

LES SUBSTANCES NATURELLES INSECTICIDES DES PLANTES : RÔLES ET UTILISATIONS DANS LA LUTTE CONTRE LES RAVAGEURS DES CULTURES

par Jean-Luc CLÉMENT

Professeur à l'Université de Provence
Laboratoire Communication Chimique du CNRS de Marseille

SUMMARY

INSECTICIDE NATURAL SUBSTANCES IN PLANTS : ROLES AND USES IN THE CONTROL OF CROP PESTS

Implementing chemical control of pests and pathogens is getting more and more complex, often harmful for the environment and detrimental to the health of human beings or animals ; because of resistance phenomena, it is quite frequently ineffective.

All along evolution, the plants that have undergone repeated pressure and especially parasite aggressions have developed means of defence by notably producing substances ; some of which are particularly interesting because of their lack of toxicity (antifeeding, growth-regulating substances) or because of their slight degree of harmfulness on the environment.

These substances were often known long ago in an empiric, traditional and practical way ; however, their chemical and biological activities have been studied only recently : after « chemistry, the killer », researchers have started the more subtle study of the chemistry of substances which alter the physiology of the pest or parasite. Thanks to breakthroughs in molecular biology, other developments can also be envisaged, ranging from the cloning of genes which synthesize these substances to the engineering of resistant transgenic plants.

As tropical forest species abound in species which produce the substances of the secondary metabolism that may act on the behaviour or the development of insects or in the host-parasite relationship seen from their plant pathology aspect, we deemed it interesting to offer our readers this article about the role and use of natural substances in the control of plant pests.

RESUMEN

SUSTANCIAS NATURALES INSECTICIDAS DE LAS PLANTAS : COMETIDOS Y UTILIZACIONES EN LA LUCHA CONTRA LOS PARASITOS DE LOS CULTIVOS

La lucha química contra los parásitos y elementos patógenos resulta cada día más difícil de aplicar, siendo frecuentemente peligrosa para el ambiente y la salud humana o animal y, como resultado de los fenómenos de resistencia, se manifiesta ineficaz en un gran número de casos.

Durante el transcurso de la evolución, las plantas sometidas a múltiples presiones y, fundamentalmente, a las agresiones de los parásitos, han desarrollado ciertos medios de defensa produciendo, particularmente, diversas sustancias, algunas de las cuales presentan un gran interés debido a su ausencia de toxicidad (sustancias antiapetentes, reguladoras de crecimiento, etc.) o de su reducida nocividad con respecto a su entorno.

Ya se tenía un conocimiento empírico, tradicional y práctico de estas sustancias, muy antiguo en ciertos casos, pero tan sólo recientemente se han estudiado sus actividades química y biológica : tras la « química que mata », los investigadores han procedido al estudio, de mayor sutileza, relativo a la química de las sustancias que alteran la fisiología del parásito o del elemento dañino para los cultivos. Asimismo, debido al auge de la biología molecular, existe la posibilidad de contemplar otros desarrollos que van desde el clonado de los genes que sintetizan estas sustancias, hasta la creación de plantas transgénicas resistentes.

Las especies forestales tropicales, al ser demasiado ricas en especies que producen estas sustancias del metabolismo secundario, pueden actuar respecto al comportamiento o el desarrollo de los insectos o en las relaciones huéspedes parásitos, que se contemplan desde el punto de vista de la patología vegetal, nos ha parecido interesante presentar a nuestros lectores este artículo relativo al cometido y la utilización de sustancias naturales en la lucha contra los parásitos de las plantas.

Tous les êtres vivants synthétisent des substances naturelles toxiques pour lutter contre leurs parasites. Les plantes ne doivent leur survie qu'à l'existence de toxines appelées « substances secondaires » qui repoussent, dissuadent, bloquent l'alimentation ou tuent les herbivores. Ces molécules de structures parfois très complexes nécessitent de fortes dépenses d'énergie pour leur synthèse. Elles appartiennent à peu près à toutes les classes chimiques : acides aminés non protéiniques, terpènes, alcaloïdes, phénols, tannins... Leurs cibles sont multiples : bactéries, champignons, virus, vertébrés et invertébrés.

