

Méthodes d'estimation des dégâts causés par les insectes ravageurs des graines de conifères

Alain Chalon¹

Résumé : Les insectes ravageurs attaquent les graines de conifères ; les dégâts provoqués n'étant pas visibles à l'œil nu, il a fallu mettre au point une méthode d'estimation spécifique à ces ravageurs. Le choix du peuplement, l'échantillonnage et la désarticulation des cônes, le tri densimétrique et le tri radiographique des graines sont les principales étapes menant à cette estimation des dégâts. Cette méthode permet de suivre l'évolution des populations de ces insectes dans l'espace et dans le temps. Une amélioration dans la méthode est envisagée : l'utilisation d'un appareil à rayons X couplé à un scanner digital.

Mots clés : Cèdre, Ravageurs des graines, tri densimétrique, radiographie, taux d'infestation, *Megastigmus pinsapinis*, *Megastigmus schimitscheki*.

Introduction

Les insectes ravageurs des graines (**photo 1**) peuvent provoquer des dégâts très importants dans les vergers à graines de conifères et dans les peuplements naturels (Roques, 1983). Certaines années, ils sont responsables de la destruction de plus de 80% des graines viables entraînant des pertes de revenus pour les producteurs de graines et une diminution de la régénération naturelle dans les peuplements attaqués. Ces insectes et leurs dégâts sont cependant peu visibles pour un observateur non averti. En effet, on ne peut les voir voler autour de leurs arbres hôtes que pendant les quelques semaines (en général 3 ou 4) que dure leur phase adulte. Ils sont par ailleurs de petite taille (3 à 4 mm) et généralement d'une couleur qui se confond avec la végétation. Le reste de leur cycle biologique se passe à l'état d'oeuf ou de larve dans les graines où ils se nourrissent des tissus qu'elles contiennent. La simple observation visuelle des graines ne permet pas non plus de détecter leur présence dans celles-ci. Ces insectes ne font pas de dégâts sur les parties apparentes de l'arbre (tronc, branche, aiguille, cône) et sont donc difficilement décelables.

Ces particularités font qu'il n'est pas possible d'utiliser les méthodes visuelles classiques pour estimer les dégâts causés par ces insectes, il a donc fallu développer des méthodes spécifiques. Nous illustrerons ces méthodes en décrivant plus particulièrement la méthode utilisée à l'Unité de Recherches Forestières Méditerranéennes pour l'étude des insectes ravageurs des graines de Cèdre (Fabre 1986, 1989) et nous indiquerons à chaque étape les modifications nécessaires pour adapter le protocole à d'autres ravageurs des graines.



Photo 1 : *Megastigmus pinsapinis*, ravageur des graines de Cèdre

¹ INRA Recherches forestières méditerranéennes, Domaine Saint-Paul, Site Agroparc - 84914 Avignon Cedex 9
☎ 04 32 72 29 84 alain.chalon@avignon.inra.fr

1. Description de la méthode

L'estimation des dégâts causés par les insectes ravageurs des graines peut être utilisée pour répondre à plusieurs types de questions telles que la simple détection de la présence des ces insectes, le suivi de leurs populations ou l'étude de leur dispersion. Le protocole d'étude pourra varier selon la question posée mais il comportera en général les 5 étapes suivantes.

1.1 Choix du peuplement et de la période d'échantillonnage

La sévérité des dégâts causés par ces insectes est généralement exprimée comme un taux d'infestation des graines (pourcentage de graines infestées). Ce taux dépend à la fois du nombre d'insectes présents l'année de l'estimation et du nombre de graines disponibles la même année. En conséquence, un taux de dégât faible peut indiquer une faible population d'insectes (peu d'individus) ou une forte production de graines (phénomène de « satiation »). Il faut donc tenir compte de ces 2 facteurs pour avoir une bonne estimation des dégâts dans un peuplement ou dans une région. Pour cela il faudra donc : (1) faire une estimation de la fructification en même temps que l'échantillonnage des graines, (2) faire des estimations durant plusieurs années pour échantillonner des années de bonne fructification et des années de faible fructification, (3) faire des échantillonnages dans des peuplements qui ont des taux de fructification différents pour une année donnée si le but de l'échantillonnage est d'avoir une estimation des dégâts dans une région. En règle générale, une étude préliminaire de la distribution spatiale du taux d'infestation permettra de mieux définir le plan d'échantillonnage. Le choix de la période d'échantillonnage est aussi important: celui-ci doit se faire au plus tôt 3 mois après la période de ponte pour que les larves aient eu le temps d'atteindre leur taille maximale, et avant l'ouverture des cônes et la chute des graines. Chez le Cèdre, cette période correspond à l'automne de l'année n+2 (l'année n étant l'année de la floraison). A ce moment là, les larves sont dans les graines depuis environ 18 mois, les cônes commencent à s'ouvrir naturellement et sont donc plus faciles à décortiquer.

