

Effets allélopathiques des Brassicacées via leurs actions sur les agents pathogènes telluriques et les mycorhizes : analyse bibliographique. Partie 1

Raymond REAU¹
 Jean-Marie BODET²
 Jean-Paul BORDES²
 Thierry DORE³
 Sabah ENNAIFAR⁴
 Anne MOUSSART⁵
 Bernard NICOLARDOT⁶
 Sylvain PELLERIN⁷
 Christian PLENCHETTE⁸
 Alain QUINSAC¹
 Christophe SAUSSE¹
 Bernard SEGUIN²
 Bernard TIVOLI⁵

¹ CETIOM, BP 4, 78850 Thiverval-Grignon
 <reau@cetiom.fr>

² ARVALIS Institut du végétal, 91720 Boigneville

³ INA Paris-Grignon, UMR d'agronomie
 INRA/INA P-G, BP 1, 78850 Thiverval-Grignon

⁴ INRA, UMR d'agronomie INRA/INA P-G,
 BP 1, 78850 Thiverval-Grignon

⁵ INRA, UMR INRA-ENSA Rennes Bio3P,
 BP 35327, 35653 Le Rheu, cedex

⁶ INRA, Unité d'agronomie Laon-Reims-Mons,
 BP 224, 51686 Reims, cedex 2

⁷ INRA, UMR INRA-ENITA Bordeaux
 « Transfert sol-plante et Cycle des Eléments
 Minéraux dans les écosystèmes cultivés »,
 BP 81, 33883 Villenave d'Ornon, cedex

⁸ INRA Dijon, BP 86510, 21065 Dijon cedex

Abstract: Brassicas contain glucosinolates (GSL) which decomposition is able to reduce the growth of populations of soil-borne fungi, bacteria or nematodes. These biocid effects on soil-borne microorganisms make a form of allelopathy phenomenon. The allelopathic properties depends on the GLS composition of the Brassicas: Indian mustard and in a lower extend Oilseed rape could have the most powerful action, White mustard would have a weaker action. These properties also depends on crop residues: green manure with quick decomposition would result with a higher action than crop residues after grain harvest.

The main mechanisms are known. In vitro, isothiocyanates obtained from the GSL decomposition inhibit all the phases of the cycle of *Aphanomyces eutiches*, the fungus responsible for root rot of peas. The mycelian growth of *Gaeumannomyces graminis tritici*, the fungus responsible for the wheat take all is inhibited by some isothiocyanates at low concentration.

Furthermore, several studies give the evidence that the incorporation of Brassicas residues into the soil does inhibit the growth of both soil-borne pathogens. At last, the presence of roots of Brassicas inhibits the germination of the mycorrhizas known to improve the mineral nutrition of its host plant. This phenomenon could explain the depressive effect of oilseed rape on the nutrition of a subsequent maize. This knowledge of Brassicas effects into cropping systems offers issues for a better management of precedent effects of Brassicas; these effects being positive (integrated crop protection) or negative (management of subsequent crop nutrition after Brassicas).

Key words: allelopathy, Brassicas, glucosinolates, soil-borne pathogens, mycorrhizas

Les glucosinolates (GSL) sont des composés glucidiques soufrés fréquents dans des familles de dicotylédones comme les Brassicacées. Ils jouent un rôle dans la résistance des Brassicacées aux ravageurs et aux agents pathogènes. Ainsi Bodnaryk [1] a montré que la sinalbine, glucosinolate aliphatique, protège les cotylédons de jeunes plants de moutarde blanche (*Sinapis alba*) de l'attaque du coléoptère *Phyllotreta cruciferae*. Menard [2] a quant à lui mis en évidence le rôle de deux glucosinolates indoliques, la sinigrine et la glucobrassicine, et de leurs dérivés dans la résistance du chou-fleur (*Brassica oleracea*) à *Peronospora parasitica* (agent du mildiou des Brassicacées). Les produits issus de la dégradation des glucosinolates ont également un rôle biologique, puisqu'ils sont susceptibles d'influencer la croissance des populations fongiques, de nématodes, et bactériennes du sol. Parmi ces produits, les isothiocyanates (ITC) auraient les propriétés biocides les plus efficaces [3], certains composés de cette famille entrent d'ailleurs dans la composition de fumigants du commerce (MethylITC, Metam sodium). Ces composés interagiraient de façon non spécifique et irréversible avec les protéines pour former des produits stables. Le fait que les Brassicacées fassent partie des rares plantes à ne pas posséder d'endomycorhizes pourrait égale-

Article reçu le 2 décembre 2004
 Accepté le 11 février 2005

FONDAMENTAL

La seconde partie de cet article paraîtra dans le prochain numéro de la revue.

ment s'expliquer par la présence dans leur rhizosphère d'ITC toxiques dérivés des glucosinolates soufrés qu'elles contiennent [4, 5].

Ces effets biocides sur les micro-organismes du sol liés à la présence de composés libérés dans le milieu sont une des formes du phénomène plus général d'allélopathie, définie par Rice [6] comme « *tout effet direct ou indirect, positif ou négatif, d'une plante sur une autre à travers la production de composés chimiques libérés dans l'environnement* ». Les mécanismes à l'origine de ces phénomènes et la manière de les aborder en agronomie font l'objet d'une attention croissante [7] ; l'utilisation dans les successions de cultures d'espèces et de variétés présentant des propriétés allélopathiques s'exprimant contre des bioagresseurs est une des voies intéressantes de valorisation du phénomène, qui pourrait ainsi être utilisé dans des stratégies de protection intégrée des cultures. C'est dans ce contexte que les cultures de Brassicacées sont fréquemment citées dans la littérature pour leurs propriétés assainissantes. Les dérivés des glucosinolates peuvent en effet être impliqués dans la diminution de problèmes parasitaires telluriques liés à des nématodes (*Meloidogyne incognita* [8]), bactéries (*Salmonella typhimurium* [9]) ou champignons (*Rhizoctonia solani* [10]), *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* [11], *Pythium ultimum* [12]...). Inversement, les Brassicacées pourraient être impliquées, de manière négative cette fois-ci, dans des perturbations des phénomènes de mycorhization des cultures suivantes. Compte tenu de leur action sur les micro-organismes du sol, la dégradation des glucosinolates présents dans leurs résidus de récolte pourrait donc expliquer, au moins partiellement, des effets précédents des Brassicacées dans les rotations. La présente revue aborde les mécanismes qui seraient à l'origine de ces effets, de l'importance des glucosinolates dans la plante à leur dégradation. Trois cas concernant des champignons sont ensuite présentés : deux cas impliquant des agents pathogènes, *Aphanomyces euteiches*, agent de la maladie de la pourriture molle du pois, et *Gaeumannomyces graminis*, maladie agent du piétin échaudage du blé, puis le cas des endomycorhizes, qui contribuent à la nutrition phosphatée de cultures comme le maïs.

