



Alain Soler<sup>1</sup>,  
Paul-Marie  
Alphonsine<sup>1</sup>,  
Claudine Corbion<sup>1</sup>,  
Serge Marie-Luce<sup>2</sup>,  
Patrick Quénéhervé<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Cirad-PRAM, BP 214  
Petit-Morne,  
97285 Le Lamentin  
Cedex 2

<sup>2</sup> IRD-PRAM  
BP 214 - Petit-Morne,  
97285 Le Lamentin  
Cedex 2

*\*Éliciteurs : les éliciteurs sont des petites molécules reconnues par des récepteurs membranaires de la plante. Lorsqu'elles proviennent d'un organisme pathogène (nématodes, champignons) ou d'un organisme bénéfique (mycorhizes, rhizobactéries), on parle d'éliciteurs exogènes. Mais suite à une interaction avec un organisme étranger, la plante peut produire ses propres éliciteurs, par exemple des petites molécules, issues des parois cellulaires, on parle alors d'éliciteurs endogènes.*

## Les défenses naturelles des plantes contre les bioagresseurs : un nouvel atout dans la mise au point de systèmes de cultures plus écologiques.

**L**es monocultures, que ce soit en maraîchage ou en cultures fruitières, et l'utilisation intensive de pesticides ont fortement contribué à la baisse de la biodiversité de la faune et la flore dans les agrosystèmes des Antilles. Un déséquilibre dommageable pour l'environnement mais aussi pour les cultures a ainsi été créé entre organismes bénéfiques et organismes pathogènes, au profit de ces derniers.

Dans le même temps, la demande sociétale pour le respect de l'environnement par l'agriculture et pour une offre de produits alimentaires sains s'est accrue. La réglementation en matière d'usage de produits phytosanitaires a fortement réduit le nombre de spécialités autorisées sur le marché. En l'absence d'alternative simple aux pesticides, l'état sanitaire des exploitations aux Antilles s'est fortement dégradé ces dernières années ; tel est notamment le cas pour la culture de l'ananas avec la présence de cochenilles associées à la maladie du Wilt, de nématodes et de symphytes sur les racines, sans oublier de nombreuses plantes adventices.

Cependant, une alternative sérieuse à l'utilisation des pesticides repose sur la « stimulation des défenses naturelles des plantes ». Ces défenses naturelles présentent un réel intérêt phytosanitaire même si elles sont encore peu exploitées en champ. Dans son environnement, une plante est soumise à divers stress biotiques ou abiotiques mais elle peut se protéger contre des bioagresseurs potentiels malgré un « système immunitaire » peu évolué. Elle est dotée de plusieurs moyens de défense : le renforcement de sa paroi cellulaire, la stimulation de certaines enzymes de protection (peroxydases, polyphénol-oxydases ou protéines PR "Pathogenesis Related"), la production de substances biocides de type phytoalexines, de composés phénoliques divers ou de peroxydes toxiques. L'activation de plusieurs voies de signalisation internes à la plante est la clé de ces défenses naturelles globales et non spécifiques contre les bioagresseurs.

Plusieurs types de défenses naturelles globales peuvent être mis en œuvre. D'abord, la réaction d'*Hypersensibilité (HR)* qui se traduit par la mort rapide et programmée des cellules de la plante au point d'attaque par le bioagresseur. Cette réaction ralentit ainsi la progression des bioagresseurs dans la plante. Ensuite les *Résistances*

*Systémiques* qui s'établissent d'abord localement après reconnaissance d'éliciteurs(\*). Cette reconnaissance déclenche la propagation de la résistance à l'ensemble de la plante grâce à diverses voies de signalisation chimique, d'où le nom de résistances systémiques.

**La Résistance systémique acquise (RAS) :** Cette résistance systémique se met en place après agression par un pathogène et se caractérise par une voie de signalisation dépendant de l'acide salicylique.