1.2 Échantillonnage des cônes

La taille et la forme des cônes ainsi que leurs position et orientation dans l'arbre peuvent avoir une influence sur le taux d'attaque. Chez le Cèdre, on observe que les cônes du sommet de l'arbre sont plus attaqués que ceux du bas. Il faut donc prendre en compte ces facteurs lors de l'échantillonnage des cônes. On prend généralement un minimum de 10 cônes par arbre, répartis sur l'ensemble de l'arbre (en hauteur et en orientation) et de taille et de forme différente si possible. L'échantillonnage se fait sur un minimum de 5 arbres jugés représentatifs de la production moyenne du peuplement mais là encore, une étude préliminaire de la distribution spatiale du taux d'infestation à l'intérieur de l'arbre et entre les arbres permettra de mieux définir le plan d'échantillonnage.

1.3 Extraction et tri des graines

L'extraction des graines s'effectue de manière manuelle au laboratoire. S'ils ne sont pas assez ouverts, les cônes peuvent être conservés dans l'eau pendant au moins 24 heures puis séchés à l'air libre. Les cônes sont ensuite désarticulés, les graines se trouvant à l'intérieur sont désailées puis on sépare celles de petite taille (graines avortées précocement) et celles de taille normale. Ces graines sont comptées, mais ne sont conservées que les graines de taille normale. Ces dernières sont soumises à un tri densimétrique dans de l'alcool éthylique à 96% en volume. Grâce à ce tri on sépare les graines saines (graines contenant un embryon végétal) plus denses qui tombent au fond du récipient et les graines vaines (vides à cause d'un avortement tardif ou parasitées) qui surnagent. Chez d'autres espèces de conifères le tri

densimétrique n'est pas encore mis au point, ce qui nécessite de radiographier toutes les graines.

Il faut prendre quelques précautions lors de la phase d'extraction et de tri des graines. En particulier, il est essentiel que les cônes et les graines restent autant que possible dans des conditions « naturelles » de température et d'humidité. Ceci implique de désarticuler les cônes par petites quantités et de remettre les graines après le tri dans les conditions naturelles. En effet, si les graines ou les cônes sont conservés trop longtemps à des températures trop chaudes pendant l'hiver, le développement larvaire risque d'être perturbé et d'entraîner une forte mortalité à ce stade ou bien l'émergence précoce des individus avant le printemps.

1.4 Radiographie rayons X

Les graines vaines sont disposées sur un film plastique transparent préalablement collé sur un châssis métallique de 29 x 26 cm comportant 5 séparations longitudinales. Ces plaques rangées dans une boîte sont transportées à l'Unité de Zoologie Forestière du centre Inra d'Orléans pour être radiographiées avec un appareil de radiographie X de type Faxitron. Un Film Kodak industrex M100 24 x 30 est disposé à plat dans l'appareil et la plaque posée dessus. Les graines sont exposées aux rayons X pendant 2 minutes avec un voltage de 20 kv. Pour d'autres espèces le temps d'exposition et le voltage peuvent varier. Le développement du film se fait de façon automatique ; le temps d'exposition dépend du type de film utilisé. Dans le cas du papier Kodak Industrex M100, le temps d'exposition est de 6 minutes.