Les glucosinolates et leurs produits de dégradation

Les molécules bioactives mises en jeu dans les mécanismes de biofumigation ou d'allélopathie chez les Brassicacées sont essentiellement des isothiocyanates issus du catabolisme des GSL présents dans les tissus des végétaux enfouis dans le sol. L'utilisation ou la maîtrise des processus complexes d'allélopathie ou de biofumigation nécessite de connaître le mieux possible les paramètres tels que la structure des composés précurseurs, leur diversité et leur quantité, la nature des matrices végétales les contenant, la présence de cofacteurs (enzymatiques ou non), ainsi que les conditions du milieu (température, pH). Après une présentation générale des GSL et de leurs dérivés, cette partie envisage leur présence et leur réactivité dans le cadre des espèces *Brassica napus* L. var. *oleifera* (colza), *B. juncea* (moutarde brune) et *Sinapis alba* (moutarde blanche), plantes potentiellement intéressantes pour la biofumigation et raisonnablement utilisables dans les rotations.

Structure et diversité des glucosinolates

Les GSL sont des β thio-D-glucopyranosides anioniques constitués d'un groupement thiohydroximate-O-sulfonate lié à du glucose et à une chaîne latérale. Les GSL ont une grande similitude de structure (figure 1). À l'exception de certains, contenant un groupement cinnamoyl sur le glucose [13], tous possèdent le même squelette et diffèrent seulement par la nature de la chaîne latérale R. Celle-ci peut être constituée d'une chaîne carbonée linéaire ou ramifiée, posséder des insaturations, des groupements hydroxyle, cétone ou un atome de soufre à un degré

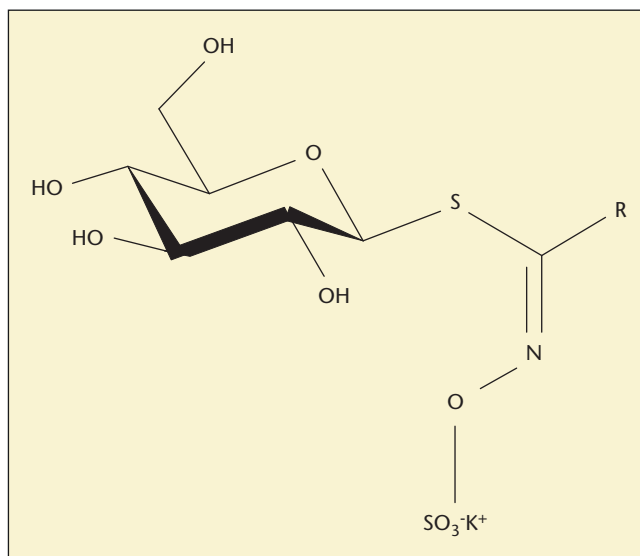


Figure 1. Structure générale des glucosinolates.

d'oxydation variable. Elle peut aussi renfermer un cycle ou un hétérocycle plus ou moins substitué (figure 1).

Les GSL sont au nombre d'une centaine environ. Ils peuvent être classés en plusieurs grandes familles (tableau 1) en fonction de la chaîne latérale R : les alkylGSL, les aralkylGSL et les indolylGSL. Une autre famille de GSL, les cinnamoylGSL [13, 14], se caractérise par la présence sur le glucose en position 2 et/ou 6 de dérivés de l'acide cinnamique : acide sinapique ou isoféruleique. Les structures de la partie R des cinnamoylglucosinolates sont peu variables.

Biosynthèse des glucosinolates

La diversité et la parenté des GSL s'expliquent par les voies de biosynthèse. Les trois classes : alkylglucosinolates, aralkylglucosinolate et indolylglucosinolates dérivent respectivement de la méthionine, de la phénylalanine et du tryptophane.

La volatilité des ITC dépend de la structure de la chaîne latérale R associée à la fonction isothiocyanate. Lorsque R est un groupement alkyle non hydroxylé, par exemple prop-2ényl ou but-3-ényl, l'ITC est volatil. Inversement lorsque R est un groupement aralkyle, par exemple benzyle ou 2-phénylthyle, l'ITC correspondant est peu volatil (tableau 1).

Présence des glucosinolates dans le règne végétal

Les GSL ont été détectés dans 11 familles de plantes dicotylédones. Ils sont présents dans presque toutes les familles constituant l'ordre des Capparales *sensu* Cronquist (*Capparaceae*, *Cruciferae*, *Gyrostemonaceae*, *Limnathaceae*, *Moringaceae*, *Résédaceae*, *Salvadoraceae*, *Tovariaceae*, *Tropaeolaceae*) et plus rarement dans les familles *Caricaceae*, *Euphorbiaceae* [15]. Certains GSL (benzylglucosinolate) peuvent être largement rencontrés dans la classification ou au contraire (méthylglucosinolate) être spécifiques d'une origine botanique et constituer alors un critère chémotaxonomique [16].

Par ailleurs, ils peuvent être présents en nombre et en quantités très différents. La moutarde blanche n'en contient que deux alors que le raifort (*Armoracia rusticana* L.) en compte plus de 30, les teneurs variant de moins de 0,02 $\mu\text{mol/g}$ à plus de 100 $\mu\text{mol/g}$ [15]. On peut rencontrer aussi à l'intérieur d'une espèce une diversité importante. Les multiples variétés de chou (*B. oleracea* L.) ont des teneurs très variables et certains GSL y sont présents de manière sporadique [17]. La même variabilité

Tableau 1. Les glucosinolates (GSL) rencontrés chez le colza, la moutarde blanche et la moutarde brune et leurs principaux produits de dégradation.

| Glucosinolates | | | | Produit de dégradation | | |
|------------------|--------------------------------|--------------------------|------------------|------------------------|----------------|---|
| Classe | Nomenclature semi-systématique | Nomenclature triviale | Abréviation | Type (1) | Volatilité (2) | |
| Alkyl- | prop-2-ényl- | Sinigrine | SIN | ITC | ++++ | |
| | but-3-ényl- | Gluconapine | GNA | ITC | +++ | |
| | pent-4-ényl- | Glucobrassicinapine | GBN | ITC | +++ | |
| | (R)-2-hydroxybut-3-ényl- | Progoitrine | PRO | OT | - | |
| | (S)-2-hydroxybut-3-ényl- | Epi-progoitrine | E-PRO | OT | - | |
| | (R)-2-hydroxypent-4-ényl- | Gluconapoléiférine | GNL | OT | - | |
| | 3-méthylthiopropyl- | Glucoibervirine | GIV | ITC | +++ | |
| | (R)-3-méthylsulfinylpropyl- | Glucoibérine | GIB | ITC | ++ | |
| | 4-méthylthiobutyl- | Glucoérucine | GER | ITC | +++ | |
| | (R)-4-méthylsulfinylbutyl- | Glucoraphanine | GRA | ITC | ++ | |
| | (R)-5-méthylsulfinylpentyl- | Glucoalyssine | GAL | ITC | ++ | |
| | Aralk- | benzyl- | Glucotropaéoline | GTL | ITC | + |
| | | 2-phényléthyl- | Gluconasturtiine | GST | ITC | + |
| 4-hydroxybenzyl- | | Sinalbine | SNB | SCN ⁻ | - | |
| Indoly- | indol-3-ylméthyl- | Glucobrassicine | GBS | SCN ⁻ | - | |
| | 1-méthoxyindol-3-ylméthyl- | Néoglucobrassicine | NGBS | SCN ⁻ | - | |
| | 4-hydroxyindol-3-ylméthyl- | 4-hydroxyglucobrassicine | 4-OHGBS | SCN ⁻ | - | |
| | 4-méthoxyindol-3-ylméthyl- | 4-méthoxyglucobrassicine | 4-OMGBS | SCN ⁻ | - | |

(1) ITC : Isothiocyanate, OT : oxazolidine-2-thione, SCN⁻ : ion thiocyanate, (2) ++++ : très volatil ; - : non volatil).

quantitative peut être rencontrée à l'intérieur d'une variété, entre plantes ou entre parties de plantes. Les graines, les feuilles, les racines ou les fleurs ne renferment pas exactement les mêmes GSL. Les liens de parenté existant entre les principales espèces (le colza est un hybride naturel entre *B. oleracea* L. (chou) et *B. campestris* L. (navette)) sont mis en évidence par le nombre de chromosomes et par la nature des différents GSL rencontrés dans ces espèces [18, 19].