L'exposé qui suit ne concerne que les molécules de petite taille qui ont comme objectif principal la lutte contre les insectes ravageurs. Il ne s'agit pas d'en faire l'inventaire mais de donner quelques exemples classés par cible moléculaire et de montrer tout l'intérêt de ces substances dans les programmes de lutte intégrée des pays tropicaux et équatoriaux. Une association entre agronomes, physiologistes, chimistes et généticiens devrait permettre dans les années à venir de dégager quelques lignes de recherches utilisables sur le terrain.

LES CIBLES MOLÉCULAIRES DES TOXINES NATURELLES DES PLANTES

Les insectes utilisent globalement les mêmes mécanismes physiologiques que les invertébrés. Un nombre très important de cibles a été utilisé par les plantes. Les systèmes fondamentaux sont touchés : nerveux (sites récepteurs et canaux ioniques), hormonaux (hormone juvénile et ecdysone), biochimiques (enzymes de la respiration, du muscle) et des seconds messagers.

SYSTÈME NERVEUX

□ Sites récepteurs à l'acétylcholine

La première allomone décrite a été la nicotine (fig. 1).

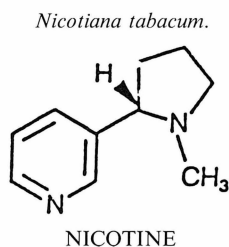


FIG. 1.

Cet alcaloïde est synthétisé principalement par le tabac *Nicotiana tabacum* à raison de 2 à 8 % du poids sec en association avec l'acide citrique et l'acide maléique. Sa cible principale est le récepteur à l'acétylcholine. Incorporé dans le milieu alimentaire de *Spodoptera frugiperda*, sa dose létale 100 est de 0,02 %. Cette molécule a donc un

effet puissant sur la plupart des ravageurs. Malgré tout, de nombreuses espèces d'insectes sont capables de la détoxifier.

□ Canaux sodium du neurone

En 1924, STAUDINGER et RUZICKA ont isolé et déterminé 6 molécules à partir de fleurs séchées de *Chrysanthemum roseum* et *Chrysanthemum cinerariaefolium*, appartenant à la famille des pyréthroïdes (fig. 2). L'effet de ces molécules était déjà connu depuis 2 000 ans puisque les Chinois les utilisaient en poudre pour tuer les insectes. A partir de ces substances naturelles, HELLIOT a ensuite synthétisé des composés fortement insecticides (la biores-méthrine en 1967, la dècaméthrine en 1974). Ces molécules sont actuellement parmi les insecticides commerciaux les plus puissants. Ces toxines empêchent la fermeture des canaux sodium qui ont été ouverts durant l'activité nerveuse normale ; les ions sodium pénètrent alors dans le neurone et induisent des bouffées répétitives de potentiels d'action, bloquant le système nerveux et tuant rapidement l'insecte.

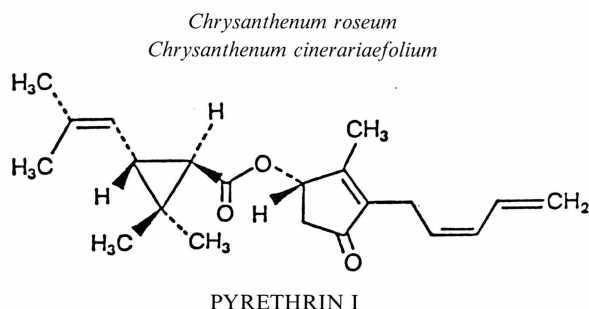


FIG. 2.

SYSTÈMES HORMONAUX

□ L'hormone juvénile

Le précosène (fig. 3) a été isolé en 1976 d'*Agrotis mexicanum*. Cette molécule induit chez les insectes une métamorphose précoce réversible. Son action est anti-hormone et plus particulièrement anti-hormone juvénile.

