

Article de recherche

Champignons phytopathogènes associés à deux coléoptères scolytidae du pin sylvestre (*Pinus sylvestris* L.) et étude préliminaire de leur agressivité envers l'hôte*

F. Lieutier¹, A. Yart, J. Garcia, M.C. Ham, M. Morelet²
et J. Levieux¹

¹ INRA – Station de Zoologie Forestière, Ardon, 45160 Olivet ;

² INRA – Station de Pathologie Forestière, Champenoux, 54280 Seichamps, France

(reçu le 9 juin 1988; accepté le 12 octobre 1988)

Résumé — Nous nous sommes proposés de reconnaître les espèces de champignons susceptibles de jouer un rôle dans les relations entre le pin sylvestre et les scolytides *Ips sexdentatus* et *Tomicus piniperda*.

L'étude a porté principalement sur les variations de la fréquence (pourcentage de présence) de chacun des champignons dans les divers relevés, au cours des phases d'évolution des insectes adultes, et sur une appréciation de leur agressivité pour le pin sylvestre.

Ophiostoma brunneo-ciliatum et *Ophiostoma ips* peuvent peut-être jouer un rôle dans les mécanismes d'installation d'*Ips sexdentatus*, par suite de leur agressivité moyenne, de la fréquence élevée de leur association avec l'insecte et des faibles variations de cette fréquence d'un prélèvement à l'autre.

Chez *Tomicus piniperda*, c'est *Leptographium wingfieldii* qui s'est avéré posséder la plus grande chance de jouer ce rôle, grâce à une agressivité très forte, à une fréquence d'association dont les variations sont en concordance avec les stades de développement de l'insecte, et malgré les faibles valeurs de cette fréquence. Chacun des deux scolytides pourrait en outre correspondre à un type particulier de relations Pins-scolytides-champignons.

champignons phytopathogènes – *Leptographium wingfieldii* – *Ophiostoma brunneo-ciliatum* – *Ophiostoma ips* – *Ophiostoma minus* – *Hormonema dematioides* – Scolytidae – *Ips sexdentatus* – *Tomicus piniperda* – *Pinus sylvestris* – agressivité – relations arbres-insectes – relations insectes-champignons

Summary — Phytopathogenic fungi associated with two bark beetles of scots pine (*Pinus sylvestris* L.), and preliminary study of their aggressiveness for the host. Our aim was to determine the species of fungi which have a good possibility of playing a role in the relationships between scots pine and two of its harmful bark beetles, *Ips sexdentatus* and *Tomicus piniperda*.

* Etude réalisée dans le cadre de l'ATP CNRS-INRA n° 4320 «Messagers chimiques, Relations insectes-insectes et insectes-plantes».

Two species, *Ophiostoma brunneo-ciliatum* and *Ophiostoma ips*, for *Ips sexdentatus*, and three species, *Leptographium wingfieldii*, *Ophiostoma minus* and *Hormonema dematioides*, for *Tomicus piniperda*, were first selected after the identification of various fungi isolated from the beetles and from their galleries. Their relations with the sapwood blue-stain were specified by an examination of the bark beetles' attacks on trap-trees (table 4). The frequency of their associations (frequency of the presence of each fungus in the samples) with the insects was followed over a period of 3 years for *I. sexdentatus*, 4 years for *T. piniperda*, along the maturation stages of the adults. *O. brunneo-ciliatum* and *O. ips* had a high frequency of association with *I. sexdentatus*. *L. wingfieldii* had a low but uniform frequency, *H. dematioides* a high and uniform frequency and *O. minus* a very variable frequency of association with *T. piniperda* (table 1 and 2). The aggressiveness of these fungi for scots pine was assessed by inoculating trees with fungal cultures and measuring the intensity of the tree defense reaction and the extension of the fungus after 3 weeks. *L. wingfieldii* and *O. minus* have the highest aggressiveness. *H. dematioides* has little aggressiveness. *O. brunneo-ciliatum* and *O. ips* are intermediate (Fig. 1 and 2).

It is concluded that *O. brunneo-ciliatum* and *O. ips* have a high probability of playing a role in the mechanisms of the establishment of *I. sexdentatus* in scots pine, because of their aggressiveness and their high constancy. *L. wingfieldii* has a good possibility of playing a role for *T. piniperda*, because of its very high aggressiveness for scots pine, the steady variations of its frequency in synchrony with the development of the beetle and in spite of the low level of this frequency. The conditions in which the fungi could play such a role will have to be specified, but it seems that the two bark beetle species could each correspond to a different situation of pine-bark beetle-fungus relationship.

phytopathogenic fungi – *Leptographium wingfieldii* – *Ophiostoma brunneo-ciliatum* – *Ophiostoma ips* – *Ophiostoma minus* – *Hormonema dematioides* – *Scolytidae* – *Ips sexdentatus* – *Tomicus piniperda* – *Pinus sylvestris* – aggressiveness – insect-trees relationship – insects-fungi relationships

Introduction

On sait que la plupart des scolytides des conifères sont associés à diverses espèces de champignons phytopathogènes appartenant en majorité au genre *Ophiostoma* (Graham, 1967; Francke-Grossman, 1967; Whitney, 1982). Divers auteurs ont suggéré que ces micro-organismes associés auraient un rôle prépondérant dans les mécanismes d'installation des populations de scolytides sur les arbres, en induisant une réaction résinique locale violente de la part de l'hôte (Reid *et al.*, 1967; Berryman, 1972; Safranyik *et al.*, 1975; Christiansen et Horntvedt, 1983; Raffa et Berryman, 1983). Des modèles de fonctionnement des relations conifères-scolytides et de déclenchement des pullulations ont été proposés, en accordant, selon les cas, un rôle plus ou

moins fondamental aux champignons associés, auxquels on a, en outre, souvent attribué la responsabilité de la mort de l'arbre attaqué par les populations de scolytides (Berryman, 1972; Safranyik *et al.*, 1975; Raffa et Berryman, 1983; Christiansen et Horntvedt, 1983; Horntvedt *et al.*, 1983; Lorio et Hodges, 1985). Toutefois, hormis le cas d'*Ips typographus* sur épicéa, étudié en Norvège par Christiansen et ses collaborateurs, toutes ces études ont concerné des scolytides nord-américains qui n'existent pas en Europe; rien n'a encore été publié concernant les relations pins européens-scolytides. Certains de ceux-ci présentent dans leur cycle biologique des particularités importantes (le genre *Tomicus* par exemple), interdisant de leur appliquer brutalement un des modèles déjà proposés, et sont des ravageurs de grand

impact économique, ce qui rend nécessaires des études à leur sujet.

Nous présentons ici les résultats de nos premières investigations sur les relations entre *Pinus sylvestris* L. et deux de ses ravageurs, *Tomicus piniperda* L. et *Ips sexdentatus* Boern. La biologie d'*I. sexdentatus* peut être considérée comme appartenant à un type classique, la totalité du développement, de l'œuf à l'émergence des adultes mûrs, s'effectuant dans la même zone de l'arbre, au niveau sous-cortical. *T. piniperda* présente au contraire la particularité de changer plusieurs fois de localisation au cours de son développement. L'évolution larvaire et nymphale s'effectue en effet au printemps, sous l'écorce du fût des arbres attaqués, alors que la maturation estivale et automnale des adultes a lieu dans la moelle des pousses et que l'hivernation se passe sous l'écorce de la base des arbres. Par ailleurs, alors que les attaques massives d'*I. sexdentatus*, comme chez la plupart des scolytides, semblent dues aux phéromones d'agrégation, celles de *T. piniperda* seraient causées directement par les terpènes émis par l'arbre hôte (Schroeder et Eidman, 1987; Schroeder, 1987).

