

# Variabilité écophysiological et enzymatique de *Cydia pomonella* L en fonction de l'origine géographique et de la plante hôte

R Buès\*, JF Toubon, HS Poitout

INRA, station de zoologie, domaine Saint-Paul, site Agroparc, F-84914 Avignon cedex 9, France

(Reçu le 20 octobre 1994 ; accepté le 24 mai 1995)

**Résumé** — Plusieurs caractères écophysiological et enzymatiques ont été étudiés chez des populations de *Cydia pomonella*, prélevées dans des localités géographiquement éloignées et sur des plantes hôtes différentes (pommier, poirier, cognassier, noyer, abricotier). Des seuils photopériodiques d'induction de la diapause et thermiques de réactivation post-diapause différents sont observés entre localités mais non entre plantes hôtes. L'analyse enzymatique de 7 loci polymorphes ne fait apparaître qu'une faible différenciation génétique, aussi bien entre les échantillons issus de localités différentes ( $F_{st} = 0,0294$ ) qu'entre ceux prélevés sur les diverses plantes hôtes dans une même localité ( $F_{st} = 0,0385$ ). On observe cependant, entre localités, des différences significatives de fréquences alléliques. L'hypothèse est avancée de populations locales, essentiellement inféodées au pommier, dont une partie émigre, plus ou moins régulièrement, vers des hôtes plus occasionnels, en fonction de coïncidences spatio-temporelles. Toutefois, cette dispersion des adultes ne peut constituer un «effet fondateur» que temporaire, car l'arrêt de développement hivernal et le décalage des stades phénologiques sensibles des plantes hôtes concourent au brassage régulier des sous-populations.

**diapause / électrophorèse / variabilité géographique / plante hôte / flux génique**

**Summary** — **Ecophysiological and enzymatic variability of *Cydia pomonella* L according to geographical origin and host plant.** Simultaneous ecophysiological and enzymatic investigations were performed on *Cydia pomonella* populations from distant areas and from various host plants (apple, pear, quince, walnut and apricot). Different photoperiodic thresholds for diapause induction and temperature thresholds for post-diapause reactivation were observed according to areas but not host plants. The enzymatic analysis of 7 polymorphic loci exhibits only a weak genetic differentiation between populations from different localities ( $F_{st} = 0.0294$ ) and different host plants ( $F_{st} = 0.0385$ ). However, significant differences of allelic frequencies were noted. We put forward the hypothesis of local populations, mostly apple pests, some of which emigrate to occasional hosts, according to spatio-temporal synchronisms. Nonetheless, this dispersion does not constitute a 'foundation effect', since arrested winter development and the non-coincidence of the sensitive phenological stages of host-plants lead to a regular mixing of subpopulations.

**diapause / electrophoresis / geographic variability / host plant / gene flow**

\* Correspondance et tirés à part

## INTRODUCTION

Dans toute son aire de répartition géographique, le carpocapse des pommes (*Cydia pomonella* L) peut être observé sur différentes plantes hôtes (Bovey, 1966). L'influence de l'alimentation sur le développement, l'induction et l'intensité de la diapause, et en conséquence sur le voltinisme de l'espèce, a été montrée par Phillips et Barnes (1975). D'autres travaux font état du rôle de la température et de la photopériode sur la synchronisation du cycle évolutif de l'espèce avec les conditions du milieu (Shel'Deshova, 1967 ; Rield et Croft, 1978). On peut donc formuler l'hypothèse que, sous l'action conjointe d'un décalage des stades réceptifs de différentes plantes hôtes aux attaques et d'une pression de sélection exercée notamment par les conditions abiotiques du milieu, des populations puissent se différencier génétiquement, plus ou moins selon l'importance des flux géniques. Une première comparaison du polymorphisme enzymatique chez plusieurs populations géographiquement éloignées de *C pomonella*, prélevées uniquement sur pommier (Buès et Toubon, 1992), fait cependant apparaître une faible hétérogénéité génétique. Dans cette étude, nous poursuivons la comparaison, sur des critères écophysiologiques (seuils photo-

périodiques d'induction de la diapause et thermiques de réactivation du développement post-diapause), de plusieurs échantillons de ces populations d'origines géographiques différentes. Parallèlement, nous analysons le polymorphisme enzymatique d'échantillons prélevés sur différentes plantes hôtes, dans différentes localités. Les résultats conduisent à une meilleure compréhension de la structure génétique des populations et des flux géniques qui existent entre elles.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### Échantillonnages

Pour les 2 types d'études, les populations ont été prélevées soit dans les fruits, soit dans des bandes pièges disposées sur le tronc des arbres fruitiers. Les expérimentations d'écophysiologie ont eu lieu en 1<sup>re</sup> génération d'élevage et les analyses enzymatiques sur les populations naturelles. Les localités, les hôtes et les dates de récoltes sont indiquées dans le tableau I. Pour l'analyse enzymatique, seuls les échantillons 1 à 12, provenant de différentes localités et plantes hôtes, ont été analysés. Les échantillons 13 à 19 n'ont été utilisés que pour les études d'écophysiologie (les résultats de leur analyse enzymatique sont indiqués

**Tableau I.** Origine géographique (localités, départements ou pays), plante hôte et année d'émergence des différents échantillons de populations.

N°	Origine	Plante hôte	Année
1	Avignon (Vaucluse)	Poirier	1991
2	Avignon (Vaucluse)	Poirier	1990
3	Avignon (Vaucluse)	Cognassier	1991
4	Avignon (Vaucluse)	Pommier	1991
5	Manosque (Basses-Alpes)	Pommier	1989
6	Manosque (Basses-Alpes)	Noyer	1989
7	Valence (Drôme)	Pommier	1989
8	Valence (Drôme)	Noyer	1989
9	Nyon (Suisse)	Pommier	1990
10	Saillon (Suisse)	Abricotier	1992
11	Saint-Marcellin (Isère)	Poirier	1991
12	Saint-Marcellin (Isère)	Noyer	1991
13	Saint-Colomban (Savoie)	Pommier	1991
14	Les Avanchers (Savoie)	Pommier	1992
15	Rennes (Ille-et-Vilaine)	Pommier	1990
16	Chambéry (Savoie)	Pommier	1990
17	Lille (Nord)	Pommier	1990
18	Montauban (Tarn-et-Garonne)	Pommier	1990
19	Strasbourg (Bas-Rhin)	Pommier	1990

Distances entre plantes hôtes échantillonnées dans une même localité : plantes contiguës à Avignon et Saint-Marcellin, distantes de 0,5 km à Manosque, de 10 km à Valence. Les localités de Nyon et Saillon sont séparées par 200 km.

par ailleurs (Buès et Toubon, 1992)). Les échantillons 13 et 14 (Saint-Colomban et Les Avanchers), ont été prélevés dans des vallées alpines entre 1 400 et 1 600 m d'altitude.