**La Résistance systémique induite (RIS) :** cette résistance se met en place après interaction avec des organismes non pathogènes voire bénéfiques comme certaines mycorhizes ou des rhizobactéries. Ces micro-organismes endophytes (qui s'établissent dans le système racinaire de la plante) l'aident non seulement à se protéger contre des pathogènes potentiels mais stimulent souvent la croissance de la plante (apport de Phosphore ou d'Azote). La RIS se caractérise par une voie de signalisation dépendant de l'acide jasmonique, dont le dérivé actif principal est le méthyl-jasmonate (composant principal de l'arôme du Jasmin). Diverses autres molécules jouent également ce rôle de signal à travers la plante comme le peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> qui a aussi un rôle direct de défense en raison de sa toxicité pour les bioagresseurs. En milieu naturel, un ajustement fin entre les diverses voies de signalisation s'établit en permanence en fonction des variations du milieu et les contraintes subies par les plantes.

C'est vers ce dernier type de résistance (RIS) que nous avons orienté nos recherches pour l'ananas et la banane. Différents auteurs ont démontré l'induction de RIS en laboratoire soit par application directe de méthyl-jasmonate soit après mycorhization des plants pour la banane ou la tomate (Elsen *et al.*, 2008, Vos *et al.*, 2012). Ces défenses naturelles non spécifiques pourraient donc bien contribuer à une gestion alternative des bioagresseurs dans des systèmes de production plus écologiques (Valade and Goodman, 2004, Poso and Azcon-Aguilar, 2007). Notre objectif est donc à terme de mettre en place des systèmes agricoles permettant de restaurer une certaine biodiversité par l'utilisation de plantes de services. Cette biodiversité favorisant la mycorhization ou l'installation de rhizobactéries dans les systèmes racinaires des plants leur

Figure 1 : Stade d'extraction des nématodes *R. reniformis* du système racinaire de l'ananas. (Croissance des plants en pots durant 3 mois, poids initial 125g, poids final 201,6g. Les nématodes sont extraits de la gaine de sol entourant les racines).

Figure 2: Evaluation du développement de la population des nématodes après application du méthyl-jasmonate sur les 2 variétés MD-2 et Cayenne lisse. LAM : laminarine ; Met-Jasm : méthyl-jasmonate ; SA : acide salicylique.

permettra de réguler et mieux tolérer les bio-agresseurs du sol (Zamioudis and Pieterse, 2011). A titre d'exemple, nous avons mis en place une série d'expérimentations en serre pour caractériser une réponse de type RIS sur deux variétés d'ananas (MD-2 et Cayenne lisse) après application d'éliciteurs (méthyl-jasmonate, acide salicylique, et laminarine) pour contrôler le développement du nématode phytoparasite *Rotylenchulus reniformis*. Nous avons suivi les populations de nématodes et l'évolution de certaines activités enzymatiques liées à la défense des plantes. Les enzymes oxydatives, la lipoxigénase (LOX) et la phénylalanine ammonia-lyase (PAL) contrôlent respectivement le niveau d'espèces toxiques de l'oxygène dans les cellules de plante, la synthèse endogène de méthyl-jasmonate, et la synthèse d'acide salicylique et de composés phénoliques.



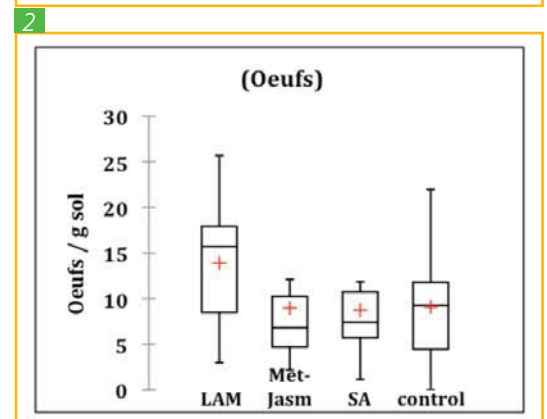
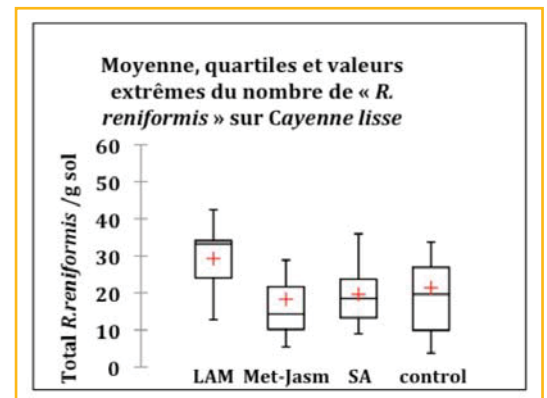
#### Matériel et Méthodes