Nous avons cherché à identifier les principales espèces de champignons phytopathogènes associés aux deux scolytides, à estimer les fréquences de ces associations et à comparer l'agressivité pour le pin sylvestre des champignons isolés. Le but était de déceler des espèces susceptibles de jouer un rôle dans les mécanismes d'installation sur leur hôte des deux scolytides considérés. Divers champignons ont déjà été isolés de *T. piniperda* et d'*I. sexdentatus* en Pologne et en Suède et identifiés (Siemaszko, 1939, Rennerfeld, 1950; Mathiesen, 1950; Mathiesen-Kaarik, 1953), mais leurs associations avec les scolytides et leur agressivité n'a encore fait l'objet d'aucune étude systématique.

Matériels et Méthodes

Isolement et identification des champignons

Les adultes de chaque espèce de scolytide ont été récoltés dans diverses parcelles de la forêt d'Orléans, massif de Lorris (France), aux différentes phases d'activité suivantes :

- pour *I. sexdentatus*, émergence et attaque des fûts, pour chacune des deux générations annuelles, en 1984, 1986 et 1987,
- pour *T. piniperda*, hivernation, émergence post-hivernale, attaque des fûts, émergence des jeunes adultes avant la nutrition sur pousse, jeunes adultes dans les pousses, pour chaque année de 1984 à 1987.

Les insectes émergents ont été obtenus après récolte, puis mis en éclosoir au laboratoire, des organes végétaux infestés. Ils ont été prélevés au fur et à mesure de leur émergence et placés individuellement en tube stérile à 4 °C jusqu'à leur utilisation. Les récoltes d'insectes attaquants ont été faites directement sur le terrain, 2 à 3 jours après l'attaque, sur des arbres préalablement abattus et faisant office de pièges; pour ce faire, les insectes et un fragment de leur galerie ont été prélevés après écorçage local des arbres-pièges, et placés individuellement en tube stérile. Les pousses attaquées ont été coupées sur les arbres ou ramassées au sol, puis rapportées au laboratoire où les insectes ont été extraits. Dans le cas des attaques sur tronc et des insectes en maturation dans les pousses, l'unité de prélèvement a été constituée par la galerie et les insectes s'y trouvant. Cette façon de procéder se justifie par le fait que les insectes et leur galerie sont en contact étroit au moment de leur récolte. Chez *I. sexdentatus*, les insectes émergents ont été sexés avant leur utilisation pour les isoléments. Chez *T. piniperda*, l'influence du sexe a été étudiée sur un sous-échantillon portant sur plusieurs années et composé d'insectes essaimants, de jeunes émergents, et d'insectes en maturation dans les pousses. Des prélèvements de phloème indemne d'attaques (31 pour *I. sexdentatus*, 23 pour *T. piniperda*), ont été effectués au voisinage des galeries prélevées (61 pousses non attaquées ont aussi été récoltées au voisinage de celles contenant des insectes).

Dans toutes ces opérations, tant sur le terrain qu'au laboratoire, nous nous sommes efforcés de respecter au maximum les conditions de sté-

rilité, en particulier en trempant dans l'alcool puis en flambant tous les instruments d'écorçage ou de récolte entre chaque prélèvement d'insecte, et en évitant les contacts entre insectes provenant de galeries différentes.

Au laboratoire, chaque insecte a été placé sur milieu malt-agar en boîte de Pétri et laissé libre de ses mouvements pendant 30 minutes; il a été ensuite broyé en eau stérile et une partie aliquote du broyat a été étalée sur une autre boîte de culture. Les cultures ont été incubées à 25 °C. La présence d'un champignon a été considérée comme effective sur l'insecte quand ce champignon apparaissait dans au moins 1 des 2 isollements. Les parties végétales (galeries prélevées sur les arbres-pièges ou sur les pousses, ou phloème et pousses non attaquées) ont été découpées en menus morceaux qui ont été mis en culture sur malt-agar, puis incubés à 25 °C. Dans le cas des attaques et des insectes en nutrition dans les pousses, la présence d'un champignon a été considérée comme effective dans l'unité de prélèvement, quand ce champignon apparaissait, soit sur un des insectes présents dans la galerie, soit dans la galerie elle-même.

Les identifications ont été effectuées après obtention des formes parfaites (périthèces et ascospores), après s'être assuré de la pureté des colonies par culture monospore. Dans certains cas cependant, seules les formes imparfaites (conidiophores et conidies) ont pu être obtenues.

Liaisons entre la présence des champignons et le bleuissement de l'aubier

En février et en avril 1986, deux arbres ont été abattus à chaque fois, dans deux localités différentes de la forêt d'Orléans, pour servir de pièges aux attaquants de *T. piniperda* et d'*Ips sexdentatus*. Les attaques eurent lieu à la mi-mars pour le premier insecte, début mai pour le second. Deux mois et demi après les attaques, les arbres-pièges ont été écorcés et la localisation du bleuissement en surface de l'aubier a été repérée, ainsi que la localisation des galeries. Une languette d'aubier superficiel a été arrachée stérilement à proximité de plusieurs galeries, bleues ou non, et placée en tube stérile, pour être ultérieurement découpée en morceaux au laboratoire et disposée sur malt-agar. Les arbres ont été ensuite sectionnés transversalement pour observer le bleuissement dans la profondeur de l'aubier. Puis, des rondelles de tronc issues de différentes zones du fût des

arbres-pièges ont été prélevées afin d'y effectuer des isollements dans la profondeur de l'aubier (bleui ou non), en notant leur localisation par rapport à celle des différents types de galeries en surface. Au laboratoire, chaque rondelle a été cassée en plusieurs morceaux, puis des fragments d'aubier immédiatement prélevés sur les sections ainsi mises à jour ont été mis en culture.

Agressivité des champignons

En 1986, 6 pins sylvestres de 68 à 76 cm de circonférence pour une hauteur de 1,30 m ont été choisis pour leurs indices de productivité comparables (rapport de la surface de section des 5 derniers cerneaux à la surface de section de l'aubier à 1,30 m compris entre 0,178 et 0,206) (Waring *et al.*, 1980). En mars, en mai et en août, chacun des champignons à potentialités phytopathogènes, obtenu à partir des insectes ou de leurs galeries, a été inoculé au minimum 2 fois à ce groupe de pins. Les périodes choisies correspondaient aux époques d'attaque des générations principales des 2 scolytides en Forêt d'Orléans (mars pour *T. piniperda*, mai pour la première génération d'*I. sexdentatus*, août pour la seconde). A chaque fois, les inoculations ont été réparties au hasard parmi les 6 arbres, mais de façon que chacun d'eux reçoive un même nombre d'inoculations, toutes différentes. Toutefois, l'identification des champignons n'étant pas totalement terminée à cette époque, certaines espèces classées primitivement dans des catégories différentes, mais reconnues par la suite identiques, ont été inoculées plus de deux fois; certains arbres ont donc quand même reçu plusieurs inoculations identiques.

La technique d'inoculation était dérivée de celle décrite par Wright (1933). Un trou de 5 mm de diamètre était réalisé avec un emporte-pièce, à travers l'écorce jusqu'au niveau du cambium; une pastille de 5 mm de diamètre d'une culture sporulée de champignon âgée de 2 à 3 semaines était alors introduite dans le trou, qui était ensuite rebouché avec le morceau d'écorce retiré par l'emporte-pièce. Sur chaque arbre, un témoin a été en outre réalisé, en remplaçant la pastille de culture sporulée par une pastille de milieu sans culture.