Les GSL sont donc présents dans de nombreux végétaux de la famille des Brassicacées qui constituent une part importante des ressources alimentaires pour l'Homme et les animaux. Choux, navet, radis, cresson, rutabaga, crambe, raifort, moutardes sont largement utilisés comme légume ou condiment. Le colza, la navette, le crambe et la moutarde produisent des fourrages ou des graines utilisées en alimentation humaine comme en alimentation animale.

Rôle des glucosinolates dans la plante

Les GSL ont longtemps été considérés comme les formes neutralisées de molécules toxiques pour l'organisme végétal [20]. Il est admis maintenant qu'ils peuvent jouer un rôle plus actif dans le développement et la défense de la plante. Néanmoins, la connaissance de leur métabolisme est encore parcellaire et la contribution de la myrosinase à ces phénomènes reste à préciser [21].

L'étude de l'accumulation des GSL chez le colza indique qu'ils sont des réservoirs de soufre organique utilisable pour la synthèse des acides aminés en cas de nutrition carencée [22]. De plus, les indol-3-ylméthylglucosinolates pourraient être des précurseurs d'auxines telles que l'acide indol-3-ylacétique [23]. Cependant, la fonction la plus reconvenue des GSL et de leurs métabolites dans la plante se situe au niveau des interactions avec le monde extérieur : micro-organismes, insectes, animaux. La localisation périphérique des cellules les plus riches en GSL dans les organes végétatifs des plantes laisse penser que cette réaction constitue un moyen de défense non sélectif contre toutes sortes d'agresseurs (micro-organismes, insectes, animaux) [24, 25]. La réactivité élevée des isothiocyanates envers des fonctions chimiques très répandues dans les organismes vivants (amines, sulfures, hydroxyle) est doublée d'une volatilité importante [26]. Bien que non volatiles, les quinones dérivées de

l'oxydation du 4-hydroxyindol-3-ylméthylglucosinolate, pourraient aussi avoir des effets semblables [27].

Les quantités d'isothiocyanates mises en jeu par le métabolisme à partir des GSL sont très faibles, mais ces composés peuvent avoir des activités antifongiques et antibactériennes [15, 28, 29]. Ils peuvent aussi être très répulsifs pour certains insectes, alors que pour d'autres, notamment ceux vivant habituellement sur les Brassicacées, ils peuvent stimuler la ponte et la prise de nourriture [30]. À l'occasion d'une attaque d'insectes ravageurs ou d'animaux, des quantités d'isothiocyanates beaucoup plus importantes peuvent être libérées par l'action de la myrosinase sur les GSL stockés dans les tissus périphériques de la plante. Ainsi, il a été constaté que les nouvelles variétés de colza à teneur en GSL abaissée étaient davantage appréciées par la faune sauvage [30, 31]. L'interaction entre l'insecte et les produits de dégradation des GSL se réalise à distance ou au contact de la plante. Elle pourrait parfois être retardée et avoir lieu dans l'insecte après ingestion des GSL, comme le laisse penser la découverte d'une activité myrosinase dans le puceron cendré du chou [32]. Les GSL pourraient être métabolisés en composés moins toxiques que les isothiocyanates [26].

Teneurs en glucosinolates chez le colza, la moutarde blanche et la moutarde brune

Chez le colza, le 2-hydroxybut-3-énylglucosinolate (PRO) est majoritaire dans la graine, le 2-phényléthylglucosinolate (GST) l'est dans la racine et l'indol-3-ylméthylglucosinolate (GBS) dans les feuilles. La teneur varie aussi en fonction du degré de développement de la plante, de fortes valeurs étant constatées lors des périodes de croissance importante [21]. Les teneurs mesurées à mi-floraison par Kirkegaard et Sarwar (tableau 2), confirment ces résultats à l'exception de la GBS dans les feuilles. En général, les résultats montrent une assez grande disparité au niveau des teneurs mesurées ; la biosynthèse et l'accumulation des GSL étant influencée par le stade de développement de la plante, sa fertilisation azotée ou soufrée ainsi que certains oligo-éléments [33] (tableau 2). Chez la moutarde blanche, les GSL aromatiques (aralkylGSL) sont majoritaires. Dans la partie aérienne, il y a prédominance de la SNB et dans les racines la GST, la SNB et la GTL sont présentes à des teneurs voisines.

Tableau 2. Teneurs en glucosinolates ($\mu\text{mol/g}$) des racines et parties aériennes de colza (à huile et fourrager), de moutarde blanche et de moutarde brune. Stades de prélèvement : (a) : mi-floraison ; (b) : inconnu [34, 35].

| Plante | Organe | AlkylGSL | | | | | | AralkylGSL | | | | IndolylGSL | | | Ref |
|-----------------------------------|-----------------|----------|---------|----------|---------|---------|---------|------------|----------|----------|---------|-------------|-------------|---------|-----|
| | | SIN | GRA | GNA | PRO | GBN | GNL | GTL | SNB | GST | GBS | 4-OH GBS | 4-OM GBS | NGBS | |
| <i>Brassica napus</i> | Partie aérienne | - | 0.2-0.3 | 0.5-3.3 | 1.6-9.2 | 0.8-7.8 | 0.6-1.9 | - | - | 0.6-2.3 | 0.2-0.4 | - | 0.1 | 0.1-0.3 | (a) |
| var. <i>oleifera</i> (à huile) | Racines | - | 0.4-0.7 | 0.4-1.0 | 0.3-3.7 | 0.4-4.4 | 0.7-2.6 | 1.0-2.7 | - | 7.9-19.3 | 0.3-0.5 | - | 0.2-0.7 | 0.1 | (a) |
| <i>B. napus</i> var. | Partie aérienne | - | 0.5-0.8 | 0.3-8.7 | 0.5-5.9 | 0.5-4.5 | 0.8-2.9 | - | - | 0.4-0.9 | 0.1-0.6 | 0.1 | 0.1 | 0.1-0.4 | (a) |
| <i>oleifera</i> (fourrager) | Racines | - | 0.5-0.9 | 0.7-10.2 | 1.3-5.0 | 0.6-7.5 | 0.8-2.0 | 1.1-3.4 | - | 7.1-19.5 | 0.2-1.1 | - | 0.4-1.1 | 0.1-0.4 | (a) |
| <i>B. napus</i> (var. Humus) | Feuilles | - | - | 1.0 | 2.3 | 3.3 | - | - | - | 0.4 | 0.5 | traces | - | - | (b) |
| <i>Sinapis</i> <i>alba</i> | Partie aérienne | - | - | - | 0.4-0.5 | 1.0-3.4 | - | 1.9-9.6 | 9.0-14.4 | 0.3-0.4 | 0-0.1 | - | - | 0-0.1 | (a) |
| | Racines | - | 0.9-1.7 | - | 0-0.4 | - | - | 2.0-5.3 | 2.7-3.9 | 2.1-4.1 | 0-0.2 | - | 0.1-0.9 | 0.2-1.2 | (a) |
| <i>B. juncea</i> | Partie aérienne | 0.1-18.7 | - | 0.0-7.5 | - | 0.1-2.0 | 0.1-0.3 | - | - | 0-1.3 | 0-0.2 | 0-0.1 | - | 0.1-0.2 | (a) |
| | Racines | 0-4.8 | - | 0-1.9 | - | 0-0.5 | - | 0-0.6 | - | 2.5-12.5 | 0-0.9 | 0-0.2 | 0.1-1.1 | 0-0.7 | (a) |