Des rejets (matériel de plantation de 100 à 150 g) d'ananas des variétés Cayenne lisse (SC) et MD-2, ont été plantés en pots de 1L dans un mélange sol-compost en serre. Après 2 mois de croissance, 50mL d'une solution d'éliciteur méthyl-jasmonate  $10^{-4}$  M ; acide salicylique  $10^{-3}$  M ; -1,3-glucanes ont été appliqués à la surface du sol de chaque pot. Le poids moyen des rejets au moment du traitement était passé à  $201.6 \pm 42.7$ g (fig 1). 5000 *R. reniformis* par pot ont été inoculés 1 semaine après le traitement par les éliciteurs. Les populations de nématodes ont été évaluées 45 jours après inoculation (vermiformes, juvéniles et mâles, ainsi que femelles et masses d'œufs). Des plants non inoculés ont été utilisés pour la mesure d'activités enzymatiques liées aux résistances systémiques : Catalase (CAT), Superoxide dismutase (SOD), Phénylalanine ammonia lyase (PAL) and Lipoxigenase (LOX) ; pour ces enzymes, les résultats ont été exprimés en unités arbitraires sur des extraits bruts de racines.

## RÉSULTATS

### 1- Incidence sur les populations de nématodes

La variété d'ananas MD-2 a réduit le développement des populations de nématodes après traitement aux éliciteurs. Ces réductions de populations de nématodes allaient jusqu'à 70% par rapport aux témoins. La fécondité a été particulièrement affectée par les traitements éliciteurs (réduction du nombre de masses d'œufs), ce qui implique un faible dynamisme de la population de *R. reniformis* (Fig. 2 et 3).



Le MD-2 est une variété d'ananas dont nous avons précédemment établi qu'elle était plus tolérante aux nématodes que la variété Cayenne lisse (Soler et al., 2009). Mais il est important de noter qu'en dehors de tout traitement stimulant les résistances systémiques sur MD-2, les populations de nématodes s'y développent fortement. Simplement, la variété tolère mieux cette présence de nématodes, notamment en produisant un chevelu racinaire important. Cette observation faite précédemment, s'est également vérifiée au cours de cette expérimentation (Sur les témoins non traités, nous avons observé plus de nématodes sur la variété MD-2 que sur la Cayenne Lisse).

### 2- Incidence sur les activités enzymatiques

Les traitements au méthyl-jasmonate et à la la-



Figure 3: Populations totales après applications d'éliciteurs ou d'eau sur le système racinaire de MD-2. LAM : laminarine ; MetJasm : méthyl-jasmonate ; SA : acide salicylique.\* ('Total' signifie 'adultes + œufs').

Figure 4 : Evolution de 3 activités enzymatiques impliquées dans le contrôle des espèces toxiques de l'oxygène dans les plantes après application d'éliciteurs ou d'eau.