Trois semaines après les inoculations, la zone aux alentours de chaque point d'inoculation a été écorcée et la longueur totale de la réaction de défense dans le phloème a été mesurée. Le quart supérieur gauche de cette

réaction a été prélevé stérilement pour être rapporté au laboratoire, où des isollements ont été ensuite effectués tous les 10 mm à partir du point d'inoculation, afin d'apprécier les limites du développement du champignon. Les distances obtenues ont été alors multipliées par deux, pour pouvoir être directement comparées à la longueur totale de la réaction. Le quart supérieur droit a été placé dans une solution saturée d'acétate de cuivre, pour des études histologiques qui ne seront pas rapportées ici. La moitié inférieure de la réaction a été placée, immédiatement après son prélèvement, sous atmosphère d'azote, dans la glace carbonique, puis stockée au laboratoire à -35°C jusqu'au dosage de la concentration en résine. Celle-ci a été mesurée dans un échantillon de phloème qui correspondait aux 25 mm les plus proches du point d'inoculation dans le sens longitudinal et qui avait été découpé dans la réaction sur une largeur de 5 mm. L'extraction de la résine a été effectuée en utilisant une technique inspirée de celle décrite par Christiansen (1985). L'échantillon découpé, puis pesé, a été broyé dans un broyeur à azote liquide. La poudre obtenue a été placée dans du pentane et agitée pendant 1 heure. Après décantation et rinçage de la poudre, le pentane a été récupéré, puis évaporé sous courant d'azote. Le résidu obtenu a été pesé et appelé «résine».

Persistence des champignons dans les arbres inoculés

En mars 1985, deux arbres de 70 et 80 cm de circonférence ont été inoculés, au moins deux fois chacun, par toutes les espèces de champignons phytopathogènes isolées (sauf pour *H. dematioides*, introduit une seule fois sur chaque arbre) selon la technique décrite ci-dessus. En avril 1986, les zones d'inoculation ont été écorcées et la longueur des réactions de défense dans le phloème a été mesurée. Les réactions ont été ensuite prélevées stérilement afin d'apprécier la persistance et l'extension des champignons à l'intérieur de la zone de réaction, selon la méthode rapportée ci-dessus.

Expérience de lavage des insectes

Des insectes en émergence post-hivernale (360 pour *T. piniperda*, 657 pour *I. sexdentatus*) ont été trempés et agités vigoureusement pendant 3 minutes dans de l'eau stérile additionnée d'un agent mouillant (tween 80). Après élimination

des insectes, le «jus» récupéré (1,5 ml dans le cas de *T. piniperda*; 3,75 ml dans le cas d'*I. sexdentatus*) a été introduit dans 2 pins sylvestres (un pour chaque «jus» de lavage), selon la technique déjà décrite, à raison de 50 μl de jus par trou. Trente inoculations ont ainsi pu être réalisées en avril 1986 dans le cas de *T. piniperda*, 75 en mai 1986 dans le cas d'*I. sexdentatus*. Le premier arbre a reçu en même temps deux inoculations d'eau stérile, le deuxième quatre. Cinq semaines plus tard, les zones d'inoculations ont été écorcées et les réactions de défense prélevées stérilement pour en isoler les champignons au laboratoire sur milieu malt-agar.

Résultats

Pour tous les résultats, les intervalles de confiance sont calculés pour un coefficient de sécurité de 95% et les tests de signification sont effectués par test «t» pour ce même seuil.

Nature et fréquence des champignons isolés des insectes et de leurs galeries

A côté de divers saprophytes appartenant principalement aux genres *Penicillium*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Cladosporium*, *Verticillium*, *Epicoccum*, *Mucor*, *Ceuthospora*, *Aspergillus*, un certain nombre de champignons à potentialités phytopathogènes ont été isolés des insectes ou de leurs galeries :

– Avec *I. sexdentatus* : *Sporothrix* spp., forme imparfaite de *Ophiostoma*, dont les fructifications ont fourni uniquement *Ophiostoma brunneo-ciliatum* Math.-K. et *Ophiostoma ips* (Rumb.) Nannf.; *Ophiostoma minus* (Hedgc.) H. et P. Syd; *Hormonema dematioides* Lagerb. et Melin; un *Leptographium* sp. dont la forme parfaite n'a pu être obtenue; un champignon appelé «A» qui n'a pu être obtenu que sous forme de mycélium stérile.

Parmi les *Sporothrix*, il a été en fait possible de distinguer un *Sporothrix* vrai, ana-

morphe de *O. brunneo-ciliatum* et un *Hyalorhinocladiella*, anamorphe de *O. ips*. Toutefois, la distinction délicate de ces deux formes nous a conduit, par prudence, à utiliser par la suite le terme *Sporothrix* au sens large, en y incluant la forme *Hyalorhinocladiella*.

– Avec *T. piniperda* : *Ophiostoma minus*; *Hormonema dematioides*; *Leptographium wingfieldii* Morelet, différent du *Leptographium* isolé chez *I. sexdentatus* et proche de *Leptographium penicillatum* Grosm. (Morelet, 1988); un *Sporothrix* dont la forme parfaite n'a pas été obtenue; *Acre-*

monium sp.; *Aureobasidium* sp.; le champignon A.

Chez *I. sexdentatus* (Tableau I), la fréquence de *Sporothrix* spp. (nombre d'unités de prélèvement où l'isolement est positif, rapporté au nombre d'unités examinées) est supérieure ou égale à 93% dans 10 cas sur 12. Les taux de fructification varient cependant beaucoup et représentent, selon les prélèvements, de 10 à 83% des unités de prélèvement contenant *Sporothrix*. Ils sont significativement plus élevés chez les attaquants que chez les essaimants pour 4 saisons sur 5. *O. ips*

Tableau I. Fréquence (en % de présence) des différentes espèces de champignons isolées au cours des phases de développement des adultes d'*Ips sexdentatus*.