Cette phase de radiographie doit se faire dans des conditions de sécurité spécifiques à l'utilisation des appareils à rayons X. La pièce est équipée d'un voyant indiquant que l'appareil est en cours d'utilisation. L'appareil lui-même est pourvu d'une porte étanche assurant une sécurité contre les rayons et d'un voyant qui, lorsqu'il est allumé, signale que la radiographie est en cours. Un badge permettant de détecter le rayonnement doit être porté par les utilisateurs. Le bon fonctionnement et la sécurité de l'appareil font aussi l'objet de contrôles réguliers.

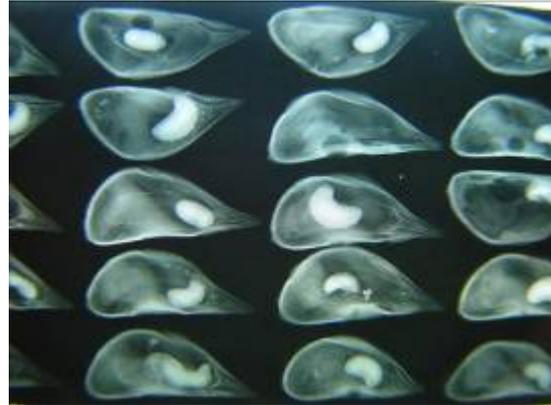


Photo 2 : radiographie X de graines parasitées (larve blanche) ou vides

1.5 Estimation des taux d'infestation

Le comptage des différents types de graines s'effectue en plusieurs étapes :

1. après désarticulation, on sépare les graines de grande taille (GT) de celles de petite taille (PT) ;
2. le tri densimétrique sépare les graines saines (GS) des graines vaines ;
3. le tri radiographique (**photo 2**) permet de séparer, parmi les graines vaines, les graines vides (GV) de celles parasitées (GP).

Lors des 3 étapes, on estime différents pourcentages. Dans la première étape, le taux de graines de grande taille par rapport à celui des graines de petite taille donne une estimation du pourcentage d'avortement précoce des graines. Pour la deuxième étape, on peut estimer le pourcentage de graines saines et de graines vaines (vides + parasitées). Enfin, la troisième étape permet l'estimation des pourcentages de graines vides et parasitées. Le tri densimétrique, lorsqu'il est bien réalisé, ne laisse passer qu'une très petite quantité de graines saines mais il n'oublie aucune graine vaine.

Deux types de taux d'attaque peuvent être calculés suivant l'hypothèse faite sur le mode d'infestation des insectes. Dans la première hypothèse, on considère que les insectes ne peuvent infester que les graines qui allaient se développer en graines saines, dans ce cas le taux d'infestation est calculé comme suit :

$$(GP * 100) / (GS + GP)$$

Dans la deuxième hypothèse, on considère que les insectes peuvent infester et se développer dans les graines saines et dans les graines vides. Dans ce cas, le taux d'infestation se calcule comme suit :

$$(GP * 100) / GT$$

Le choix du mode de calcul dépendra de la connaissance de la biologie et du développement de l'insecte. Lorsque le taux de graines vides est important, la différence entre les deux modes de calcul des taux d'infestation peut être importante.

Pour déterminer le taux d'infestation par espèce de ravageur ou la proportion de chaque sexe dans une espèce donnée, les graines infestées sont placées en conditions naturelles dans des éclosiers. Les émergences seront ensuite suivies dans ces éclosiers à partir du début du printemps. Il faut noter que les graines infestées pour lesquelles on ne souhaite pas suivre l'émergence des insectes doivent être détruites après radiographie de façon à éliminer les risques d'introduction d'insectes car les graines simplement jetées à la poubelle peuvent être transportées sur de longues distances et créer de nouveaux foyers d'infestation. On pourra dans ce cas brûler ou étuver les graines après radiographie.

Les résultats des comptages et des émergences sont stockés dans des fichiers réalisés sous tableur (**Tableau 1**), puis sont transférés dans une base de données. Des données de positionnement (longitude et latitude) des arbres et des peuplements échantillonnés sont ensuite rajoutées pour constituer des cartes sous SIG (Système Information Géographique).