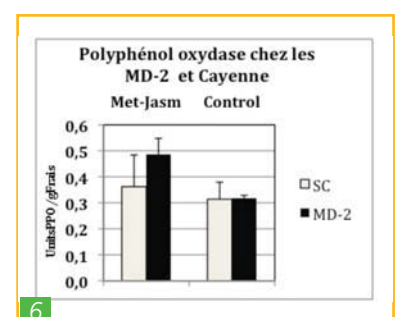
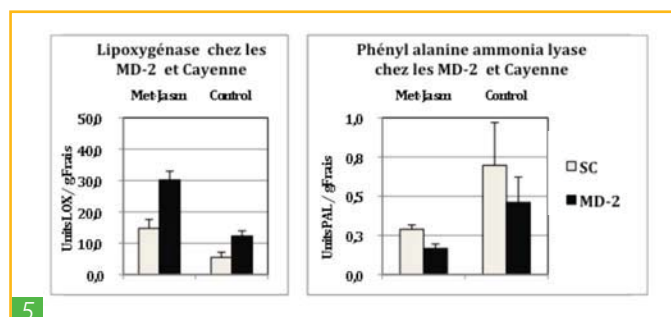
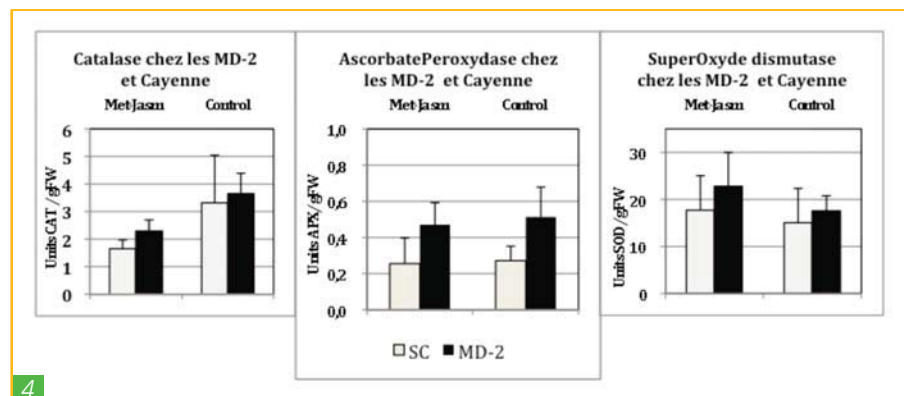
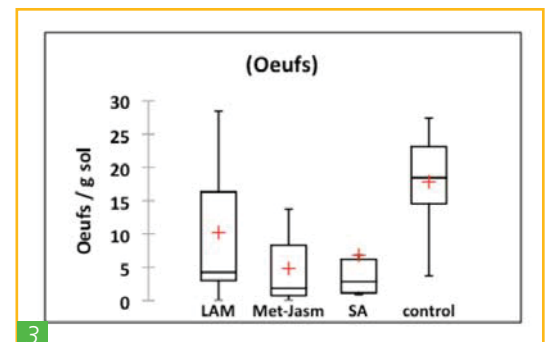
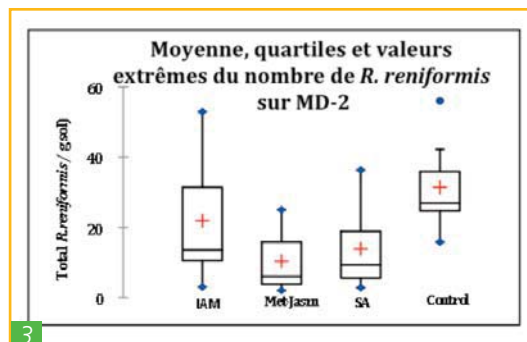
(CAT = Catalase, SOD = Super Oxide dismutase, APX = Ascorbate Peroxidase). Activités exprimées en : Unités / g Frais de racine, 1 Unité = 1dDO/min à 240 nm et 290 nm respectivement pour CAT (consommation  $H_2O_2$ ) et APX (ascorbate consommation) et pour la SOD, % inhibition de production de  $O_2^{\cdot-}$  par la xanthine-oxidase sur xanthine. Standard deviations at  $\alpha=0.05$ .

Figure 5: Activités LOX et PAL après application d'éliciteurs ou d'eau sur le système racinaire de MD-2 et de Cayenne lisse. Activités exprimées en : Unités / g Frais de racine, 1 Unité = 1dDO/min à 234 nm pour LOX et 1 Unité = 1dDO/h à 420 nm pour PAL.

Figure 6: Activité PPO après application d'éliciteurs ou d'eau sur le système racinaire de MD-2 et de Cayenne lisse. Unités / g Frais de racines, 1 Unité = 1dDO/min à 420 nm.