	1984		1986				1987					
	1 ^{re} génération	2 ^e génération	1 ^{re} génération		2 ^e génération		1 ^{re} génération		2 ^e génération			
	Attaquants	Essaimants	Attaquants	Essaimants	Attaquants	Essaimants	Attaquants	Essaimants	Attaquants	Essaimants	Attaquants	Essaimants
N° parcelle	488	488	488	488	488	488	488	488	534	437	484	545
Nombre d'unités de prélèvement	33	67	18	50	51	47	50	60	49	40	44	35
sex-ratio		0,72		1,63		0,69		2,3			0,88	
<i>Sporothrix</i> (1)	97 (84-100)	73 (61-83)	89 (66-98)	100 (93-100)	98 (91-99,5)	100 (93-100)	94 (86-99,5)	93 (84-98)	100 (93-100)	100 (91-100)	93 (82-99)	100 (90-100)
% fructification sexuée des <i>Sporothrix</i> (2)	66 (45-80)	18a (9-32)	69a (32-86)	10 (3-18)	16 (7-29)	11b (4-23)	34b (21-50)	16c (8-29)	37c (23-51)	63c (46-77)	22d (11-39)	83d (66-93)
<i>O. brunneo-</i> <i>ciliatum</i> (3)	33b (15-59)	22c (25-56)	82d (45-97)	60 (15-95)	62 (24-92)	0a (0-52)	13e (2-43)	22f (3-60)	44 (19-64)	64 (41-81)	0g (0-34)	3,5h (0,1-17)
<i>O. ips</i> (3)	76b (51-81)	78c (44-98)	36d (12-74)	60 (15-95)	38 (8-76)	100a (48-100)	87e (57-98)	78f (40-97)	67 (46-88)	56 (50-83)	100g (66-100)	100h (88-100)
<i>O. minus</i> (1)	0 (0-11)	0 (0-5)	17 (3-38)	0 (0-7)	2 (0,5-13,7)	0 (0-7)	0 (0-7)	1,7 (0,04-9)	2 (0,05-11)	7,5 (1,5-20)	4,5 (0,6-17)	0 (0-11)
<i>H. dematioides</i> (1)	36 (21-54)	1,5 (0,04-8)	0 (0-18)	0 (0-7)	5,9 (1,2-16,5)	0 (0-7)	8 (2-19)	0 (0-6)	0 (0-7)	0 (0-9)	0 (0-8)	0 (0-11)
<i>Leptographium</i> sp. (1)	0 (0-11)	0 (0-5)	11 (1,5-32)	0 (0-7)	7,8 (2-19)	0 (0-7)	2 (0,05-11)	1,7 (0,04-9)	2 (0,05-11)	5 (0,6-17)	6,8 (1,6-20)	0 (0-11)
A (1)	0 (0-11)	0 (0-5)	0 (0-18)	0 (0-7)	12 (4,5-21)	0 (0-7)	8 (2-19)	0 (0-6)	4 (0,5-14)	0 (0-9)	0 (0-8)	3 (0,1-14)

(1) : % exprimé par rapport au nombre d'unités de prélèvement étudiées; (2) : % exprimé par rapport au nombre d'unités de prélèvement ayant fourni des *Sporothrix*; (3) : % exprimé par rapport au nombre d'unités de prélèvement ayant donné des fructifications sexuées de *Sporothrix*. Les nombres entre parenthèses représentent les limites des intervalles de confiance. Deux nombres affectés de la même lettre diffèrent significativement au seuil de 95%, les comparaisons n'étant effectuées que dans une même ligne ou une même colonne.

Tableau II. Fréquence (en % de présence par rapport au nombre d'unités de prélèvement) de *H. dematioides*, *O. minus* et *L. wingfieldii*, au cours des phases de développement des adultes de *T. piniperda* (Pour les autres champignons, voir texte).

		Numéro parcelle	Nombre d'unités de prélèvement	<i>Hormonema dematioides</i>	<i>Ophiostoma minus</i>	<i>Leptographium wingfieldii</i>
1984	J. em	488	35	9 (2-28)	46 (26-59)	0 (0-10)
	Pousses	1406	53	85 (72-93)	0 (0-7)	0 (0-7)
	Hiv.	444	25	48 (20-60)	0 (0-14)	0 (0-14)
1985	Ess.	444	58	33 (20-45)	0 (0-6)	0 (0-6)
	Att.	488	57	88 (76-95)	14 (6-26)	10 (4-20,5)
	J. em.	577	50	84 (71-93)	2 (0,1-11)	30 (18-45)
	Pousses	1406	80	79 (68-87)	0 (0-4,5)	12,5 (6-22)
	Hiv.	1406	54	89 (79-96)	0 (0-7)	7,4 (2-17,5)
1986		J	41	78 (62-90)	0 (0-9)	12 (4-26,5)
	Ess.	1406	50	38 (25-53)	0 (0-7)	4 (0,5-14)
		484	52	46 (34-63)	0 (0-7)	4 (0,5-14)
	Att.	488	198	37 (29-45)	25 (19-32)	4,5 (2-9)
	J. em.	1406	46	85 (69-94)	0 (0-8)	30 (18-47)
	Pousses	1406	107	98 (93-99)	0 (0-3,5)	4,7 (1,5-11)
		539	55	87 (74-95)	0 (0-7)	0 (0-7)
	Hiv.	140	51	67 (51-79)	0 (0-7)	2 (0,5-14)
		539	101	35 (26-45)	20 (13-29)	1 (0-5)
		488	158	11 (5-19)	22 (15-30)	1,3 (0-4,5)
1987	Att.	577	26	35 (16-61)	12 (2,5-30)	0 (0-13,5)
		1406	50	30 (18-45)	4 (0,5-14)	2 (0,1-11)
		437	52	8 (3-21)	2 (0,1-11)	0 (0-7)
	J. em.	429	62	10 (3,5-20)	0 (0-6)	5 (1-14)
	Pousses	545	12	75 (41-95)	0 (0-30)	0 (0-30)

Les nombres entre parenthèses représentent les limites des intervalles de confiance au niveau 95%. Ess = insectes en essaimage post-hivernal ; Att. = attaquant ; J. em. = jeunes émergents immatures ; Pousses = insectes en nutrition de maturation dans les pousses ; Hiv. = hivernants.

apparaît globalement le plus constant sur les 3 années puisqu'il est présent dans 75% (intervalle de confiance 67-92%) des unités de prélèvement où les *Sporothrix* ont fructifié, alors que *O. brunneo-ciliatum* n'est présent que dans 33% (25-41%) des cas, la différence étant significative. Ces proportions varient cependant de façon importante, sans qu'il soit possible de déterminer de tendance générale. Dans les cas où cela a pu être étudié, la localité de prélèvement ou le sexe de l'hôte

ne paraissent pas influencer la fréquence des *Sporothrix*, leur taux de fructification ou la fréquence d'obtention des formes parfaites de *O. ips* et *O. brunneo-ciliatum*.

O. minus, *H. dematioides*, *Leptographium* sp. et le champignon A ont, chez *I. sexdentatus*, une fréquence d'association irrégulière selon les années et les localités, et toujours très faible, à l'exception de la première génération d'attaquants en 1984 pour *H. dematioides*.

Les prélèvements témoins sur arbres-pièges n'ont permis d'isoler que *H. dematioides*, dans 26% (12-46%) des cas pour un total de 31 prélèvements.

Chez *T. piniperda* (Tableau II), *H. dematioides* est l'espèce la plus fréquemment associée. Cette fréquence est la plus élevée dans les prélèvements effectués sur les pousses et la plus faible, à l'exception de l'année 1985, chez les essaimants ou les attaquants. Bien qu'il existe quelques variations interannuelles, ce schéma reste valable pour chacune des 4 années, et aucune variation importante n'est observée, pour un stade donné et une année donnée, selon les localités. *O. minus* a une fréquence très irrégulière. Le plus souvent nulle, elle peut atteindre certaines années et dans certaines localités des valeurs élevées. *L. wingfieldii* est présent dans presque tous les prélèvements effectués à partir de 1985, mais sa fréquence est faible et ne dépasse 12,5% que chez les jeunes émergents en 1985 et 1986 (30%). Il existe des variations interannuelles mais, contrairement à *O. minus*, peu de différences selon les localités pour un même stade et une même année. Chaque année, la fréquence de *L. wingfieldii* dans les prélèvements s'accroît, depuis le stade «essaimants», jusqu'au stade «jeunes émergents», puis décroît jusqu'au stade «hivernants», ce dernier

présentant toujours des valeurs intermédiaires entre le stade «pousses» de l'année précédente et le stade «essaimants» de l'année suivante.