## Élevages

Afin de comparer au printemps les dates d'émergence des adultes issus de larves diapausantes récoltées dans différentes localités, les lots sont disposés, dès leur prélèvement à l'automne (septembre–octobre), sous abri insectarium à Avignon où ils sont soumis à des conditions voisines des conditions naturelles. Les localités et les dates de récolte sont indiquées dans les tableaux résumant les résultats. Les émergences ont été regroupées par classes de 5 j.

Pour comparer les pourcentages de diapause entre échantillons de localités différentes, les adultes éclos dans l'abri insectarium sont accouplés et alimentés avec de l'eau sucrée à 20%. Malgré différentes techniques de conditionnement, les taux de femelles fertiles demeurent très faibles (voisins de 10%). Nous n'avons donc pas toujours disposé d'un nombre de descendants suffisants pour tous les échantillons et conditions expérimentales.

## Caractères écophysiologiques

Pour l'étude du seuil photopériodique d'induction de la diapause, la totalité des larves obtenues de chaque localité est répartie dans 3 conditions : LO (L : phase lumineuse, O : phase obscure) 15:9, 15,5:8,5, 16:8. L'élevage individuel a été réalisé à 25°C sur alimentation artificielle (Poitout et Buès, 1974). Les pourcentages de larves en diapause sont déterminés à partir du nombre de larves diapausantes observé 50 j après la mise en élevage.

Pour l'étude du seuil thermique de réactivation, 60 j après la mise en élevage à 25°C, LO 15:9, les lots d'insectes en diapause sont transférés à 2°C, LO 12:12, pendant 100 j. Par la suite, chaque lot d'une localité donnée a été divisé en 3 et exposé à 18, 21 et 25°C, LO 16:8. Le pourcentage d'émergence est calculé 90 j après l'exposition des lots aux 3 conditions. Les courbes d'émergences s'éloignant sensiblement de la normale pour certaines localités avec un faible effectif, les comparaisons ont été réalisées à l'aide d'un test non paramétrique (Kruskal-Wallis) (Scherrer, 1984).

## Analyse enzymatique

Les analyses ont été effectuées sur les adultes, sur gel d'amidon pour 11 des 12 loci étudiés : Phosphoglucomutase (Pgm), Mannose-phosphate-isomérase (Mpi), Aspartate-amino-transférase (Aat+, Aat-), Isocitrate-deshydrogénase (Idh), Adénylate-

kinase (Ak), Hexokinase (Hk), enzyme malique (Me), Malate-deshydrogénase (Mdh),  $\alpha$ -glycérophosphate-deshydrogénase ( $\alpha$ Gpd), Lactate-deshydrogénase (Ldh). Les procédures sont identiques à celles décrites précédemment (Buès et Toubon, 1992). Le zymogramme des estérases (Est) est réalisé sur gel d'acrylamide en plaque à 10% (T 24,6%, C 2,4%) et révélé avec du  $\alpha$  Naphthyl acétate. Un locus avec 8 allèles est nettement analysable, il est inhibé par un organophosphate (Mévinphos à 1‰) et non inhibé par un carbamate (Esérine à 1‰).

Les fréquences alléliques aux loci polymorphes ont été comparées par le test G (Sokal et Rohlf, 1981). Pour cette analyse, les allèles rares sont regroupés avec l'allèle de mobilité la plus proche. Le test de conformité des structures génotypiques avec celles données par la loi de Hardy Weinberg, les distances génétiques (Nei, 1978) et l'algorithme UPGMA, sont calculés à l'aide de Biosys 1 (Swofford et Selander, 1981). Les statistiques F, leur écart type (méthode du Jackknife), et leur intervalle de confiance au seuil 5% (méthode du Bootstrap) ont été calculés à l'aide du programme Diploid (Weir, 1990). Dans ce modèle, la population totale est subdivisée en sous-populations, considérées comme partiellement isolées. L'éloignement génétique entre les sous-populations a été représenté à l'aide d'une analyse factorielle des correspondances.

Les flux géniques entre sous-populations, dans un modèle fragmenté en îlots, peuvent être estimés à l'aide du paramètre  $Nm$ , où ( $N$ ) représente l'effectif de la population et ( $m$ ) le taux d'immigrants.  $Nm$  a été calculé d'après l'équation  $\ln(p) = a \ln(Nm) + b$  (Slatkin, 1985), où ( $p$ ) est la fréquence moyenne des allèles privés (présents dans une seule des sous-populations),  $a$  et  $b$  des coefficients. Slatkin a montré que pour ( $p$ ) compris entre 0,01 et 1, les valeurs  $a = 0,504$  et  $b = -2,44$  donnaient une estimation satisfaisante de  $Nm$ . Cet indice est corrigé en fonction de l'effectif moyen ( $n$ ) analysé dans chaque sous-populations ( $Nm' = 25 Nm/n$ ). Une autre estimation des flux géniques a été effectuée suivant la méthode de Wright (1951), basée sur la relation inverse entre  $Nm$  et  $Fst$ , où  $Nm = \{1/Fst - 1\}/4$ .

## RÉSULTATS

### Élevages sous abri insectarium

L'échelonnement des dates d'émergence au printemps, ainsi que la date à laquelle 50% des émergences ont eu lieu, sont indiqués dans le tableau II. Elles varient en fonction des années, indépendamment de l'origine géographique ou de la plante hôte, en liaison avec les températures moyennes. En revanche, pour une année donnée, les dates d'émergences sont sensiblement identiques, aussi bien entre origines géo-

**Tableau II.** Dates d'émergence au printemps, de 50% des adultes issus de larves diapausantes de différentes origines, récoltées à l'automne sur pommier, noyer, poirier, abricotier et cognassier et placées sous abri insectarium à Avignon.