2. Résultats et exemples d'application

Nous utilisons, dans notre unité, depuis 1994 ce protocole d'estimation des dégâts dus aux insectes ravageurs des graines pour estimer les taux d'infestation des graines dans les peuplements de Cèdre du Sud-est de la France (Fabre et al. 1994, 2004). Nous avons suivi la dynamique des populations de *Megastigmus pinsapinis*, un ravageur des graines de Cèdre de l'Atlas probablement introduit en France en même temps que son hôte à la fin du 19^{ème} siècle, et l'invasion des peuplements de la région par une autre espèce, *Megastigmus schimitscheki*, introduite de Turquie au début des années 90. Des échantillonnages de cônes sont réalisés chaque année dans divers peuplements du Sud-est (**tableau 1**). Avec cette estimation des dégâts nous suivons l'évolution des populations dans l'espace (**figure 1**) et dans le temps.

A titre d'exemple, en 2005 nous avons récolté 1220 cônes dans une trentaine de peuplements. Nous avons extrait 88732 graines de grande taille et 66514 de petite taille. Le tri densimétrique (notamment chez le Cèdre) élimine les graines saines qui étaient au nombre de 57091, avec cette étape nous économisons du temps et des manipulations. Nous avons radiographié 31641 graines.

STATION	Date de récolte	Nb CONES	DESARTICULATION		TRI DENSIMETRIQUE		TRI RADIOGRAPHIQUE			% ATT/GT
			GRAINES GT	GRAINES PT	GRAINES SAINES	GRAINES VID/PAR	GRAINES SAINES	GRAINES VIDES	GRAINES PARASITEES	
F.D. VENT. 7	9/11/04	30	3186	918	1758	1428	4	157	1267	39,77
F.D ST-LAMBERT .1	9/11/04	30	3241	617	2339	902	18	284	600	18,51
VENTOUX 800M SUD	9/11/04	30	3204	1072	1504	1700	9	207	1484	46,32
F.D. (C) VENASQUE	17/11/04	30	3029	1676	509	2520	21	398	2101	69,36
MENERBES	24/11/04	30	1701	1954	514	1187	11	155	1021	60,02
LUBERON CRETE	24/11/04	30	2735	1350	2195	540	2	344	194	7,09
GRAND LUBERON	7/12/04	30	2288	2064	1486	802	3	161	638	27,88
F.D. DE LURE	16/11/04	30	3551	614	2660	891	16	366	509	14,33
SISTERON	16/11/04	30	3036	1766	1403	1633	53	595	985	32,44

Tableau 1 : Différentes étapes de tri des graines pour l'estimation du taux d'infestation dans des peuplements du S.E. de la France en 2004