Sporothrix et *Acremonium* ne sont observés que sur les jeunes adultes émergents et seulement certaines années; pour le premier en 1984 (fréquence 14%, intervalle de confiance 5-30%) et en 1985 (fréquence 10%, intervalle de confiance 3-22%), pour le deuxième en 1984 (fréquence 6%, intervalle de confiance 0,7-20%). *Aureobasidium* n'est observé qu'en 1984 pendant la phase de maturation dans les pousses (fréquence 1,9%, intervalle de confiance 0,1-10%). Le champignon A a été isolé à des phases variées du développement de l'insecte, mais de manière très irrégulière: pendant la phase de nutrition sur pousses en 1984 (fréquence 7,5%, intervalle de confiance 2-19%), chez les jeunes émergents en 1985 (fréquence 2%, intervalle de confiance 0,1-11%), chez les hivernants de la parcelle 140 en 1986-87 (fréquence 2%, intervalle de confiance 0,1-11%) et chez les attaquants de la parcelle 488 en 1987 (fréquence 0,6%, intervalle de confiance 2,5-11%).

Aucune influence du sexe n'est observée sur la fréquence des associations des 3 champignons les plus souvent isolés avec *T. piniperda* (Tableau III). Aucun pré-

Tableau III. Fréquence des champignons associés à *T. piniperda* selon le sexe de l'insecte hôte. (Etude effectuée sur un sous-échantillon provenant de différentes parcelles, incluant les 3 premières années d'étude, et composé d'insectes essaimants, de jeunes émergents et d'insectes en maturation dans les pousses.

	<i>H. dematioides</i>	<i>O. minus</i>	<i>L. wingfieldii</i>	Nombre d'unités de prélèvement
Insectes mâles	52 (43-61)	0 (0-3)	6,6 (3-12)	136
Insectes femelles	55 (46-66)	0,7 (0-4)	6,3 (2-12)	143

Les nombres entre parenthèses sont les intervalles de confiance au niveau 95%. Aucune différence entre mâle et femelle n'est significative.

lèvement témoin effectué à proximité des galeries sur les mêmes arbres-pièges n'a fourni l'une de ces espèces. Les prélèvements effectués sur les pousses indemnes d'attaques ont fourni *H. dematioides* pour 90% d'entre eux et le champignon A pour 3,3%.

Toutes les galeries étaient associées à un bleuissement en surface de l'aubier, celui-ci étant également bleu dans toute son épaisseur sur les 3 faces ayant supporté les attaques. La face inférieure ne comportait de bleuissement ni en surface ni en profondeur.

Le bleuissement de l'aubier

Sur 102 galeries de *T. piniperda* examinées, 35 étaient associées à un bleuissement en surface de l'aubier, aucune zone bleue n'a été observée en l'absence de galerie. En profondeur de l'aubier, le bleuissement était localisé uniquement au niveau des galeries de *T. piniperda* qui présentaient déjà une zone bleue en surface. Les arbres-pièges attaqués par *I. sexdentatus* ont été colonisés uniquement sur leurs faces supérieure et latérales.

Les isollements effectués dans les différentes situations ont fourni les résultats du Tableau IV. Pour *T. piniperda*, *O. minus* est isolé plus fréquemment des galeries bleues que des galeries sans bleuissement, associé en surface de l'aubier, à l'inverse des autres champignons. En profondeur, seuls *O. minus* et *L. wingfieldii* ont pu être isolés, la fréquence d'isolement du premier étant significativement plus élevée dans le cas de prélèvements effectués dans une zone bleue située en face d'une galerie bleue. Pour *I. sexdentatus*, *Sporothrix* a été obtenu dans tous les pré-

Tableau IV. Fréquence (en % de présence par rapport au nombre de prélèvements) des champignons isolés dans différentes zones de l'aubier bleui ou non bleui, en surface ou en profondeur.

		Isolements en surface		Isolements en profondeur	
		au niveau d'une galerie «bleue»	au niveau d'une galerie «non bleue»	face à une galerie «bleue»	face à une galerie «non bleue»
<i>Tomicus piniperda</i>	<i>O. minus</i>	79,4 (62-92) **	24,2 (11-42)	68,8 (35-86) **	7,8 (1-26)
	<i>L. wingfieldii</i>	8,8 (2-23) n.s.	6,1 (91-20)	12,5 (2-43) n.s.	0 (0-13)
	<i>H. dematioides</i>	2,9 (0,1-15) **	12,1 (3,5-28)	—	—
	<i>Sporothrix</i>	8,8 (2-23) **	39,4 (22-58)	—	—
	Nombre de prélèvements	34	33	16	26
<i>Ips sexdentatus</i>				(zone bleue)	(zone non bleue)
	<i>Sporothrix</i>	100 (83-100) (dont 10% <i>O. ips</i>)	—	90 (68-99) ** (dont 5% <i>O. brunneo-ciliatum</i> 21% <i>O. ips</i>)	30 (7-65)
	Nombre de prélèvements	21	—	19	10

n.s. = différence non significative; * = différence significative au seuil de 95%; ** = différence significative au seuil de 99%.

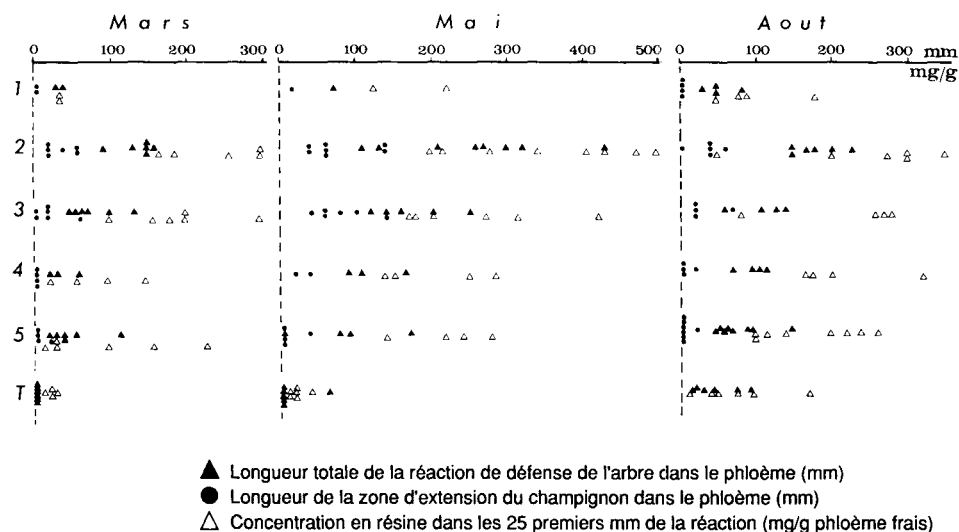


Fig. 1. Intensité des réactions de défense dans le phloème du pin sylvestre et extension des champignons associés à *T. piniperda* et *I. sexdentatus*, 3 semaines après les inoculations, à trois périodes différentes de l'année 1986. 1 - *Hormonema dematioides*; 2 - *Leptographium wingfieldii*; 3 - *Ophiostoma minus*; 4 - *Ophiostoma brunneo-ciliatum*; 5 - *Ophiostoma ips*; T = témoin.

lèvements effectués dans la zone bleue superficielle. En profondeur, il a été isolé nettement plus souvent dans la zone bleue qu'en dehors.

Agressivité des champignons (Fig. 1)

Trois semaines après les inoculations, les réactions ont toutes réussi à endiguer la croissance du champignon et se présentent dans le phloème sous la forme d'une zone elliptique très allongée longitudinalement, riche en résine et à peu près symétrique par rapport à 2 axes, l'un vertical, l'autre horizontal.