Chez la moutarde brune, les alcénylGSL (SIN, GNA et GBN) sont présents avec prédominance de la SIN. En revanche, dans les racines, la GST est majoritaire.

Hydrolyse enzymatique des glucosinolates

Dans toutes les plantes contenant des GSL, se trouvent également des enzymes appelées myrosinases (thioglycoside glucohydrolase E.C. 3.2.3.1.) capables de catalyser leur dégradation en composés présentant le plus souvent une certaine activité biologique. Des activités du type myrosinase ont été détectées dans d'autres sources, telles que les moisissures [36], la mouche du chou [32], la flore microbienne intestinale de mammifères [3, 37-39].

Dans la plante, la myrosinase est située dans des cellules peu nombreuses appelées idioblastes (*myrosin cells*) dont le type dépend de leur localisation. Dans les parties vertes, elles appartiennent au tissu parenchymateux ; dans les racines, au cortex, et dans les graines, elles sont présentes dans l'embryon [24]. À l'intérieur de la cellule, la myrosinase est uniformément présente dans le cytoplasme avec quelques agglomérations sur des membranes, alors que les GSL sont confinés dans les vacuoles [40]. Ces observations expliquent la stabilité des GSL dans les tissus intacts et leur autolyse observée lors de la rupture de l'intégrité cellulaire provoquée par un broyage.

La myrosinase hydrolyse la liaison thioglycosidique des GSL pour donner le D-glucose et un thiohydroximate-O-sulfonate. Ce composé instable libère spontanément le sulfate et se transforme ensuite en fonction de la nature de la chaîne latérale et des conditions du milieu en composés divers tels que les isothiocyanates, thiocyanates organiques ou ioniques, cyanoépipithioalcanes, nitriles, oxazolidine-2-thiones (figure 2). Les conditions optimales d'activité pour les myrosinases sont généralement une température d'environ 55 °C et un pH compris entre 4,0 et 9,0 [41]. Certaines isoenzymes peuvent être plus ou moins activées par l'acide L-ascorbique (vitamine C). Ce cofacteur agit par effet allostérique : il modifie, en se liant à elle, la conformation de l'enzyme dans la région de son site actif [42]. La température optimale d'activité est alors abaissée de 55 °C à 35 °C. Il a été constaté que l'activité peut être multipliée par un facteur 100 si la concentration de l'acide ascorbique est voisine de 1 mM, néanmoins des concentrations supérieures à 5 mM provoquent des inhibitions d'activité [43]. L'activité de la myrosinase dépend aussi de son origine botanique. La myrosinase extraite de la moutarde blanche est cinq à dix fois plus active que celle extraite du colza [44]. L'activité de la myrosinase dans la plante est réduite au moment de la maturité [15, 45].

Les produits de la dégradation enzymatique des glucosinolates (figure 2)

Isothiocyanates

De nombreux GSL sont transformés en présence de myrosinase en isothiocyanates (ITC) stables. Ce catabolisme « normal ou naturel » a valu autrefois aux GSL le nom de glucosides d'essences de moutarde ; l'exemple le plus connu est la sinigrine, principal glucosinolate présent dans la moutarde brune et la moutarde noire (*Brassica nigra*) et qui se dégrade en prop-2-ényl ITC (essence de moutarde). Les ITC sont des molécules très réactives, notamment vis-à-vis des protéines [46] et le plus souvent volatiles. L'association de ces deux propriétés rend les ITC biologiquement actifs car ils sont facilement mis en contact avec des récepteurs. Lorsque la chaîne latérale R du glucosinolate contient une fonction hydroxyle en position 2 ou 3, l'isothiocyanate résultant est instable et se cyclise spontanément pour donner un hétérocycle à 5 ou 6 chaînons : une oxazolidine-2-thione (OT) ou une tétrahydro-1,3-oxazine-2-thione [28]. Ces derniers composés ont également une activité biologique mais sont beaucoup moins volatils que les ITC. Leurs effets ont surtout été mis en évidence dans des dysfonctionnements thyroïdiens chez l'homme ou l'animal. Cependant, dans un certain nombre de cas, la dégradation ne produit pas des ITC. Un pH faible [47], la présence d'ions ferreux ou d'un facteur protéique spécifique (ce dernier, observé avec le *Crambe abyssinica*) favorisent la formation de nitriles [48, 49].

Épithionitriles

La formation d'un épithionitrile est subordonnée à plusieurs conditions : la présence d'une insaturation terminale sur la chaîne latérale, d'un élément favorisant la formation d'un nitrile (ions Fe^{2+}) et d'un nouveau facteur appelé protéine épithiospécifique (ESP). Il y a alors création d'une fonction épithio. Le facteur ESP a été détecté dans *Crambe abyssinica*, *Brassica napus* et *B. oleracea* [50, 51]. Il est incapable d'hydrolyser les GSL car il agit après l'action de la myrosinase.