minarine ont induit des variations d'activités enzymatiques similaires et significatives ; le traitement à l'acide salicylique a eu un effet inverse. Seules ont été présentées ici les mesures effectuées après traitement au méthyl-jasmonate (Fig 4, 5 et 6). Les variations les plus remarquables concernent la catalase et la phénylalanine ammonia-lyase (PAL) qui diminuent alors que la lipoxigénase (LOX) augmente légèrement. Il en va de même pour la superoxyde dismutase (SOD) mais qui augmente plus faiblement. Cette dernière enzyme constitue la première ligne de défense des cellules de la plante contre les espèces toxiques de l'oxygène générées par la plante elle-même en réponse à une agression par les nématodes. La catalase intervient normalement dans le processus de détoxification des cellules de la plante en détruisant les excès

de  $H_2O_2$  produits pour lutter contre les nématodes. La légère réduction d'activité catalase entraîne donc une légère augmentation de la teneur en  $H_2O_2$ . Juste après le traitement éliciteur, l' $H_2O_2$  peut être utilisé par la plante comme molécule signal pour propager la résistance systémique dans l'ensemble de la plante. La diminution de la PAL entraîne une diminution de la synthèse d'acide salicylique. Cette synthèse est plutôt caractéristique des résistances systémiques acquises. Dans le même temps, l'augmentation de la LOX permet d'accroître la synthèse d'acide jasmonique (caractéristique des résistances systémiques induites, les RIS. L'ensemble des variations observées pour PAL - LOX devrait donc favoriser la voie de signalisation dépendant du méthyl-jasmonate et la mise en place d'une résistance de type RIS (Beckers and Spoel, 2006).



Enfin, l'augmentation des polyphénol-oxydases et peroxydases reflète une augmentation de la synthèse de composés phénoliques oxydés qui participent directement à la défense des cellules soit par leur toxicité soit par leur implication dans le renforcement des parois cellulaires (Dixon and Paiva, 1995).

Sous l'action du traitement éliciteur la plante commence donc à se préparer à une attaque éventuelle par un bioagresseur. Ce traitement est perçu par la plante comme une agression mais produit une réaction modérée en l'absence de bioagresseurs. Cette réaction consiste en une augmentation globale et réversible des activités enzymatiques de type oxydatif (Alscher *et al.*, 2002 ; Imahori *et al.*, 2008 ; Parent *et al.*, 2008). Il s'en suit une augmentation des concentrations en espèces réactives de l'oxygène (ions superoxydes,  $H_2O_2$ , etc) toxiques pour les bioagresseurs mais aussi pour la plante. Les espèces réactives de l'oxygène entraînent à leur tour la production de peroxyde lipidiques (issus des membranes cellulaires) pouvant dégrader les protéines et même l'ADN des cellules (Apel and Hirt, 2004). La plante doit donc mettre en place un système de protection spécifique (SOD, Ascorbate peroxydase, etc) pour limiter ces effets toxiques et assurer un équilibre du niveau de concentration en espèces toxiques de l'oxygène dans ses propres cellules (Mittler, 2002).

## CONCLUSION

En considérant à la fois l'impact des traitements sur les populations de nématodes et sur les activités enzymatiques mesurées, nous avons montré que l'ananas est capable de mettre en

place un système de défenses naturelles partiellement efficace contre les nématodes. Cependant, il s'avère que toutes les variétés n'ont pas le même potentiel à mettre en place ces défenses naturelles efficaces. Seule la variété tolérante a pu le faire, même si du point de vue enzymatique les 2 variétés, tolérantes ou non, montrent un comportement assez similaire à ce stade du traitement.

En effet, une des caractéristiques des résistances systémiques induites est l'effet « priming » qui consiste en une préparation de la plante à produire une forte réaction de défense mais celle-ci n'est décelable au niveau enzymatique qu'après agression par un bioagresseur. Cette réaction est donc beaucoup plus forte avec un traitement éliciteur qu'en l'absence du traitement mais n'est mesurable qu'au début de l'attaque par le bioagresseur. On peut supposer que cet effet priming ne fonctionnera au sein d'une espèce que sur certaines variétés, pas sur d'autres, car il résulte de la mise en place d'une résistance systémique induite. Cette hypothèse est en cours de vérification.

Les endophytes non pathogènes (rhizobactéries ou mycorhizes) peuvent induire ce type de résistance. Combinés aux effets promoteurs de la croissance qu'ils apportent, ces endophytes devraient induire des défenses naturelles contre les bioagresseurs probablement plus efficaces et plus durables que celles d'un éliciteur utilisé seul. Les endophytes pourraient ainsi valablement contribuer à la gestion alternative des bioagresseurs dans des systèmes de production agro-écologiques.