Les réactions de défense de l'hôte et la croissance des champignons sont les plus importantes en mai et les plus faibles en mars, mais les comparaisons entre champignons sont les mêmes, quelle que soit la saison. *L. wingfieldii* et *O. minus* induisent des réactions très importantes, que celles-

ci soient appréciées par leur longueur ou par leur concentration en résine dans les 25 premiers mm. *L. wingfieldii* semble cependant responsable des réactions les plus intenses. *O. brunneo-ciliatum* et *O. ips* provoquent des réactions identiques entre elles mais dont l'intensité, bien que très supérieure aux témoins, est inférieure à celle correspondant aux champignons précédents. Les réactions résiniques provoquées par *H. dematioides* sont, en revanche, légèrement supérieures ou comparables à celles des inoculations témoins.

Le classement des champignons d'après leur croissance dans le liber est le même. Aux 3 saisons, *L. wingfieldii* et *O. minus* ont une croissance importante. *H. dematioides* ne dépasse pas la zone d'inoculation. *O. brunneo-ciliatum* et *O. ips* sont intermédiaires; ils ont une croissance réduite mais non nulle. Dans tous les cas, la réaction de défense s'étend

très en avant du front de développement des champignons. Cependant, l'extension relative de ceux-ci, rapportée à la longueur de la réaction correspondante, est très variable selon les espèces. Ainsi, l'extension de *O. minus* après 3 semaines atteint et peut même dépasser en longueur le milieu de la réaction qu'il induit, alors que *L. wingfieldii* n'atteint seulement le tiers et *O. brunneo-ciliatum* et *O. ips* à peine le quart.

Persistance des champignons

Treize mois après les inoculations, toutes les réactions sont entourées d'un bourrelet cicatriciel. A l'intérieur, la résine est entièrement cristallisée et les tissus du phloème, de couleur brun rouge, possèdent une consistance semblable à celle de l'écorce.

Le classement des longueurs des réactions et des zones d'extension des champignons est le même qu'après 3 semaines

(Fig. 2). Seuls cependant 3 des 5 champignons ont pu être réisolés : *O. minus* dans 2 cas sur 4, *L. wingfieldii* dans 1 cas sur 4 et *H. dematioides* dans 2 cas sur 2.

Lavage des insectes

Sur les 75 réactions résultant des inoculations effectuées avec le «jus» de lavage d'*I. sexdentatus*, 51 ont permis l'isolement de *Sporothrix*, qui n'a fructifié que dans un seul cas, fournissant *O. ips*. Seuls des saprophytes ont pu être isolés à partir des autres réactions. Sur les 30 réactions induites par les inoculations du «jus» de lavage de *T. piniperda*, 27 ont fourni *L. wingfieldii*, 2 *O. minus* et 13 *H. dematioides*. Dans tous les cas, les réactions correspondant aux inoculations d'eau stérile n'ont permis d'isoler que des saprophytes.

Interprétation et discussion

La faible fréquence, ainsi que la grande irrégularité de la présence de *O. minus*, *H. dematioides*, *Leptographium sp.* et du champignon A dans les prélèvements associés à *I. sexdentatus*, laissent penser que l'isolement de ces champignons relève plus de phénomènes fortuits que d'une réelle association entre eux et le scolyte, d'autant plus que *H. dematioides* a aussi été isolé des prélèvements témoins. En revanche, *O. brunneo-ciliatum* et *O. ips* sont isolés très régulièrement avec une fréquence élevée, tout au moins sous leur forme *Sporothrix*. Les résultats de l'expérience de lavage d'*I. sexdentatus* montrent en outre que, parmi les champignons à potentialités phytopathogènes que nous avons retenus chez ce scolyte, les deux *Ophiostoma* ont la plus grande compétitivité sur le milieu «arbre vivant». Ils ont en effet été, en quelque sorte, sélectionnés

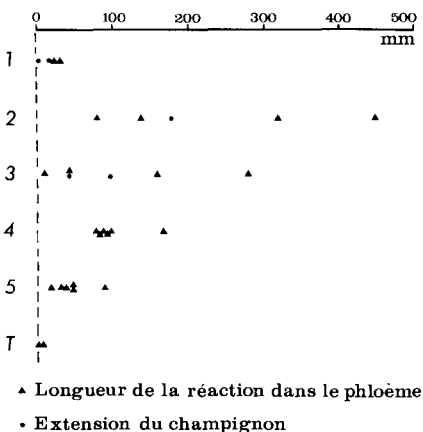


Fig. 2. Intensité des réactions de défense dans le phloème du pin sylvestre et extension des champignons associés à *T. piniperda* et *I. sexdentatus*, 13 mois après les inoculations. 1 - *Hormonema dematioides* ; 2 - *Leptographium wingfieldii* ; 3 - *Ophiostoma minus* ; 4 - *Ophiostoma brunneo-ciliatum* ; 5 - *Ophiostoma ips* ; T = témoin.

par celui-ci puisqu'ils sont les seuls à avoir été isolés (sous leur forme *Sporothrix*) 5 semaines après inoculation de l'arbre par le «jus» de lavage, et cela dans 51 cas sur 75.

La présence de *O. ips* n'avait pas été signalée jusqu'à présent chez *I. sexdentatus*, mais il s'agit d'un champignon extrêmement répandu chez les scolytides. Il a été en effet fréquemment isolé en Europe à partir d'*Ips acuminatus* Gyll. et *Orthotomicus proximus* Eichh., ainsi que, mais plus rarement, d'autres scolytes et même de Cérambycides (Mathiesen-Kaarik, 1950); il a aussi été isolé en Amérique du Nord, associé principalement à *Dendroctonus ponderosae* Hopk. (Upadhyay, 1981). *O. brunneo-ciliatum* apparaît au contraire très spécifique et n'a jamais été signalé chez d'autres espèces qu'*I. sexdentatus* (Mathiesen-Kaarik, 1950; Upadhyay, 1981).

Bien que les périthèces de *O. ips* soient globalement plus constants que ceux de *O. brunneo-ciliatum* dans nos relevés, la proportion est parfois inversée et des variations importantes interviennent selon l'année, la localité ou le stade de développement des insectes. Il est donc impossible d'affirmer que le premier est plus fréquemment associé à *I. sexdentatus* que le second. En outre, les différences de fréquence dans la proportion des formes fructifiées peuvent ne refléter que des facilités différentes de fructification des deux espèces. A ce sujet, le taux de fructification plus important des *Sporothrix* à partir des prélèvements d'insectes attaquants qu'à partir des prélèvements d'essaimage, prouve bien que leur fructification est facilitée par certaines conditions physiologiques liées à un certain stade de l'insecte ou à l'arbre.

La localisation des zones bleuies en surface ou en profondeur de l'aubier des arbres attaqués par *I. sexdentatus* est en liaison directe avec celle des galeries de

cet insecte. Seuls *O. ips* et *O. brunneo-ciliatum* ont été isolés de ces zones, et à une fréquence beaucoup plus importante qu'en dehors des zones bleuies. Ces observations indiquent que les deux champignons doivent intervenir comme agents du bleuissement des arbres attaqués par *I. sexdentatus*.