Formation d'ions thiocyanates

Les isothiocyanates aromatiques ou indoliques sont instables en milieu neutre ou alcalin. Ils se scindent facilement en ions thiocyanates et ions carbonium stables. Ceux-ci peuvent néanmoins se transformer. Le 4-hydroxybenzylglucosinolate se dégrade en ion thiocyanate et en alcool

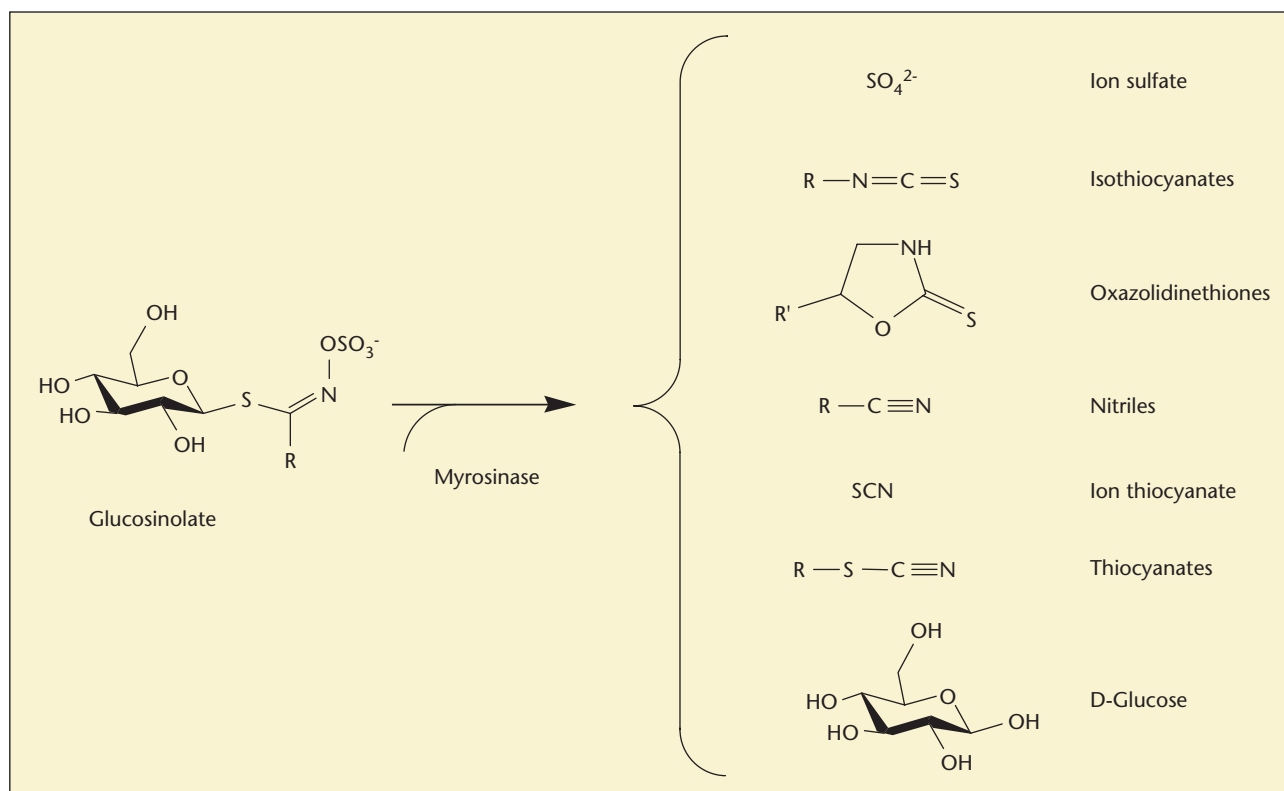


Figure 2. Les principaux produits de dégradation des glucosinolates.

para-hydroxybenzylique [26]. La dégradation des GSL indoliques conduit à davantage de composés [52].

Formation de thiocyanates organiques

Les voies de formation de ces composés sont mal connues. Les thiocyanates organiques ont été observés lors de l'hydrolyse des GSL présents seulement dans les genres botaniques *Thlaspi*, *Lepidium*, *Alyssum* et *Coronopus*. L'existence d'un facteur enzymatique agissant après la myrosinase et orientant la transformation de l'aglycone vers le thiocyanate au lieu de l'isothiocyanate a été évoquée assez tôt [53]. Cette enzyme, une isomérase, modifie la configuration de l'aglycone autour de la liaison $\text{C}=\text{N}$ pour rendre prédominante l'attaque de la chaîne latérale R au niveau du soufre au lieu de l'azote.

Conversion des glucosinolates en produits actifs en biofumigation

La biofumigation est un élément de lutte contre les ravageurs, les maladies fongiques ou les adventices. Elle met en œuvre des substances chimiques actives provenant de la dégradation des GSL présents dans les Brassicacées cultivées et enfouies dans le sol. Les analyses de sols et de plantes ont permis d'y identifier des isothiocyanates (ITC) comme d'autres produits, ce qui suggère l'existence des multiples voies de dégradation des GSL. Le 2-phényléthyl-ITC provenant de la GST qui est le glucosinolate majoritaire dans les racines est le principal ITC détecté dans ces organes (de 5 à 28 $\mu\text{mol/g}$ [34]).

La conversion des GSL précurseurs en ITC ou autres produits dosés (nitriles) n'est pas complète et des rendements de seulement 15 % ont été observés [39]. Les propriétés physico-chimiques des ITC telles que leur volatilité (allyl- et but-3-enyl-ITC) ou leur réactivité élevée avec le milieu peuvent faciliter leur disparition dès leur formation et expliquer les

faibles valeurs de taux de conversion observés. Compte tenu de la bioactivité des ITC et de leur présence observée dans de nombreuses expérimentations, la problématique de la biofumigation est traitée principalement autour de ces composés.

Propriétés des isothiocyanates du colza, et des moutardes blanche, brune et noire utilisés en biofumigation

Ces Brassicacées sont appelées à être utilisées en biofumigation pour leur contenu en GSL précurseurs d'isothiocyanates et également pour leurs qualités agronomiques. Les isothiocyanates présents dans ces plantes peuvent être rangés dans l'ordre de leur volatilité croissante de la manière suivante : 2-phényléthyl-, benzyl-, penten-4-yl-, but-3-enyl et allyl- ce qui signifie que le phényléthyl-ITC serait beaucoup plus persistant dans le sol que l'allyl-ITC qui peut disparaître au fur et à mesure de sa formation. Ces caractéristiques de volatilité peuvent augmenter ou diminuer l'efficacité de l'action de l'ITC sur le récepteur selon que celui-ci sera sensible à une action « coup de fouet » ou au contraire longue durée. En fonction de la sensibilité des cibles ou récepteurs et de leur accessibilité, les effets d'un même ITC peuvent donc être différents.

Cependant, il est possible de connaître dans les plantes utilisées en fumigation (colza, moutardes blanche et brune) la teneur et la nature des GSL, et ainsi de prévoir leur efficacité potentielle en traitement de biofumigation sur la base des propriétés des produits de leur dégradation. Le tableau 3 résume le potentiel en biofumigation de chaque plante et partie de plante à partir des teneurs des GSL dans ces plantes et des propriétés de leurs produits de dégradation présentées précédemment dans les tableaux 2 et 1.