<i>Origine</i>	<i>Plante hôte</i>	<i>N</i>	<i>Date d'émergence</i> <sup>a</sup>
<b>1989</b>			
Manosque	Pommier	209	13/06 (6/5–30/6)
Valence	Pommier	158	13/06 (21/5–30/6)
Valence	Noyer	367	13/06 (16/5–5/7)
<b>1990</b>			
Rennes	Pommier	1996	23/05 (6/5–30/6)
Chambéry	Pommier	261	23/05 (6/5–20/6)
Nyon	Pommier	316	23/05 (6/5–20/6)
Lille	Pommier	256	23/05 (6/5–15/6)
Strasbourg	Pommier	145	28/05 (6/5–25/6)
Montauban	Pommier	366	28/05 (1/5–30/6)
Manosque	Pommier	136	10/05 (1/5–10/6)
Avignon	Pommier	562	18/05 (6/5–5/7)
<b>1991</b>			
Avignon	Pommier	1294	8/06 (6/5–10/7)
Avignon	Cognassier	180	3/06 (11/5–10/7)
Saint-Colomban	Pommier	37	8/06 (26/5–20/6)
Valence	Pommier	245	13/06 (11/5–10/7)
Valence	Noyer	998	13/06 (6/5–10/7)
Saint-Marcellin	Noyer	461	18/06 (21/5–10/7)
<b>1992</b>			
Avignon	Pommier	134	13/05 (1/5–15/6)
Les Avanchers	Pommier	33	13/05 (1/5–5/6)
Avignon	Poirier	31	13/05 (6/5–31/5)
Saillon	Abricotier	49	8/05 (1/5–5/6)

<sup>a</sup> Entre parenthèses : dates de la première et de la dernière émergence.

graphiques qu'entre cultures hôtes, excepté en 1991 entre Avignon pommier et Saint-Marcellin noyer. Les émergences de l'échantillon de Saint-Colomban pommier sont relativement précoces (7/06), mais ne concernent qu'un faible nombre d'individus par rapport aux autres lots. L'échantillon de la population des Avanchers, prélevé en 1992 dans des conditions environnementales voisines de celles de Saint-Colomban, n'est pas différent des autres.

### **Élevages en conditions constantes**

Les pourcentages de larves en diapause, observés sous LO 15:9 et 15,5:8,5 (tableau III), varient très faiblement quels que soient la localité ou l'hôte : 98,8 à 100% sous LO 15:9 et 83,8 à 100% sous LO 15,5:8,5. Une exception concerne la

population de Montauban sous LO 15,5:8,5 (43,3%) mais cette différence n'a pas pu être vérifiée dans les autres conditions. Sous LO 16:8, les écarts sont plus importants : de 24,4% pour la population de Manosque à 78,7% pour celle de Rennes. Pour la population d'Avignon, la différence entre pommier et poirier n'est pas significative statistiquement (test basé sur l'écart réduit). En revanche, les différences entre les échantillons récoltés, soit sur noyer à Valence et Saint-Marcellin (localités géographiquement peu éloignées), soit sur pommier à Rennes et Chambéry, sont significatives. Des élevages, conduits de la même façon sous LO 17:7, permettent de confirmer un taux de diapause plus faible dans la population de Manosque (4,1%) que dans celles d'Avignon, Chambéry et Rennes (14 à 15%).

Les durées moyennes de réactivation des larves diapausantes à 18, 21 et 25°C, LO 16:8,

**Tableau III.** Pourcentages de diapause induite à 25°C (LO 15:9, 15,5:8,5 et 16:8) chez des lots d'insectes d'origines différentes.

Origine		Pourcentages de diapause sous LO					
		15:9		15,5:8,5		16:8	
Valence	(noyer)	100	(332)*	98,0	(301)	48,7	(119)
Saint-Marcellin	(noyer)	100	(76)	94,1	(102)	29,3	(58)
Avignon	(poirier)	100	(81)	89,5	(86)	34,7	(98)
Avignon	(pommier)	99,5	(380)	89,6	(624)	30,9	(376)
Manosque	(pommier)	98,8	(84)	88,4	(112)	24,4	(90)
Rennes	(pommier)	100	(55)	96,6	(58)	78,7	(61)
Chambéry	(pommier)	100	(65)	83,8	(68)	62,5	(80)
Montauban	(pommier)	/		43,3	(30)	/	
Nyon	(pommier)	/		100	(73)	/	
Lille	(pommier)	100	(13)	100	(48)	/	

\* Entre parenthèses, le nombre d'individus émergés ou à l'état larvaire, 50 j après la mise en élevage.

sont indiquées dans le tableau IV. Les résultats du test de Kruskal-Wallis, réalisé pour chacune des conditions, montre une hétérogénéité significative entre les origines et les plantes hôtes (à 25°C,  $H = 17,876$  ; à 21°C,  $H = 55,427$  ; à 18°C,  $H = 41,042$  ;  $ddl = 7$ ). Toutefois, les tests de comparaisons multiples, réalisés à partir des sommes de rangs pour les 3 conditions, ne permettent pas de différencier les moyennes au seuil 5% et l'on ne peut que conclure à une hétérogénéité globale entre les localités et les plantes hôtes.