L'agressivité de ces champignons a été appréciée par l'intensité de la réaction résinique et par l'importance de la croissance du pathogène dans cette réaction. La réaction résinique du phloème correspond en effet à une imprégnation des tubes criblés conduisant à une mort locale des tissus concernés, l'arbre réagissant en sacrifiant un certain volume de tissus (Reid *et al.*, 1967; Berryman, 1969; Lieutier et Berryman, 1988). En outre, pour toutes les inoculations de cette étude, la réaction de l'arbre a été victorieuse, mais la synthèse des composés résiniques, présents dans la réaction, nécessite une grande quantité d'énergie de sa part (Croteau *et al.* 1972; Croteau et Loomis, 1975; Wright *et al.*, 1979). Dans ces conditions, il est logique d'attribuer à un champignon une agressivité élevée quand il suscite une réaction importante, avant de se trouver stoppé dans son développement. L'appréciation de la croissance du champignon dans la réaction est un complément de la mesure de l'intensité de cette dernière. *O. brunneo-ciliatum* et *O. ips* présentent ainsi une agressivité comparable, mais nettement inférieure à celle des champignons associés à *T. piniperda*. La croissance de ces *Ophiostoma* est cependant très réduite à l'intérieur de la réaction, ce qui suggère qu'ils tolèrent mal certains au moins des composés qui y sont présents. Il semble bien en effet que ce soit l'existence de la réaction de l'arbre elle-même qui soit responsable de leur faible croissance, et non l'absence de quelque élément nécessaire à leur métabolisme, car les 2 champignons se sont

parfaitement développés sur les arbres-pièges dans toute l'épaisseur de l'aubier. L'idée d'une fonction d'arrêt ou de toxicité des produits de la réaction est corroborée par le fait que nous n'avons pas réussi à réisoler les 2 *Ophiostoma* à partir de la réaction, un an après l'inoculation.

Ces remarques conduisent à penser que si les 2 champignons peuvent jouer un rôle dans les relations pin sylvestre-scolytides, ils interviennent peut-être plus au niveau des mécanismes d'installation de la population d'insectes, en épuisant l'arbre par exemple, qu'en provoquant la mort de celui-ci.

De même que pour *I. sexdentatus*, un certain nombre de champignons isolés des relevés concernant *T. piniperda* n'apparaissent qu'occasionnellement et à une fréquence très faible. C'est le cas pour *Sporothrix*, *Acremonium*, *Aureobasidium* et le champignon A, qui correspondent donc très probablement à des associations fortuites. Les autres espèces, *H. dematioides*, *O. minus* et *L. wingfieldii*, sont plus fréquemment représentées et ont toutes trois été isolées à partir des réactions aux inoculations de «jus» de lavage de *T. piniperda*.

H. dematioides est l'espèce la plus fréquemment rencontrée. Elle a cependant été isolée très souvent, dans nos relevés, à partir des prélèvements témoins effectués dans des pousses non attaquées, et Lanier *et al.* (1978) la répertorient comme fréquemment associée aux aiguilles, aux branches et aux cônes de pins et d'épicéa. Les variations de sa fréquence au cours des cycles annuels indiquent d'ailleurs une contamination des insectes lors de leur passage dans les pousses; la diminution ultérieure de la fréquence tend à prouver qu'une décontamination progressive interviendrait ensuite, jusqu'à une présence minimale au moment de l'essaimage ou de l'attaque des arbres. Il semble difficile, dans ces

conditions, de considérer que le champignon puisse jouer un rôle important dans les relations pin sylvestre-*T. piniperda* et dans les mécanismes d'installation de ce dernier sur son hôte. Son agressivité est d'ailleurs très faible, les réactions qu'il induit n'étant que peu différentes de celles produites par les inoculations témoins. *H. dematioides* semble cependant bien supporter la résine puisqu'il est toujours présent au sein de la réaction plus d'un an après l'inoculation.

O. minus a déjà été signalé comme présent dans les galeries de *T. piniperda*, mais aussi dans celles de nombreuses autres espèces de scolytides européens, telles *Tomicus minor*, *I. acuminatus*, *O. proximus* (Mathiesen, 1950; Rennerfeld, 1950; Mathiesen-Kaarik, 1953). Il est aussi associé à divers *Dendroctonus* nord-américains (Upadhyay, 1981). Toutefois, et malgré sa fréquence parfois élevée, ainsi que sa liaison évidente avec le bleuissement de l'aubier des arbres-pièges attaqués par *T. piniperda*, sa grande irrégularité selon les localités et son absence souvent totale dans d'autres relevés nous font considérer que son association avec cet insecte est probablement fortuite. Nous rejoignons ainsi, pour ce champignon, les conclusions des auteurs précédents concernant *T. piniperda* (Mathiesen, 1950; Rennerfeld, 1950; Mathiesen-Kaarik, 1953). Des études parallèles menées en forêt d'Orléans ont d'ailleurs montré que *O. minus* pouvait être présent sur des arbres dépérissants, sans trace d'attaques de Scolytides, *T. piniperda* pouvant intervenir comme agent disséminateur occasionnel, mais pas nécessairement comme responsable de l'inoculation aux arbres vivants (Piou et Lieutier, 1988). Ce champignon possède toutefois une grande agressivité pour le pin sylvestre, étant capable à la fois de provoquer une réaction violente et de pouvoir s'étendre de façon importante malgré

celle-ci. Sa tolérance à la résine paraît élevée. S'il est peu probable que *O. minus* joue un rôle dans les mécanismes d'installation de *T. piniperda* sur le pin sylvestre, ce champignon représente néanmoins un grand danger pour cet arbre. Il pourrait peut-être, à ce titre, jouer un rôle dans la mort des pins attaqués par le scolytite, dans les cas où il se serait trouvé (occasionnellement) associé à l'insecte.

À l'exception de l'année 1984, *L. wingfieldii* est présent à tous les stades d'évolution des adultes de *T. piniperda*. Sa fréquence est faible mais régulière et les fluctuations qu'elle subit sont comparables chaque année quant à leurs modalités. L'existence d'un taux maximum de présence chez les jeunes émergents indique une contamination peu après la mue imaginaire, suivie d'une lente décontamination jusqu'à la sortie de l'hivernation, les adultes essaimants et attaquants assurant ensuite la transmission à leur descendance. Ces résultats, ainsi que les faibles variations selon les localités, pour une année et un stade donnés, suggèrent que l'association *T. piniperda*-*L. wingfieldii* n'est peut-être pas fortuite. Il semble exister néanmoins des fluctuations interannuelles du niveau des contaminations. Ainsi, après un niveau insignifiant de contamination en 1984, suivi d'une augmentation importante en 1985 et 1986, il semble que l'on assiste, en 1987, à une nouvelle baisse des taux de contamination. Il n'est pas possible d'expliquer ces fluctuations avec les résultats de la présente étude. Nous signalerons simplement que des comptages de pousses attaquées par *T. piniperda* et tombées au sol, effectués en 1986 et 1987 sur l'ensemble du peuplement de pins sylvestres du massif de Lorris, mettent en évidence des populations de ce scolytite nettement plus élevées la première année que la deuxième (Lieutier et Sauvard, résultats non publiés). Il s'agit peut-être là d'une voie de

recherche intéressante, qui mériterait d'être abordée s'il se confirmait que l'association de *L. wingfieldii* et de *T. piniperda* n'est pas fortuite.

L'agressivité de *L. wingfieldii* envers le pin sylvestre apparaît très élevée, et même supérieure à celle de *O. minus*, si l'on en juge par l'importance de la réaction induite. La croissance de cette espèce dans la réaction de défense est inférieure à celle de *O. minus*, en valeur relative, mais elle lui est identique en valeur absolue. Cette forte agressivité pour l'arbre est complétée par une forte compétitivité vis-à-vis des autres champignons transportés par *T. piniperda* et par une bonne tolérance à la résine.