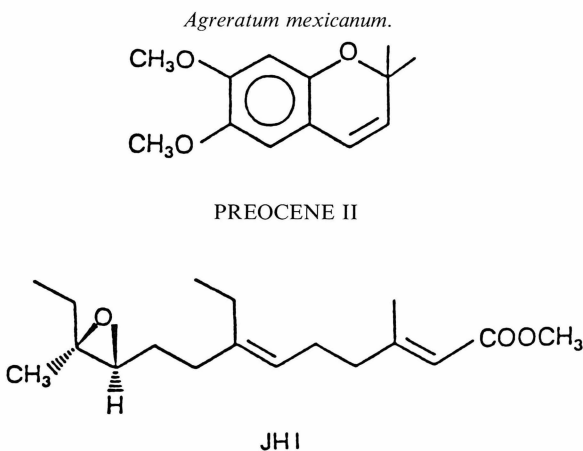


FIG. 3.

Des études précises ont montré que cette molécule détruisait les *Corpora allata* des insectes en formant des époxydes hautement réactifs. Les glandes sont atrophiées, l'hormone juvénile n'est pas sécrétée et les insectes meurent.

□ L'ecdysone

L'*Azadirachta indica* synthétise l'azadirachtine (fig. 4) qui affecte le développement des larves d'insectes. Ses cibles primaires sont les sites répondant à l'ecdysone et son effet le plus visible est de bloquer l'alimentation. Cette substance très complexe arrête le développement et bloque les mues. L'action antiappétente n'est, semble-t-il, que secondaire.

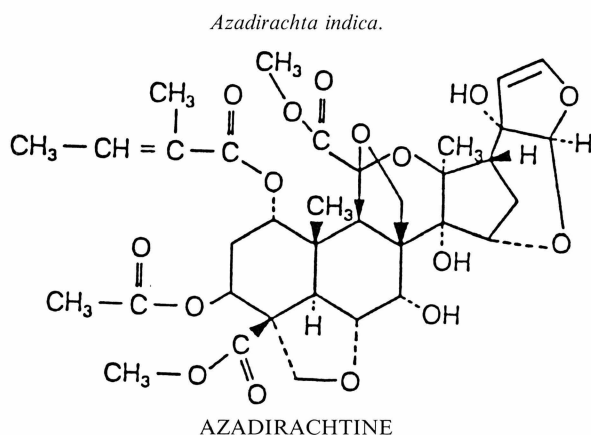


FIG. 4.

SYSTÈMES BIOCHIMIQUES INTRACELLULAIRES

□ Enzymes respiratoires

Le français GEOFFREY a isolé en 1895 de la racine de *Derris sp.* et de *Lonchocarpus nicou* une toxine respiratoire : la rotenone (fig. 5). La configuration absolue de cette molécule n'a été déterminée qu'en 1961 et son rôle précisé dans les années suivantes. On sait maintenant qu'elle bloque les transferts d'électrons entre le NAD et le co-enzyme Q. La rotenone stoppe la respiration et l'activité cardiaque. Les insectes sont paralysés progressivement.

□ Muscle

La plante *Ryania speciosa* synthétise à raison de 0,2 % la ryanodine (fig. 6) qui est un poison du muscle. Cette substance bloque les signaux dans les tubules transversaux en stoppant les mécanismes de relargage du calcium à partir du reticulum endoplasmique. De nombreux essais de modification de structure ont été réalisés par l'équipe du Professeur CASSIDA à Berkeley. Ils ont

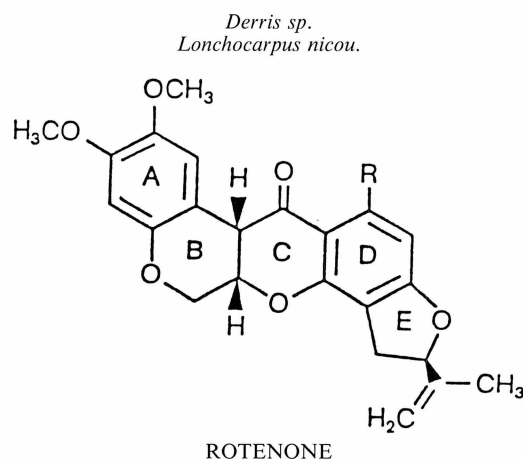


FIG. 5.