### Analyse enzymatique

Le tableau V donne les fréquences alléliques de 12 échantillons de populations. Sept loci sur 12 sont polymorphes (fréquence du 2<sup>e</sup> allèle > 1%) : *Pgm*, *Mpi*, *Idh*, *Aat +*, *Aat -*, *Ak* et *Est*. L'hétérozygotie moyenne observée varie entre 0,178 (Avignon, poirier) et 0,292 (Avignon, pommier). Sur 84 analyses de conformité des fréquences génotypiques observées avec celles de Hardy Weinberg, 3 fournissent des différences significatives au seuil 1% au locus *Aat+*, une au seuil 1% au locus *Ak* et deux au seuil 5% aux loci *Pgm* et *Est*. Les valeurs des *Fis* et des *Fit*, qui mesurent respectivement le déséquilibre des fréquences génotypiques dans les sous-populations et dans la population totale, sont indiquées pour chaque locus dans le tableau VI. Les *Fis* confirment le déficit d'hétérozygotes (génotype bc) au locus *Aat+*, dans les sous-populations de Manosque sur pommier et noyer. Il est remar-

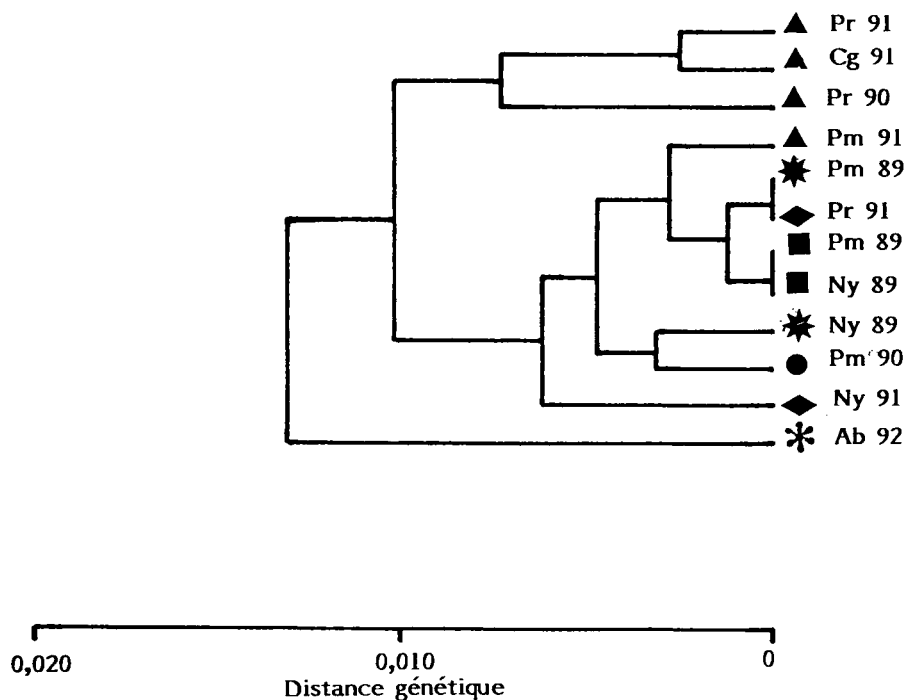
quable que l'allèle c des loci *Aat+* et *Aat-*, ne soit présent que dans les populations de Manosque et Valence, indépendamment de la plante hôte.

Le tableau VI indique également pour chaque locus les valeurs de *Fst*, qui mesure le degré de différenciation génétique entre les sous-populations. *Fst* varie de 0,000 5 à 0,059 2 selon les locus avec une moyenne de 0,0281. Il présente un écart type de 0,008 5 et un intervalle de confiance à 95% de 0,017 7 à 0,049 9. Le *Fst* calculé entre les échantillons de 4 sous-populations géographiquement éloignées (Avignon, Valence, Manosque et Nyon), récoltés sur pommier exclusivement, est de 0,029 4 (avec un écart type important, 0,022 7, dû au seul locus *Ak*). Le même calcul effectué entre 4 échantillons prélevés à Avignon (pommier, 1991 ; poirier, 1990 et 1991 ; cognassier, 1991) indique un *Fst* de 0,038 5 (écart type : 0,014 1). La différence entre les 2 *Fst* est significative au seuil 1% (test U de Mann-Whitney-Wilcoxon, réalisé sur les 7 loci polymorphes). Les valeurs des distances génétiques non biaisées (Nei, 1978), de 0 à 0,018, portées sur le phénogramme (fig 1), indiquent une faible divergence entre populations. Seule la population de Saillon, sur abricotier, se différencie faiblement des autres. Les moyennes des distances génétiques calculées entre d'une part, les 4 échantillons récoltés sur pommier dans des localités différentes (0,004 7), et d'autre part, les 4 échantillons prélevés à Avignon sur différentes plantes hôtes (0,008 2), confirment les résultats obtenus avec le *Fst*. L'AFC (fig 2) montre que les échantillons de Manosque et

**Tableau IV.** Durées moyennes de réactivation en jours ( $\pm$  écart type) à 18, 21 et 25°C (LO 16:8), de lots de larves diapauses d'origines géographiques différentes, obtenus à 25°C (LO 15:9) et préalablement exposés à 2°C (LO 12:12) pendant 100 j.

Origine	Durée de développement à		
	18°	21°	25°
Avignon (pommier)	47,3 $\pm$ 13,1 (47)	36,4 $\pm$ 6,7 (76)	31,6 $\pm$ 7,0 (74)*
Avignon (poirier)	54,5 $\pm$ 12,5 (45)	43,1 $\pm$ 11,8 (47)	30,9 $\pm$ 5,9 (38)
Valence (noyer)	46,7 $\pm$ 11,8 (88)	36,0 $\pm$ 9,5 (78)	29,7 $\pm$ 6,9 (73)
Saint-Marcellin (noyer)	46,2 $\pm$ 8,8 (23)	32,7 $\pm$ 6,9 (26)	28,8 $\pm$ 6,9 (36)
Rennes (pommier)	54,3 $\pm$ 14,7 (18)	43,4 $\pm$ 15,6 (15)	34,2 $\pm$ 13,7 (11)
Chambéry (pommier)	52,1 $\pm$ 11,4 (18)	46,6 $\pm$ 17,9 (26)	36,1 $\pm$ 14,1 (28)
Nyon (pommier)	65,9 $\pm$ 13,7 (16)	45,1 $\pm$ 15,2 (17)	36,9 $\pm$ 12,4 (16)
Manosque (pommier)	48,5 $\pm$ 8,8 (24)	35,3 $\pm$ 8,8 (21)	33,9 $\pm$ 13,4 (21)

Entre parenthèses le nombre d'adultes éclos plus le nombre de larves encore en diapause, 90 j après l'exposition à 18, 21, 25°C (LO 16:8). Les résultats du test de Kruskal-Wallis sont indiqués dans le texte.