Pour savoir cependant si *L. wingfieldii* risque de jouer un rôle dans les relations pin sylvestre-*T. piniperda*, il reste à déterminer si, au niveau de la population, le faible taux de contamination des insectes attaquants peut être compensé par la forte agressivité du champignon.

Il semble donc qu'il soit possible, pour chacun des deux ravageurs étudiés, de reconnaître des espèces de champignons à potentialités phytopathogènes et ayant une certaine probabilité de jouer un rôle dans les relations pin sylvestre-scolytides, en particulier dans les mécanismes d'installation de ces insectes sur leur hôte. Chez *I. sexdentatus*, *O. brunneo-ciliatum*, et *O. ips* semblent les mieux placés; leurs caractéristiques sont identiques, mais *O. brunneo-ciliatum* est beaucoup plus spécifique. Chez *T. piniperda*, c'est *L. wingfieldii* qui semble pouvoir jouer un tel rôle.

L. wingfieldii montre une agressivité envers le pin sylvestre et une tolérance à la résine nettement supérieures à celles des *Ophiostoma* d'*I. sexdentatus*, mais le taux de contamination de *T. piniperda* est nettement inférieur à celui d'*I. sexdentatus*. En outre, il existe des variations saisonnières importantes de l'agressivité.

Pour tous les champignons que nous avons étudiés, cette agressivité est beaucoup plus faible en mars, à l'époque de l'envol et des attaques de *T. piniperda*, qu'en mai et en août, époque d'envol et d'attaque des deux générations d'*I. sexdentatus*.

Il apparaît donc que nous avons sans doute affaire à deux systèmes assez différents de fonctionnement des relations pin sylvestre-scolytides-champignons. L'étude en parallèle de ces deux systèmes, en tenant compte des caractéristiques biologiques propres à chacun des deux scolytides (*cf.* introduction), apportera très certainement des enseignements utiles à la compréhension du fonctionnement des relations conifères-scolytides en général.

Remerciements

Les auteurs expriment leurs plus vifs remerciements à l'Office National des Forêts (Direction Régionale Centre et Centre de Gestion d'Orléans), pour la mise à disposition des parcelles forestières nécessaires à cette étude. Ils remercient également le Conseil Régional de la Région Centre pour sa participation financière sous forme de subventions.

Références

Berryman A.A. (1972) Resistance of conifers to invasion by bark beetle-fungus associations. *Bio Science* 22, 599-601

Berryman A.A. (1969) Responses of *Abies grandis* to attack by *Scolytus ventralis* (Coleoptera : Scolytidae). *Can. Entomol.* 101, 1033-1041

Christiansen E. (1985) *Ceratocystis polonica* inoculated in Norway spruce : blue-staining in relation to inoculum density, resinosis and tree growth. *Eur. J. For. Pathol.* 15, 160-167

Christiansen E. & Horntvedt R. (1983) Combined *Ips/Ceratocystis* attack on Norway spruce,

and defensive mechanisms of the tree. *Z. Angew. Entomol.* 96, 110-118

Croteau R., Burbott A.J. & Loomis W.D. (1972) Apparent energy deficiency in mono- and sesquiterpene biosynthesis in peppermint. *Phytochemistry* 11, 2937-2948

Croteau R. & Loomis W.D. (1975) Biosynthesis and metabolism of monoterpenes. *Int. Flavors Food Addit.* 6, 292-296

Francke-Grosmann H. (1967) Ectosymbiosis in wood - inhabiting insects. In : *Symbiosis*, vol. 2 (S.M. Henry, ed.), Acad. Press, New York, 141-205

Graham R. (1967) Fungal-insect mutualism in trees and timber. *Annu. Rev. Entomol.* 12, 105-126

Horntvedt R., Christiansen E., Solheim H. & Wang S.G. (1983) Artificial inoculation with *Ips typographus* associated blue-stain fungi can kill healthy Norway spruce trees. *Medd. Nor. Skogsforsocksves.* 38, 1-20

Lanier L., Joly P., Bondoux P. & Bellemere A. (1978) *Mycologie et pathologie forestière. I - Mycologie forestière*. Masson, Paris, 487 pp.

Lieutier F. & Berryman A.A. (1988) Preliminary histological observations of the defense reactions of three pine species to *Ceratocystis clavigera* and two chemical elicitors. *Can. J. For. Res.* 18, 1243-1247.

Lorio P.L. & Hodges J.D. (1985) Theories of interactions among bark beetles, associated microorganisms, and host trees. Proc. 3rd biennial South. Silvicult. Res. Conf., Atlanta, GA, November 7-8, 1984, Gen. Tech. Rep. S0-54, S.F.E.S., New Orleans, 485-492

Mathiesen A. (1950) Über einige mit Borkenkäfer assoziierte Bläuepilze in Schweden. *Oikos* 2, 275-308

Mathiesen-Kaarik A. (1953) Eine Übersicht über die Gewöhlichten mit Borkenkäfern assoziierten Bläuepilze in Schweden und einige für Schweden neue Bläuepilze. *Medd. Stat. Skogsforsocksves.* 43, 1-74

Morelet M. (1988) Observations sur trois Déutéromycètes inféodés aux pins. *Ann. Soc. Sci. nat. Archéol. Toulon*, 40, 41-45.

Raffa K.F. & Berryman A.A. (1983) The role of host resistance in the colonization behavior and ecology of bark beetles (Coleoptera : Scolytidae). *Ecol. Monogr.* 53, 27-49

Piou D. & Lieutier F. (1988) Observations symptomatologiques et rôles possibles d'*Ophiostoma minus* Hedgc. (Ascomycete : Ophiostoma-

- tales) et de *Tomicus piniperda* L. (Coleoptera : Scolytidae) dans le dépérissement du pin sylvestre en forêt d'Orléans. *Ann. Sci. For.* 46, 39-53.
- Reid R.W., Whitney M.S. & Watson J.A. (1967) Reactions of lodgepole pine to attack by *Dendroctonus ponderosae* Hopkins and blue stain fungi. *Can. J. Bot.* 45, 1115-1126
- Rennerfeld E. (1950) Über den Zusammenhang zwischen dem Verblauen des Holzes und den Insekten. *Oikos* 2, 120-137
- Safranyk L., Shrimpton D.M. & Whitney H.S. (1975) An interpretation of the interaction between lodgepole pine, the mountain pine beetle, and its associated blue stain fungi in western Canada. In : *Management of Lodgepole Pine ecosystems* (D.M. Baumgartner ed.) Pullman, Wash. State Univ. Coop. Ext. Serv. 406-428
- Siemaszko W. (1939) Fungi associated with bark beetles in Poland. *Planta Polonica* 7, 1-54
- Upadhyay H.P. (1981) *A monograph of Ceratocystis and Ceratocystiopsis*. The University of Georgia Press, Athens, 176 pp.
- Waring R.H., Thies W.G. & Muscato D. (1980) Stem growth per unit of leaf area : a measure of tree vigor. *Forest Sci.* 26, 112-117
- Whitney H.S. (1982) Relationships between bark beetles and symbiotic organisms. In *Bark beetles in North American conifers* (Milton, J.B., Sturgeon, K.B. ed.) University of Texas Press, Austin, 183-211
- Wright E. (1933) A cork-borer method for inoculating trees. *Phytopathology* 23, 487-488
- Wright L.O., Berryman A.A. & Gurusiddaiah S. (1979) Host resistance to the fir engraver beetle, *Scolytus ventralis* (Coleoptera : Scolytidae). 4 - Effect of defoliation on wound monoterpenes and inner bark carbohydrate concentrations. *Can. Entomol.* 111, 1255-1262