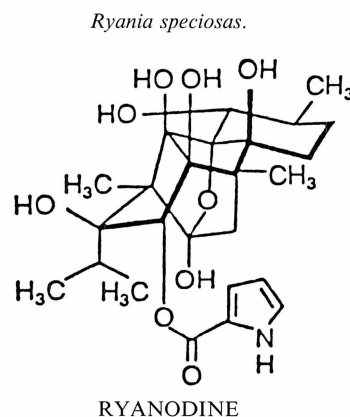


FIG. 6.

montré que l'hydrolyse de l'ester, l'ouverture du cycle ou la réduction de l'OH pour former une cétone faisaient perdre toute action sur le muscle. Par contre, l'addition de deux méthyls en limitait la toxicité de dix fois.

SECONDS MESSAGERS

Les messagers primaires (hormones et neurotransmetteurs) agissent sur les cellules en intervenant sur les membranes et non directement à l'intérieur des cellules. Cette interaction chimique induit la mise en marche d'une enzyme : l'adénylate cyclase qui transforme l'ATP en AMP cyclique qui devient alors le second messager intracellulaire.

Une plante, *Coleus forskolii*, synthétise la Forskoline (fig. 7) qui agit sur les cellules d'insectes en activant la sous-unité catalytique de l'adénylate cyclase. Elle augmente alors le taux d'AMP cyclique dans les muscles car elle mime l'action de l'octopamine qui est une amine biogène utilisée uniquement par les insectes (fig. 8). Ce type d'action est très intéressant car il y a spécificité de récepteur et la désorganisation concerne uniquement le système cellulaire des insectes.

COLEUS FORSKOLII

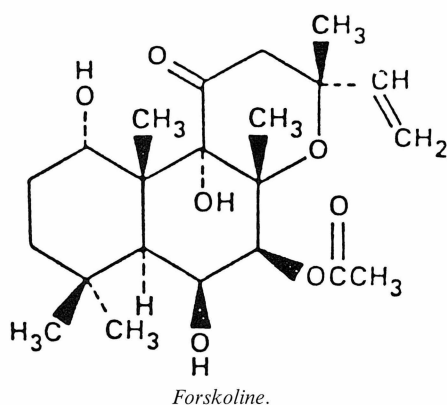


FIG. 7.

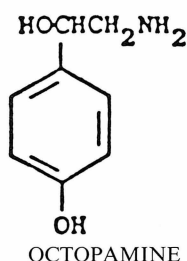


FIG. 8.

On peut en outre amplifier l'action de ce stimulateur de l'AMPc en empêchant sa dégradation normale par les phosphodiesterases. C'est le cas de la caféine (fig. 9). Cette technique (insecticide augmentant les taux d'AMPc et blocage de sa dégradation par la caféine) a été utilisée avec succès avec le chlordiméforme (fig. 10), insecticide mimant l'octopamine.

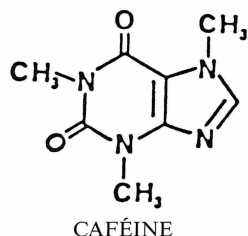


FIG. 9.

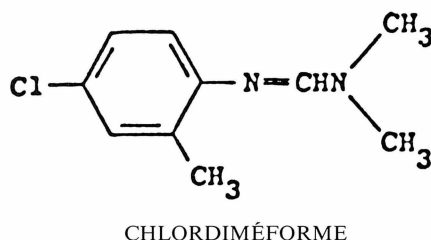


FIG. 10.

UTILISATION DES TOXINES NATURELLES DES PLANTES POUR LUTTER CONTRE LES RAVAGEURS

Les exemples cités plus haut montrent que les plantes synthétisent de très nombreuses molécules pouvant agir sur une multitude de cibles. Ces toxines sont-elles utilisables par les agronomes ?