**Fig 1.** Phénogramme UPGMA regroupant 12 échantillons, établi à partir des distances génétiques de Nei calculées sur 7 loci polymorphes (▲ : Avignon, \* : Manosque, ■ : Valence, ● : Nyon, \* saillant : Saillon, ◆ : Saint-Marcellin ; Pr : poirier, Pm : pommier, Cg : cognassier, Ny : noyer, Ab : abricotier, l'indication de la localité et de la plante hôte est suivie de l'année de prélèvement).

**Tableau V.** Fréquences alléliques à 7 loci examinés chez les échantillons 1 à 12 (cf tableau I). Nombre d'hétérozygotes observés (obs) et attendus (att), signification au seuil de \* 5%, \*\* 1%, \*\*\* 1‰ (test de probabilités exactes), hétérozygotie moyenne observée et attendue.

Locus	N° de l'échantillon (cf tableau I)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>Pgm</b>												
n	48	83	48	48	308	119	102	144	95	51	48	24
a	0,115	0,072	0,177	0,094	0,149	0,071	0,108	0,097	0,074	0,049	0,135	0,165
b	0,635	0,428	0,531	0,531	0,432	0,647	0,500	0,514	0,605	0,725	0,428	0,438
c	0,240	0,446	0,177	0,344	0,330	0,252	0,353	0,351	0,247	0,157	0,375	0,333
d	0,010	0,054	0,115	0,031	0,089	0,030	0,039	0,038	0,074	0,069	0,032	0,064
obs	31	42	33	32	200	56	64	82	50	24	28	19
att	25	51*	31	29	208	61	63	87	54	23	31	16
<b>Ak</b>												
n	48	83	48	48	260	144	150	144	96	51	48	23
a	0,010	0,012	0,000	0,010	0,080	0,003	0,020	0,014	0,016	0,059	0,063	0,000
b	0,886	0,880	0,906	0,636	0,702	0,695	0,727	0,757	0,828	0,804	0,697	0,826
c	0,104	0,108	0,094	0,354	0,212	0,302	0,243	0,215	0,156	0,137	0,240	0,174
d	0,000	0,000	0,000	0,000	0,006	0,000	0,010	0,014	0,000	0,000	0,000	0,000
obs	11	20	9	30	109	58	65	55	21	16	25	6
att	10	18	8	23	119	62	62	55	28**	17	22	7
<b>Est</b>												
n	72	67	48	70	107	148	128	149	71	51	61	33
a	0,000	0,000	0,000	0,000	0,005	0,003	0,008	0,013	0,000	0,010	0,000	0,000
b	0,000	0,000	0,042	0,000	0,033	0,051	0,039	0,020	0,014	0,020	0,016	0,015
c	0,666	0,723	0,760	0,572	0,569	0,531	0,538	0,518	0,522	0,451	0,607	0,546
d	0,035	0,022	0,031	0,164	0,103	0,091	0,051	0,067	0,070	0,176	0,098	0,258
e	0,229	0,231	0,125	0,207	0,229	0,297	0,313	0,332	0,331	0,186	0,246	0,136
f	0,056	0,22	0,042	0,043	0,014	0,027	0,051	0,040	0,063	0,147	0,025	0,045
g	0,014	0,000	0,000	0,014	0,047	0,000	0,000	0,010	0,000	0,010	0,008	0,000
obs	37	27	21	41	62	90	66	83	38	27	31	14
att	36	28	19	42	65	92	78*	92	44	36	35	21
<b>Mpi</b>												
n	48	83	48	48	96	96	48	24	94	48	48	24
a	0,063	0,030	0,042	0,052	0,000	0,000	0,011	0,021	0,000	0,010	0,021	0,083
b	0,916	0,952	0,958	0,938	1,000	1,000	0,978	0,979	0,979	0,928	0,969	0,917
c	0,021	0,018	0,000	0,010	0,000	0,000	0,011	0,000	0,021	0,031	0,010	0,000
d	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,031	0,000	0,000
obs	7	8	4	5	/	/	2	1	4	7	3	4
att	8	8	4	6	/	/	2	1	4	7	3	4
<b>Aat+</b>												
n	48	83	48	48	312	144	126	120	95	51	48	24
a	0,010	0,000	0,000	0,000	0,008	0,017	0,008	0,000	0,005	0,000	0,000	0,000
b	0,990	1,000	1,000	1,000	0,965	0,976	0,992	0,983	0,995	1,000	1,000	1,000
c	0,000	0,000	0,000	0,000	0,027	0,007	0,000	0,017	0,000	0,000	0,000	0,000
obs	1	/	/	/	8	3	2	0	1	/	/	/
att	1	/	/	/	21***	7***	2	4***	1	/	/	/
<b>Aat-</b>												
n	48	83	48	48	120	144	78	48	96	51	48	24
a	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,010	0,000	0,000	0,000	0,000
b	1,000	1,000	1,000	1,000	0,992	0,993	0,981	0,990	1,000	1,000	1,000	1,000
c	0,000	0,000	0,000	0,000	0,008	0,007	0,019	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
obs	/	/	/	/	2	2	3	1	/	/	/	/
att	/	/	/	/	2	2	3	1	/	/	/	/
<b>ldh</b>												
n	48	72	48	48	188	144	150	144	95	51	48	24
a	0,000	0,000	0,000	0,000	0,003	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
b	1,000	1,000	0,990	0,969	0,978	0,969	0,987	0,990	0,963	1,000	0,979	0,979
c	0,000	0,000	0,010	0,031	0,019	0,031	0,013	0,010	0,037	0,000	0,021	0,021
obs	/	/	1	3	6	9	4	3	7	/	2	1
att	/	/	1	3	8	9	4	3	7	/	2	1
Hétérozygotie moyenne observée (Ho) et écart type ( $\pm\sigma$ )												
Ho	0,222	0,178	0,202	0,292	0,246	0,226	0,243	0,227	0,201	0,209	0,245	0,241
$\pm\sigma$	0,099	0,079	0,100	0,119	0,110	0,098	0,102	0,100	0,089	0,087	0,104	0,109
Hétérozygotie moyenne attendue (Ht) et écart type ( $\pm\sigma$ )												
Ht	0,203	0,193	0,190	0,265	0,267	0,241	0,251	0,246	0,228	0,234	0,252	0,257
$\pm\sigma$	0,087	0,092	0,094	0,106	0,114	0,102	0,107	0,106	0,101	0,105	0,109	0,110