Chez le colza, le potentiel de biofumigation est notable à cause du pent-4-ényl-ITC (partie aérienne) et du phényléthyl-ITC (racines). Ces deux ITC ont des actions respectivement rapide et lente qui peuvent

Tableau 3. Présence et effets potentiels en fumigation des principaux produits de dégradation des glucosinolates des organes de colza, moutarde blanche et moutarde brune.

| Plante | Organe | Produits de dégradation des glucosinolates et type d'action | | | | | | |
|------------------|-------------------|-------------------------------------------------------------|------------------|-----------------|------------|-----------------|----------------|-----------|
| | | OT | SCN ⁻ | Phényléthyl-ITC | Benzyl ITC | Pent-4-ényl ITC | But-3-ényl ITC | Allyl-ITC |
| | | Inconnue | Inconnue | (GST) | (GTL) | (GBN) | (GNA) | (SIN) |
| Colza | Parties aériennes | - | -- | + | o | ++ | + | o |
| | Racines | - | o | +++ | + | + | + | o |
| Moutarde blanche | Parties aériennes | o | ---- | O | ++ | + | O | o |
| | Racines | o | -- | + | ++ | o | O | o |
| Moutarde brune | Parties aériennes | o | o | O | o | + | ++ | +++ |
| | Racines | o | o | ++ | o | o | + | ++ |

ITC : Isothiocyanate ; OT : oxazolidine-2-thione ; SCN⁻ : ion thiocyanate ; o : absence ; + : présence et effet potentiel ; - : présence et effet potentiel négligeable ; (le nombre de signes - et + indique le degré de présence).

présenter une complémentarité intéressante. Chez la moutarde blanche, le potentiel provient du phényléthyl-ITC (racines), du benzyl-ITC (parties aériennes et racines) et du pent-4-ényl-ITC (parties aériennes). Globalement, les ITC de la moutarde blanche sont moins volatils que ceux du colza et devraient avoir une action plus lente. Chez la moutarde brune, les alcénylGSL (SIN, GNA et GBN) sont présents en quantité importante dans les parties aériennes et sont hydrolysés en ITC volatils susceptibles d'avoir une action rapide. Dans les racines, la SIN et la GST sont présentes et peuvent libérer l'allyl-ITC très volatil et le phényléthyl-ITC qui l'est beaucoup moins. En résumé, dans ces trois plantes, les teneurs observées en GSL et les propriétés connues des produits de dégradation indiquent que la moutarde brune doit avoir l'action la plus puissante. En revanche, le colza et la moutarde blanche sont capables de libérer des ITC à action plus lente. Ces conclusions reposent cependant sur des hypothèses de disponibilité et d'action des ITC qui restent théoriques, et qu'il conviendrait de vérifier *in situ*.

Dégradation des résidus de récolte de colza oléagineux et des engrais verts à base de Brassicacées et devenir des glucosinolates dans le sol

À la maturité du colza destiné à la production de graines oléagineuses, seules les graines sont récoltées en Europe. Les pailles comme les racines restent dans la parcelle où elles sont plus ou moins rapidement incorporées dans le sol. Au moment de la destruction des cultures intermédiaires utilisées comme engrais vert, les Brassicacées utilisées (moutardes, colza) sont généralement enfouies avec éventuellement un broyage préalable, et c'est la plante entière encore à un stade végétatif qui est incorporée au sol.

L'importance de ces résidus, et la façon dont ils se dégradent, est importante à connaître parce qu'il est probable qu'elle conditionne la dégradation des GSL et la libération des composés actifs comme les ITC.

Quantités de résidus restituées au sol

Les quantités de résidus restituées au sol après récolte sont très variables et dépendent fortement de la croissance de la culture et notamment de son niveau de fertilisation azotée (tableau 4). Enfin, devraient être prises également en considération les quantités de graines perdues sur la parcelle avant et au cours de la récolte et qui peuvent représenter environ 10 % du rendement (données CETIOM non publiées, [54]).

Caractéristiques et biodégradabilité des résidus de récolte

Les caractéristiques biochimiques et physiques des résidus de culture déterminent leur cinétique de décomposition, la proportion de compo-

sés susceptibles de diffuser vers le sol, le mode de colonisation microbienne et la nature des populations microbiennes impliquées lors de la décomposition. Ces caractéristiques varient pour une espèce donnée avec le degré de maturité, et les conditions de croissance et de nutrition. Ces caractéristiques sont très variables selon les organes considérés. La teneur en azote (ou le rapport carbone/azote) est un critère qui permet de prédire globalement l'effet net de l'incorporation des résidus sur la dynamique de l'azote minéral du sol (minéralisation nette ou organisation nette d'azote) ; c'est le critère qui est retenu dans le module « résidus » du modèle de culture STICS [57] pour décrire la qualité des résidus de culture et prévoir les quantités d'azote libérées lors de leur décomposition. Pour une même culture, cette teneur varie fortement entre organes et pour chaque organe en fonction de la nutrition azotée de la culture (suivant entre autres le précédent cultural et la fertilisation azotée). Les cultures intermédiaires utilisées comme piège à nitrates sont généralement d'une teneur en azote plus élevée (figure 3).

Les tissus végétaux sont principalement constitués de composés solubles, d'hémicelluloses, de celluloses et lignine dont les proportions respectives sont fonction des organes considérés (tableau 5). Ces proportions sont différentes et moins variables pour les résidus jeunes (type cultures intermédiaires) avec des teneurs en composés solubles généralement plus élevées et des teneurs en cellulose et lignine plus faibles que les résidus à maturité (figure 4).

Ces proportions déterminent en définitive l'aptitude intrinsèque des résidus à être décomposés, tout au moins sur le court terme comme l'illustre la figure 5.

Pour les résidus de cultures intermédiaires, la décomposition du carbone est relativement comparable pour différentes espèces (radis, moutarde,

Tableau 4. Quantités de matière sèche et d'azote présentes dans les différents organes d'une culture de colza à maturité en fonction du niveau de fertilisation azotée [55, 56].

| Fertilisation (kg N/ha) | | 0 | 135 | 270 |
|-------------------------|-----------|-------|--------|--------|
| Grains | t m.s./ha | 2,79 | 4,13 | 4,87 |
| | kg N/ha | 62,50 | 100,60 | 155,80 |
| Parois de siliques | t m.s./ha | 2,12 | 3,10 | 4,33 |
| | kg N/ha | 6,70 | 12,20 | 26,00 |
| Tiges | t m.s./ha | 3,17 | 5,82 | 6,58 |
| | kg N/ha | 13,70 | 21,50 | 60,10 |
| Racines | t m.s./ha | 1,06 | 1,01 | 0,86 |
| | kg N/ha | 4,90 | 5,00 | 7,90 |
| Feuilles mortes | t m.s./ha | 2,36 | 4,41 | 4,78 |
| | kg N/ha | 26,90 | 48,6 | 95,20 |
| Indice de récolte | m.s. | 0,24 | 0,22 | 0,23 |
| | N | 0,54 | 0,54 | 0,45 |

Tableau 5. Caractéristiques biochimiques de divers organes de colza [58].

| Organes | Tiges | Parois de siliques | Racines |
|----------------------------------|-------|--------------------|---------|
| C total (%) ^a | 45,2 | 43,7 | 43,6 |
| N total (%) ^a | 0,35 | 0,38 | 1,10 |
| C-soluble (%) ^b | 24,8 | 28,9 | 27,2 |
| C-hémicellulose (%) ^b | 17,9 | 20,7 | 19,3 |
| C-cellulose (%) ^b | 42,0 | 40,6 | 32,3 |
| C-lignine (%) ^b | 14,9 | 12,7 | 19,5 |

^a % matière sèche.

^b % du carbone du résidu.

ray-grass) (figure 6), ce qui s'explique par les compositions biochimiques comprises dans une gamme relativement étroite (figure 4). Par contre, la dynamique de l'azote minéral après enfouissement est elle aussi fortement liée à la teneur en azote des matériaux végétaux (figure 3).