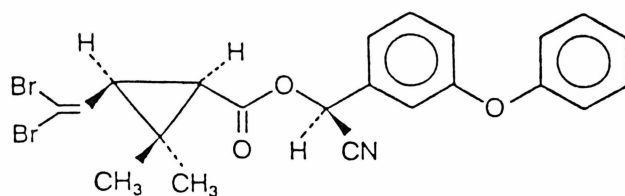
Trois questions doivent être posées :

- Peut-on utiliser ces toxines, après transformations éventuelles, comme insecticide généraliste de la même façon que les produits actuellement sur le marché ?
- Peut-on, par sélection génétique, favoriser certaines souches de plantes agricoles pour diminuer la pression des ravageurs en augmentant la quantité des toxines présentes naturellement ?
- Peut-on imaginer des transferts génétiques des gènes codant pour la synthèse de ces molécules vers des plantes à haut rendement agricole ?

1. LES SUBSTANCES DÉFENSIVES DE PLANTE : UNE SOURCE D'INSECTICIDES NOUVEAUX ?

Les défenses des plantes ont servi d'insecticides avant l'utilisation du DDT et des organochlorés : c'est le cas de la nicotine. Plus proche de nous, le succès des pyréthri-noïdes est un excellent exemple d'utilisation d'une structure naturelle servant de tête de série à un groupe de molécules très actives. Mais il a fallu 50 ans pour passer de la découverte initiale à la commercialisation. Les efforts d'HELLIOT en Grande-Bretagne n'ont été couronnés qu'après un délai important. Est-il possible de renouveler cet exploit ? Les contraintes sont très importantes et les recherches doivent se poursuivre longtemps ; en effet, pour être commercialisable une molécule doit être de préférence généraliste, capable d'atteindre très rapidement sa cible (traverser la cuticule, diffuser dans l'hémolymphe et bloquer un site) et synthétisable facilement. En général les substances défensives de plantes ne répondent pas à ces contraintes. Elles sont en effet hydrosolubles car elles agissent après ingestion et ne peuvent pas alors traverser la couche lipidique protectrice des insectes. Leur synthèse est difficile car les structures sont particulièrement complexes. Même un biologiste peut se rendre compte que la synthèse de la perméthrine sera plus facile que la synthèse de l'azadirachtine ; il ne faut pas oublier non plus que 50 ans d'essais séparent la pyréthrine de la deltaméthrine (fig. 2 et 11).

Cette voie est malgré tout intéressante et la recherche indispensable mais les retombées commerciales demanderont du temps. De très nombreuses possibilités existent ; aux agronomes et aux laboratoires de découvrir d'autres molécules aussi efficaces que les pyréthri-noïdes.



NRDC 161 (Decamethrin)

FIG. 11.

2. SÉLECTION DE SOUCHES VÉGÉTALES RÉSISTANTES AUX INSECTES

Avant l'utilisation généralisée des insecticides, les pratiques agricoles de monoculture ont favorisé la sélection de souches résistantes naturellement aux insectes grâce aux substances défensives naturelles. En effet, les agriculteurs ne récoltaient que les graines des plantes les plus robustes ayant résisté aux insectes. Les diverses techniques d'hybridations avaient permis dans la majorité des cas de sélectionner des races performantes. Des travaux en laboratoire ont permis de prouver la résistance effective de ces races « sauvages ». Depuis 30 ans, l'utilisation des pesticides a considérablement diminué la pression de sélection exercée par les ravageurs tout en permettant l'augmentation des rendements.

Il est actuellement possible de définir rapidement le rôle exact des molécules défensives naturelles, en les identifiant et en les dosant. Les techniques de croisement pourront permettre ensuite d'améliorer les races utilisées. Ce travail à la fois fondamental et appliqué est nécessaire et facilement réalisable.