**Tableau VI.** Valeurs des statistiques F pour chaque locus, calculées sur l'ensemble des prélèvements 1 à 12.

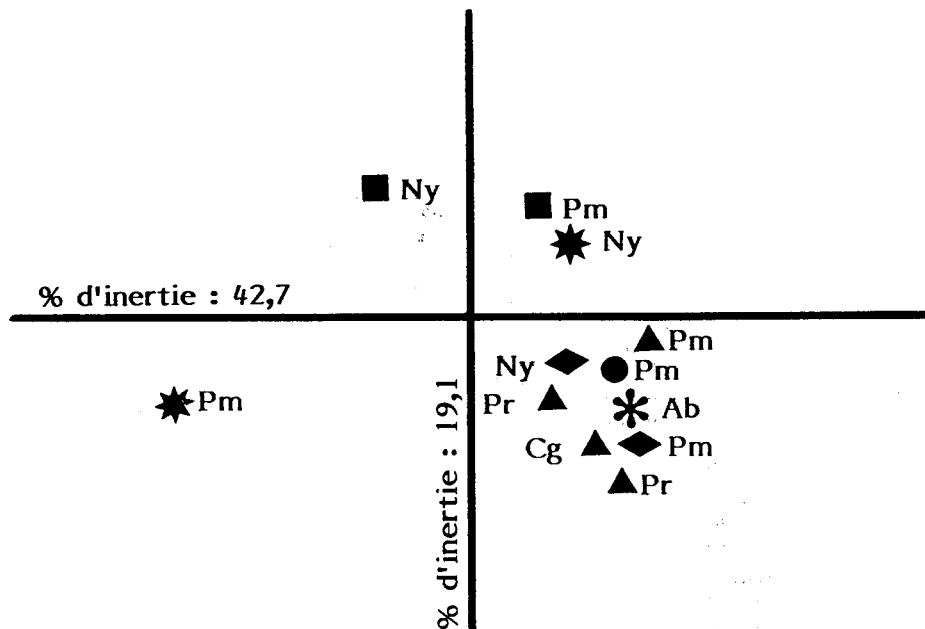
Locus	FIS	FIT	FST
Pgm	0,025 8	0,046 0	0,020 7
Ak	-0,016 8	0,043 4	0,059 2
Est	0,085 8	0,108 8	0,025 2
Mpi	0,264 0	0,274 7	0,014 5
Aat+	0,467 1	0,468 1	0,001 9
Aat-	0,137 8	0,138 3	0,000 5
Idh	0,035 2	0,038 5	0,003 4
MOY	0,052 6	0,079 1	0,028 1
Écart type	0,029 2	0,026 9	0,008 5
Intervalle de confiance (95%)			
+	0,131 6	0,150 7	0,017 7
-	0,010 9	0,048 1	0,049 9

Valence sur pommier et noyer sont assez nettement isolés des autres. Ce résultat est dû à la présence d'allèles à des fréquences relativement élevées, notamment des allèles c des loci *Aat+* et *Aat-*, a et d du locus *Pgm*. Notons que le 1<sup>er</sup> axe absorbe 42,7% et le 2<sup>e</sup> 19,1% de l'inertie totale.

Dans le tableau VII sont présentés les résultats des tests G comparant, à partir des fréquences alléliques aux 6 loci les plus polymorphes (*Pgm*, *Est*, *Ak*, *Aat+*, *Idh*, *Mpi*), les sous-populations récoltées sur des plantes hôtes différentes. Dans la comparaison pommier/noyer chez la sous-population de Manosque, on obser-

ve des différences significatives pour 4 loci (*Pgm*, *Ak*, *Est*, *Aat+*). Des différences hautement significatives sont également observées dans la localité d'Avignon entre échantillons prélevés sur pommier, poirier et cognassier, malgré la position contiguë des cultures hôtes dans la parcelle. On note également dans la même localité et sur la même plante (poirier), une différence significative entre années au locus *Pgm*. En revanche, on n'observe qu'une faible différence entre les prélèvements effectués sur pommier et abricotier en Suisse, malgré notamment la présence au locus *Mpi* d'un allèle supplémentaire d.

Le calcul des flux géniques, entre sous-populations issues de plantes hôtes différentes, dans une même localité au cours d'une même année, suivant la méthode des allèles privés (tableau VII), montre que des échanges d'individus ont lieu dans les localités de Valence entre pommier et noyer ( $Nm' = 13,24$ ) et d'Avignon entre pommier et poirier ( $Nm' = 9,15$ ) et entre poirier et cognassier ( $Nm' = 11,62$ ). L'estimation globale selon la méthode de Wright (1951), pour un *Fst* moyen de 0,029, fait apparaître un indice *Nm* variant en fonction de l'écart type entre 6 et 12. Les valeurs de *Nm*, calculées à partir des *Fst* obtenus entre d'une part les échantillons récoltés sur pommier dans 4 localités éloignées ( $Nm = 8$ ), et d'autre part entre les 4 échantillons prélevés sur diverses plantes hôtes à Avignon ( $Nm = 6$ ), sont très proches. D'après Slatkin (1987), ce nombre représente un flux génique suffisamment important pour homogénéiser significativement les fréquences alléliques.



**Fig 2.** Analyse factorielle des correspondances entre les fréquences de 25 allèles (7 loci polymorphes) et 12 échantillons, prélevés sur des hôtes différents (▲ : Avignon, ★ : Manosque, ■ : Valence, ● : Nyon, \* : Saillon, ◆ : Saint-Marcellin ; Pr : poirier, Pm : pommier, Cg : cognassier, Ny : noyer, Ab : abricotier, pour l'année de prélèvement se reporter au tableau I).



**Tableau VII.** Comparaison des fréquences alléliques aux 6 loci les plus polymorphes, entre échantillons récoltés sur divers hôtes et flux génique (Slatkin, 1985), *Nm'* n'a pas été calculé dans les 2 cas d'observations réalisées au cours d'années différentes.