Par ailleurs, ces caractéristiques biochimiques et l'organisation des parois des tissus végétaux déterminent également les propriétés mécaniques (résistance au cisaillement et à la flexion) des résidus qui jouent par exemple un rôle très important lors des opérations mécaniques de travail du sol et de semis en présence de paille [59].

Finalement, ces caractéristiques font apparaître les cultures intermédiaires comme des résidus riches en azote dont la dégradation des parties

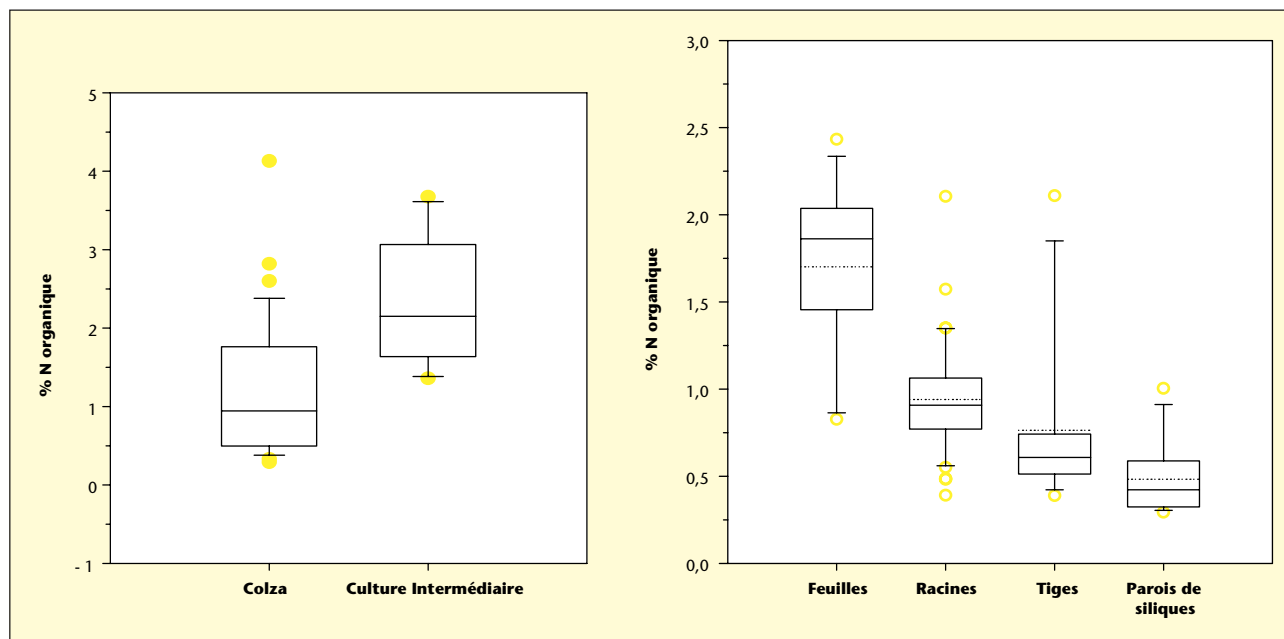


Figure 3. Variabilité de la teneur en azote de différents organes de colza à maturité (source : INRA Reims-CETIOM, résultats d'enquête non publiés) et comparaison des teneurs en azote des résidus de colza avec ceux des cultures intermédiaires au moment de l'enfouissement (d'après Nicolardot et al., non publié).

Légende des boîtes : bord supérieur et inférieur = 10^e et 90^e quintiles ; ligne continue à l'intérieur de la boîte = médiane ; ligne discontinue = moyenne ; extrémités des barres = 5^e et 95^e quintiles ; symboles = données extrêmes (d'après Nicolardot et al., non publié).

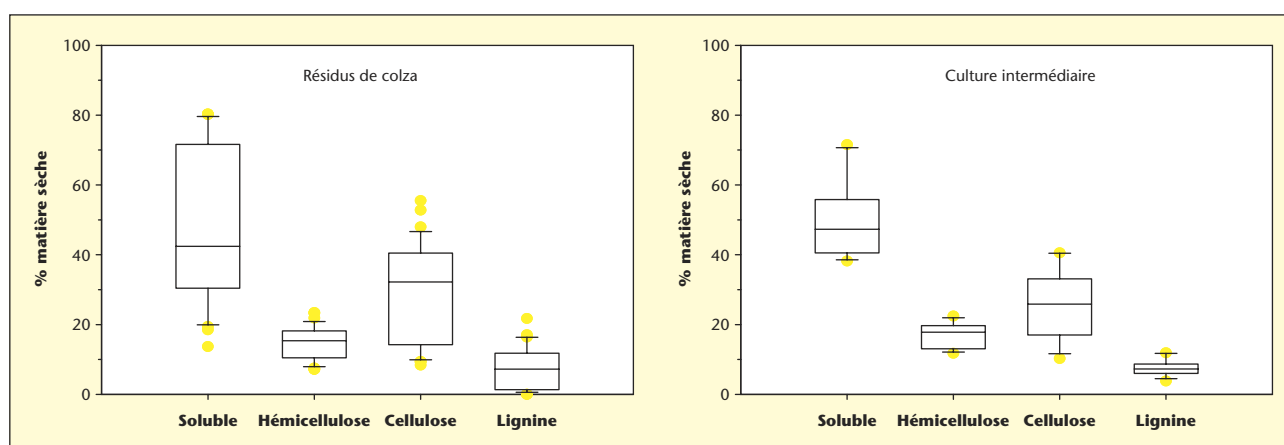


Figure 4. Comparaison de la composition biochimique des résidus de colza présent à maturité et des résidus de culture intermédiaire au moment de l'enfouissement.

Légende des boîtes : bord supérieur et inférieur = 10^e et 90^e quintiles ; ligne continue à l'intérieur de la boîte = médiane ; ligne discontinue = moyenne ; extrémités des barres = 5^e et 95^e quintiles ; symboles = données extrêmes). D'après [58], Nicolardot et al., non publié.