3. MODIFICATION DU PATRIMOINE GÉNÉTIQUE DES PLANTES CULTIVÉES

Connaissant des molécules insecticides naturelles très actives, il est tentant d'imaginer le clonage des gènes qui codent la synthèse de ces molécules et leur injection dans le patrimoine génétique des plantes cultivées. Il s'agit actuellement de recherches fondamentales de haut niveau mais nullement impossibles dans l'avenir. Les premiers essais ont été réalisés par la Société anglaise Agricultural Genetics qui a réussi à introduire, dans le patrimoine génétique de plants de tabac, le gène d'un inhibiteur enzymatique. Cet inhibiteur enzymatique empêche les insectes de digérer les protéines. La résistance des plants de tabac traités paraît de longue durée. Pour le moment, les essais n'ont été effectués que sur des Lépidoptères.

STRATÉGIES À METTRE EN ŒUVRE

La découverte de molécules réellement active contre les insectes comme insecticides antiappétents ou répulsifs est essentielle aussi bien chez des plantes cultivées que chez des espèces sauvages sans valeur agronomique. Pour réaliser cet objectif une quadruple collaboration est nécessaire : tout d'abord, les agronomes de terrain doivent observer, trier les souches et les espèces qui sont résistantes aux insectes. Les biologistes spécialistes des

substances secondaires de plantes peuvent ensuite isoler et tester les molécules actives contre les insectes nuisibles. En association avec des chimistes, ils déterminent chimiquement et éventuellement synthétisent ces molécules.

Après divers contrôles, ces molécules peuvent alors « retourner » sur le terrain.

Selon le type de molécule, son origine et sa spécificité, on peut envisager trois développements possibles : utilisation comme insecticide généraliste par pulvérisation, recherche de souches de plantes possédant ces molécules en grande quantité puis, par croisement, sélection de races plus résistantes ; enfin, pour des substances particulièrement actives, clonage de ses enzymes de synthèse et manipulation vers des plantes cultivées.

UN EXEMPLE DE COLLABORATION ACTIVE ENTRE LE C.T.F.T. ET LES LABORATOIRES DE RECHERCHE FONDAMENTALE

Ce type de recherche nécessite tout d'abord des observations d'hommes de terrain, puis une collaboration étroite entre ces agronomes et les laboratoires de recherche fondamentale. Les zones tropicales et équatoriales renferment des centaines de plantes intéressantes pour la lutte contre les ravageurs. A titre d'exemple, il est possible de citer l'excellente collaboration que nous avons développée depuis 1986 entre le C.T.F.T., le laboratoire de chimie organique structurale (Pr. J.-J. BASSELIER) et le laboratoire « Communication Chimique » du CNRS (LNB8) à Marseille.

A partir d'observations sur le terrain concernant des souches de diverses Méliacées résistantes aux Lépidoptères, effectuées par le C.T.F.T. (F. BRUNCK), ont été isolées et identifiées chimiquement cinq molécules très complexes qui ont un rôle antiappétent très puissant contre les chenilles de papillons. A partir de feuilles et de graines fournies par le C.T.F.T. les extraits ont été purifiés et chaque fraction a été testée contre des chenilles de deux espèces de Lépidoptères (*Spodoptera frugiperda*) et (*Hypsipyla robusta*).

Les tests sur milieu artificiel ont été effectués à toutes les étapes de la purification guidant l'expérimentation pour désigner le bon extrait. Ces molécules ont été totalement isolées, déterminées, puis identifiées par Rayons X, Spectrographie de Masse et de Résonance Magnétique, Infra-Rouge... Ce travail a duré 3 ans et a fait l'objet d'une thèse (D. LAMAQUE). On peut espérer que ces molécules pourront être synthétisées et que l'on pourra réaliser une expérimentation en plein champ. Les cibles moléculaires devront être aussi recherchées. On pourra alors se mettre en quête d'un partenaire industriel selon l'efficacité de ces molécules et la faisabilité d'un développement industriel.

D'autres collaborations sont bien évidemment réalisables et c'est par ce type de recherche pluridisciplinaire qu'une nouvelle stratégie de lutte contre les ravageurs est possible.