Localité	Hôtes	Test G						Nm'
		Pgm	Ak	Est	Aat+	Idh	Mpi	
Manosque (1989)	Pom/Noy	38,1***	34,8***	21,8***	6,2*	5,8	/	1,67
Valence (1989)	Pom/Noy	0,2	0,9	13,3*	8,4*	0,1	/	13,24
Suisse (1990/1992)	Pom/Abr	4,8	4,0	13,5*	3,4	6,1*	9,0*	/
Saint-Marcellin (1991)	Moy/Poi	1,1	6,0	10,9	/	/	3,6	3,63
Avignon (1990-1991)	Poi/Poi	16,6***	0,1	4,4	1,9	0,01	1,5	/
Avignon (1991)	Pom/Poi	3,2	17,7***	12,3*	1,4	4,2	0,4	9,15
Avignon (1991)	Pom/Cog	14,5**	21,2***	25,4***	/	1,1	1,5	0,11
Avignon (1991)	Poi/Cog	12,8**	1,4	10,9	1,4	1,4	3,2	11,62

\* Significatif au seuil de \* 5%, \*\* 1%, \*\*\* 1%.

## DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Selon l'origine des échantillons, des différences apparaissent au niveau soit des taux d'induction de la diapause (25°C, LO 16:8), soit des durées de réactivation post-diapause (18 et 21°C, LO 16:8), indépendamment de la plante hôte. En revanche, pour une année donnée, aucune différence réellement significative n'est observée entre les dates moyennes d'émergence, au printemps sous insectarium. Il est probable que, dans les conditions naturelles, l'accroissement rapide des températures au printemps se traduise par un regroupement des émergences, comme cela est observé à 25°C. Bien que nous ne disposions, dans une même zone géographique, que de très peu de comparaisons, aucune différence probante n'est observée entre les seuils photopériodiques d'induction de la diapause ou les vitesses de réactivation post-diapause, en fonction de la plante hôte. L'origine géographique semble seule intervenir. Ce résultat coïncide avec les observations de Sel'Deshova (1967) ou de Rield et Croft (1978). Ces derniers indiquent qu'à une augmentation de 10° de latitude correspond un accroissement de 1,25 h des seuils photopériodiques, ceux-ci variant également, dans une même aire, en fonction des conditions subies avant la diapause. Dans les limites géographiques de cette étude, il ne semble pas exister de réels gradients latitudinaux ni des seuils photopériodiques d'induction ni des seuils thermiques de réactivation, mais plutôt des différences régionales. Par ailleurs, Phillips et

Barnes (1975) indiquent que l'émergence des individus sur prunier s'effectue plus tôt que celle sur noyer et pommier. El Gamil *et al* (1978) et Steinberg *et al* (1992) trouvent également une influence de l'alimentation, respectivement sur la vitesse de développement et l'induction de la diapause. En revanche, Pitcairn *et al* (1992) n'observent des différences significatives qu'entre localités mais pas entre cultures hôtes. Ce dernier résultat corrobore nos propres observations. Cependant, une étude conduite à 25°C, LO 15,5:8,5, sur 15 descendance de couples isolés de la population d'Avignon (individus issus de la génération hivernante), montre une grande variabilité entre descendance (taux de diapause des lignées regroupées : 85,9% avec un maximum et un minimum respectivement de 91,9 et 22,9%). Cette variabilité peut expliquer les conclusions contradictoires auxquelles parviennent les auteurs.

Les résultats de l'analyse enzymatique font apparaître une bonne concordance des fréquences génotypiques avec celles de la loi de Hardy Weinberg, excepté pour le locus *Aat+* dans les localités de Manosque sur noyer et pommier et Valence sur noyer. Dans ces échantillons, on observe un déficit d'hétérozygotes et la présence d'un allèle c. Ce déséquilibre se retrouve dans le calcul des paramètres *Fis* et *Fit*, fortement positifs. La présence d'un allèle supplémentaire dans ces 2 localités s'observe aussi pour le locus *Aat-*, indépendamment de la culture. Ces résultats sont également observables au niveau de l'AFC. Dans une précédente étude

(Buès et Toubon, 1992), l'allèle c des loci *Aat* à migration cathodique ou anodique était également observé dans d'autres localités (Orléans, Rennes, Montauban...) et interprété comme indicateur d'une variabilité géographique. Il en est de même pour l'allèle d du locus *Mpi*, observé dans la sous-population Suisse sur abricotier, qui avait précédemment été noté dans les populations de Rennes et de Saint-Colomban sur pommier (Buès et Toubon, 1992). Des différences significatives de fréquences alléliques sont observées dans la localité de Manosque, entre pommier et noyer au niveau des loci *Pgm*, *Ak* et *Est*. Dans cette localité, les échantillons ont été récoltés sur quelques noyers isolés et sur des pommiers distants d'environ 500 m. Le nombre d'individus analysés est important et la lecture des zymogrammes sans ambiguïté. Il est alors probable que les différences constatées proviennent d'un «effet fondateur» sur les noyers (individus issus de la population sur pommier). Le relativement faible flux génique observé tendrait à confirmer cette hypothèse et à expliquer l'absence sur noyer, notamment de l'allèle d du locus *Ak* et de l'allèle g du locus *Est*. Toutefois, il est improbable que l'isolement de cette fraction de la population se maintienne au-delà de la période estivale. La coïncidence, au printemps, des émergences et le décalage des stades phénologiques sensibles des plantes hôtes conduisent à un brassage au moins annuel des sous-populations.

