètent des mycotoxines, bouclant ainsi le cycle végétatif.

L'approche de modélisation comprend deux étapes : les *modèles primaires* et les *modèles secondaires*. Les modèles primaires s'appliquent à la germination et à la croissance. La cinétique de germination s'évalue au microscope, par le pourcentage de spores germées P (%) en fonction du temps t (h). Une loi de type logistique : $P = P_{\max} / (1 + \exp(k \cdot (\tau - t)))$ a été développée au laboratoire pour estimer le temps de germination τ (h) au bout duquel $P = P_{\max} / 2$; P_{\max} étant le pourcentage maximum de spores capables de germer. La cinétique de croissance à la surface d'un milieu modèle se détermine facilement en mesurant le rayon r (mm) de la

colonie en fonction du temps t (j). Un modèle linéaire: $r = \mu \cdot (\lambda - t)$ permet d'estimer le taux de croissance radiale μ (mm/j) et λ (j) le temps de latence précédant la croissance. Les *modèles secondaires* permettent de décrire les relations qui associent les paramètres des modèles primaires (μ ou λ) aux facteurs environnementaux comme la température, le pH, l'activité de l'eau du substrat ou la présence de conservateurs alimentaires.

Le laboratoire a développé de nouveaux modèles secondaires pour décrire l'influence de l'activité de l'eau⁴ et de l'éthanol⁵ sur le taux de croissance radiale de plusieurs espèces de moisissures. Une technique de standardisation de préparation des spores^{6,7} a également été mise au point pour substituer à la mesure de τ , celle de λ .

Sur le plan des applications, la période germinative qui correspond à une plus grande fragilité des spores est propice à des traitements antifongiques des matières premières agricoles, tandis que la maîtrise du temps de germination⁸ des spores donne à l'industriel de l'agroalimentaire une bonne appréciation de la date limite de consommation (DLC) de ses produits. ■

Notes

- ¹ Dantigny P., A. Guilmar, M. Bensoussan. (2003). Predictive mycology: some definitions. *Cryptogamie, Mycologie*, 24:377-383.
- ² Dantigny P. (2004). Predictive mycology, in McKellar, R.C. and Lu, X (eds) *Modeling microbial responses in food*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp 313-320.
- ³ Dantigny P., A. Guilmar, M. Bensoussan. *Basis of predictive mycology*, 2005. *Int. J. Food Microbiol.*, 100: 187-196.
- ⁴ Sautour M., P. Dantigny, C. Divies, M. Bensoussan. (2001). A temperature-type model for describing the relationship between fungal growth and water activity. *Int. J. Food Microbiol.*, 67: 63-69.
- ⁵ Dantigny P., A. Guilmar, F. Radoi, M. Bensoussan, M. Zwietering. 2005. Modelling the effect of ethanol on growth rate of food spoilage moulds. *Int. J. Food Microbiol.*, 98:261-269.
- ⁶ Dantigny P., C. Soares Mansur, M. Sautour, I. Tchobanov, and M. Bensoussan. (2002). Relationship between spore germination kinetics and lag time during growth of *Mucor racemosus*. *Lett. Appl. Microbiol.*, 35: 395-398.
- ⁷ Sautour M., P. Dantigny, M.-C. Guilhem and M. Bensoussan. (2003). Influence of inoculum preparation on the growth of *Penicillium chrysogenum*. *J. Appl. Microbiol.*, 95: 1034-1038.
- ⁸ Dantigny P., I. Tchobanov, M. Bensoussan, and M. H. Zwietering. 2005. Modelling the effect of ethanol vapour on the germination time of *Penicillium chrysogenum*. *J. Food Prot.*, 68: 1203-1207.