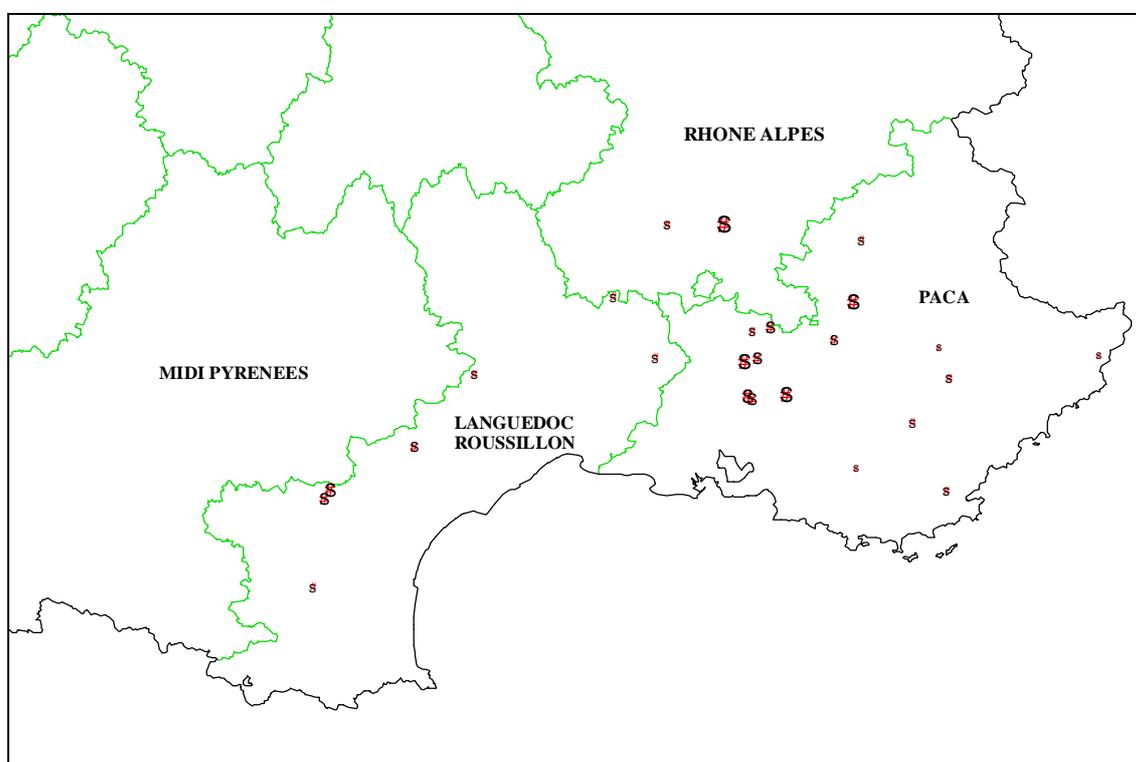


Figure 1 : Taux d'infestation des peuplements de Cèdre du S.E. de la France en 2005

Conclusion

L'estimation des dégâts des ravageurs des graines présentée dans ce document est l'adaptation au Cèdre d'une méthode bien établie et utilisée dans de nombreux pays. Elle permet d'échantillonner des nombres assez importants de graines avec une bonne précision, notamment grâce à l'utilisation du tri densimétrique. Une voie d'amélioration consisterait en l'utilisation d'un appareil² à rayons X couplé à un scanner digital qui remplace le film photographique et qui enregistre les images directement sur ordinateur. Ensuite, un logiciel

² Dans un futur proche l'URFM pourrait se doter d'un tel appareil.

permet de visualiser les radiographies, de les analyser et de les enregistrer. En éliminant la phase du film, on réduit grandement le temps de manipulation qui consistait à coller les graines sur des cadres métalliques, on réduit les coûts de fonctionnement liés à l'achat et au développement des films photographiques et on supprime les problèmes liés au traitement des déchets (films et produits de développement). On envisage par la suite le développement de logiciels de traitement d'images pour compter automatiquement les graines saines, vides et parasitées sur l'image provenant du scanner.

Remerciements

Je remercie Jean Paul Raimbault de ses conseils avisés lors de l'utilisation de l'appareil à rayons X et de la développeuse de radiographie ainsi que Jean Noël Candau de son aide à la rédaction de cet article.

Bibliographie

- Fabre JP (1986) Dynamique des populations de *Megastigmus suspectus* var. *pinsapinis* Hoff. (Hym. Torymidae) dans les cédraies du Sud-est de la France. *In*: Roques A (ed) Proceedings of the 2nd Conference of the IUFRO Cone and Seed Insects Working Party S2.07.01, pp 127–145. Institut National de la Recherche Agronomique, Versailles, France
- Fabre JP (1989) Distribution spatiale de *Megastigmus suspectus* var. *pinsapinis* Hoffm. (Hym. Torymidae) sur *Cedrus atlantica* Manetti dans un peuplement du Sud-Est de la France. *In*: Miller G (ed) Proceedings of the 3rd Conference of the IUFRO Cone and Seed Insects Working Party S2-07-01, pp 101–116. Forestry Canada, Pacific Forestry Centre, Victoria, British Columbia
- Fabre JP, Alptekin CU, Chalon A (1994) Importance des attaques des graines de Cèdre du Liban, *Cedrus libani*, en Turquie par *Megastigmus schimitscheki* (Hymenoptera Torymidae) et risques d'extension de cet insecte au Cèdre de l'Atlas, *Cedrus atlantica*. *Annales des Sciences Forestières du Maroc* 27: 566–575
- Fabre JP, Auger-Rozenberg MA, Chalon A, Boivin S, Roques A (2004) Competition between exotic and native insects for seed resources in trees of a Mediterranean forest ecosystem. *Biological Invasions* 6(1) :11-22
- Roques A (1983) Les insectes ravageurs des cônes et graines de conifères en France. INRA, Versailles, France, 138 pp