Des différences significatives sont également observées, à l'aide du test G, entre échantillons récoltés à Avignon en 1991 sur pommier/poirier et pommier/cognassier. La variété de poire échantillonnée (Guyot) est récoltée dès juillet, ce qui limite les attaques à la 1<sup>re</sup> génération et oblige la 2<sup>e</sup> génération à s'installer essentiellement sur pommier et cognassier (ce dernier n'est que faiblement attaqué au cours de la 1<sup>re</sup> génération). Compte tenu de la proximité des parcelles des 3 cultures hôtes et du fait que la diapause hivernale provoque un regroupement des émergences au printemps, on peut considérer, comme à Manosque sur pommier et noyer, que c'est la même population qui est à l'origine des attaques. Le pommier étant l'hôte principal le plus répandu dans la zone géographique considérée, on peut supposer que c'est une fraction de la même population, plus ou moins importante selon les années, qui effectue une génération et rarement 2 consécutives, sur poirier ou cognassier. Phillips et Barnes (1975) ont montré qu'il existait des préférences d'oviposition des adultes, d'ordre génétique, en fonction du conditionnement préimaginal. On pourrait supposer

que ce comportement conduise comme chez *Rhagoletis pomonella* Walsh (Feder *et al*, 1988) à la formation de races, mais ce n'est pas le cas ici. Les distances génétiques entre échantillons, calculées à partir de 7 loci polymorphes varient seulement de 0 à 0,025 avec une moyenne de 0,007 (écart type = 0,005). Les mêmes calculs effectués à partir des mêmes 7 loci sur 12 populations d'origines géographiques différentes, récoltées uniquement sur pommier (Buès et Toubon, 1992) ont donné une moyenne de 0,002 (écart type = 0,002). Cette étude a conduit à un *Fst* de 0,015 0 (écart type = 0,010) contre 0,028 1 (écart type = 0,008 5) d'après les résultats présentés ci-dessus. Pashley (1985) indique un *Fst* de 0,066, calculé à partir de 4 loci, entre populations de cette même espèce d'Afrique, d'Europe, des États-Unis et d'Australie.

La différenciation génétique, révélée par les marqueurs utilisés dans cette étude, est en moyenne légèrement plus importante lorsque les échantillons sont prélevés sur plusieurs plantes hôtes plutôt que sur une seule, la plus répandue (pommier). Les différences génétiques observées ne permettent cependant pas de discriminer les échantillons en fonction de l'hôte d'origine. L'absence de différences écophysiologicals entre échantillons provenant d'hôtes différents et l'existence d'un flux génique important renforcent l'hypothèse de populations essentiellement inféodées au pommier et de migrations d'une partie des individus vers des plantes hôtes plus occasionnelles, en fonction de coïncidences spatio-temporelles. En revanche, les différences écophysiologicals et enzymatiques constatées entre localités, semblent indiquer un processus d'adaptation aux conditions locales. Le flux génique est plus réduit entre localités éloignées et rend possible une différenciation géographique. Cependant, les échanges entre sous-populations sont encore suffisamment importants pour que la résistance au Diflubenzuron, récemment apparue dans la population de *C pomonella* dans le sud-est de la France (Sauphanor *et al*, 1994), puisse s'étendre et constituer un risque élevé de généralisation de cette résistance.

## REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient les lecteurs anonymes pour leurs remarques, ainsi que J Freuler, M Blanc et les personnes du service de la Protection des végétaux qui ont bien voulu leur adresser des échantillons. Ils remercient également L Boudinhon pour sa participation aux élevages.

## RÉFÉRENCES

- Bovey P (1966) Le carpocapse ou vers des pommes et des poires. In : *Entomologie appliquée à l'agriculture* (AS Balachowsky, ed), tome II, vol 1, Masson, Paris, 653-674
- Buès R, Toubon JF (1992) Polymorphisme enzymatique dans différentes populations de *Cydia pomonella* L (Lep Tortricidae). *Acta Œcologica* 13, 583-591
- El Gamil FM, Gaaboub IA, El Sawaf SK (1978) Biology of the codling moth *Cydia pomonella* L and effect of fruit age on its diapause induction. *J Agric Sci Camb* 90, 233-236
- Feder JL, Chilcote CA, Bush GL (1988) Genetic differentiation between sympatric host races of apple maggot fly *Rhagoletis pomonella*. *Nature* 336, 61-64
- Nei M (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89, 583-590
- Pashley DP (1985) Genetic population structure of migratory moth: the Fall Armyworm (Lep Noctuidae). *Ann Entomol Soc Am* 78, 756-762
- Phillips PH, Barnes MM (1975) Host race formation among sympatric apple walnut and plum populations of codling moth, *Laspeyresia pomonella*. *Ann Entomol Soc Am* 68, 1053-1060
- Pitcairn MJ, Zalom FG, Rice RE (1992) Degree-day forecasting of generation time of *Cydia pomonella* (Lep Tortricidae) populations in California. *Environ Entomol* 21, 441-446
- Poitout S, Buès B (1974) Élevage de chenilles de 28 espèces de lépidoptères Noctuidae et de 2 espèces d'Arctiidae sur milieu artificiel simple, particularité de l'élevage selon les espèces. *Ann Zool Ecol Anim* 6, 431-441
- Rield H, Croft BA (1978) The effects of photoperiod and effective temperatures on the seasonal phenology of the codling moth (Lep Tortricidae). *Can Ent* 110, 455-470
- Sauphanor B, Benoit Magali, Bouvier JC, Perron G, Malezieux S, Frémond JC (1994) Un cas de résistance du carpocapse des pommes au diflubenzuron dans le sud-est de la France. *Phytoma* 458, 46-49
- Scherrer B (1984) *Biostatistique*. Gaëtan Morin, Québec, Canada, 850 p
- Shel'Deshova GG (1967) Ecological factors determining distribution of the codling moth *Laspeyresia pomonella* L in the northern and southern hemispheres. *Entomol Rev* 46, 349-361
- Slatkin M (1985) Rare alleles as indicators of gene flow. *Evolution* 39, 53-65
- Slatkin M (1987) Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science* 236, 787-792
- Sokal RR, Rohlf FJ (1981) *Biometry*. Freeman, San Francisco, 859 p
- Steinberg S, Podoler H, Appelbaum SW (1992) Diapause induction in the codling moth, *Cydia pomonella*: effect of prediapause temperatures. *Entomol Exp Appl* 62, 131-137
- Swofford DL, Selander RB (1981) BIOSYS 1, a Fortran program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics. *J Hered* 72, 281-283
- Weir BS (1990) Intraspecific differentiation. In : *Molecular Systematic* (DM Hillis, C Moritz, eds), Sinauer Associates Inc, Sunderland, MA, USA, 373-410
- Wright S (1951) The genetical structure of populations. *Ann Eugen* 15, 323-354