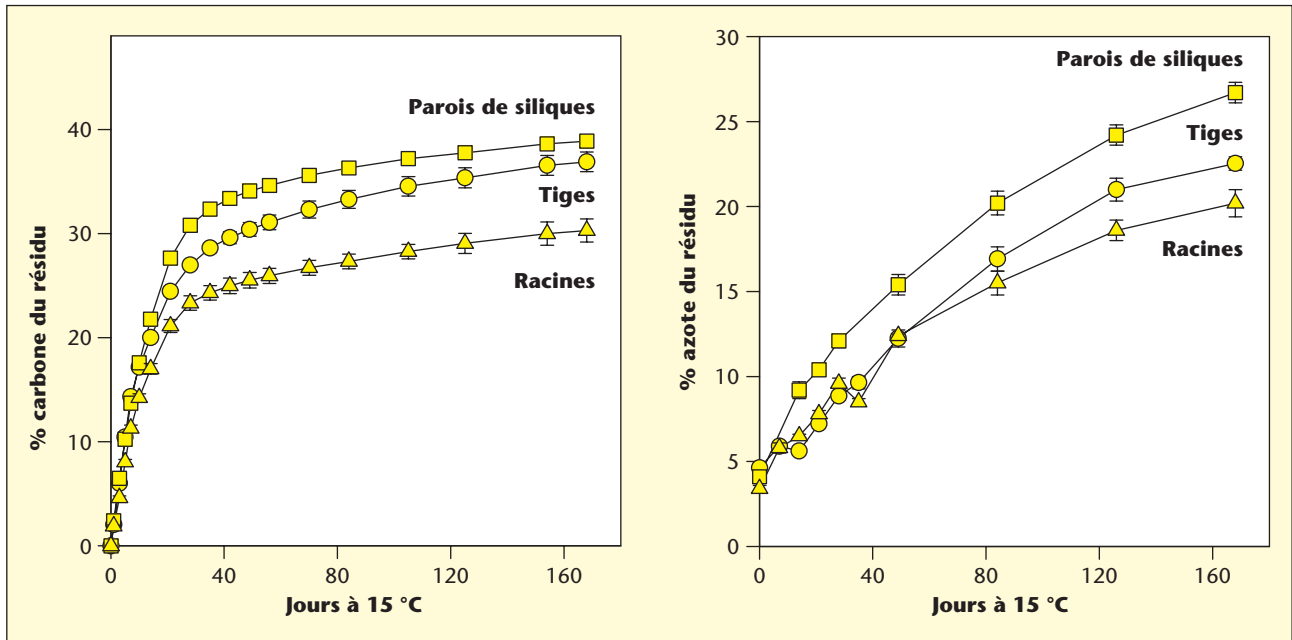


Figure 5. Minéralisation nette du carbone et de l'azote de divers organes de colza à forte teneur en azote marqués ^{13}C et ^{15}N au cours d'une incubation en conditions contrôlées. Les valeurs sont exprimées en % du carbone du résidu et en mg N par g de carbone l'azote organique présent dans le résidu. D'après [60].

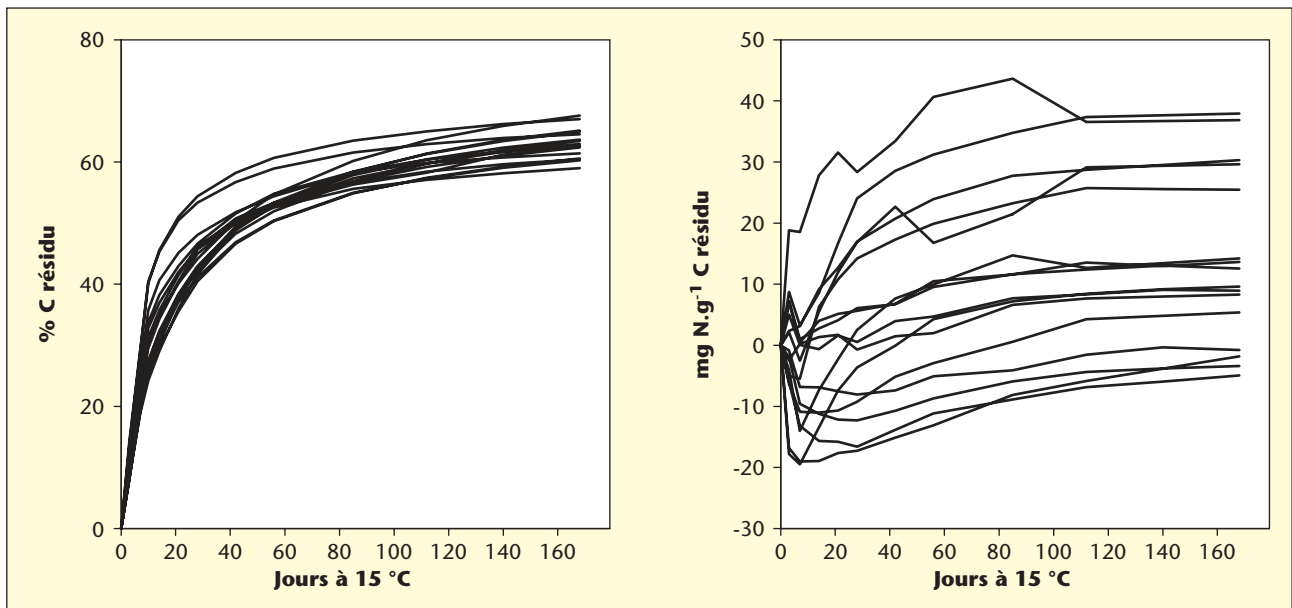


Figure 6. Minéralisation nette du carbone et de l'azote de résidus de cultures intermédiaires prélevés au moment de l'enfouissement et étudiée au cours d'une incubation en conditions contrôlées. D'après Nicolardot et al., non publié.

aériennes peut être assez rapide. Pour le colza récolté à maturité des graines, on peut distinguer trois classes d'organes :

- 1) les feuilles qui tombent avant la maturité et commencent à se dégrader assez vite, notamment avant la récolte, et avant l'enfouissement par le déchaumage ou le labour ;
- 2) les racines dont la biomasse est limitée, et la dégradation probablement assez lente ;
- 3) les tiges et les siliques dont la biomasse est plus significative et la vitesse de dégradation intermédiaire.

Les facteurs influençant la décomposition des résidus

La décomposition des résidus est influencée par de nombreux facteurs [57]. La disponibilité en azote minéral du sol agit sur la dynamique et la décomposition des résidus [61]. En effet, le manque d'azote restreint la croissance des micro-organismes hétérotrophes et/ou modifie leur métabolisme en affectant leur taux de renouvellement ou leur rendement d'assimilation. En définitive, ce manque finit par réduire la décomposition du carbone mais également le ratio quantité d'azote minéral par

unité de carbone décomposé. Ces situations de manque d'azote disponible ont été mises en évidence au champ et peuvent ainsi expliquer le ralentissement de la décomposition des résidus pendant des périodes (par exemple : période automnale) où toutes les conditions (température, humidité...) sont *a priori* réunies pour favoriser leur évolution, mais où l'azote minéral est peu disponible (faibles reliquats azotés, présence de cultures intermédiaires prélevant l'azote...). L'environnement physique des résidus influe également très fortement sur la cinétique de décomposition dans le sol. L'environnement peut se définir, pour un résidu donné, par la taille des particules de résidu, leur distribution et leur localisation dans le sol, et les propriétés du sol environnant (porosité, température et potentiel hydrique). La taille du résidu et la porosité du sol agissent sur la surface de contact existant entre le sol et le résidu [62]. Cette surface influe sur la colonisation du résidu par les micro-organismes du sol et sur les possibilités d'échange d'eau et de nutriments entre le résidu et le sol. Ainsi, plus cette surface de contact est importante, plus la décomposition est facilitée [63, 64]. Toutefois, le broyage des résidus, qui diminue la taille des particules, n'a pas le même effet quel que soit le type de résidu, montrant ainsi qu'il existe des interactions complexes entre la nature des résidus et leurs propriétés physiques : par exemple, des expérimentations conduites en laboratoire ont montré que le broyage de racines de colza augmentait fortement leur décomposition dans le sol, alors que cela affectait peu la décomposition des parois de siliques (Recous, résultats non publiés). Par ailleurs, la localisation des résidus de culture, qu'ils soient laissés à la surface, enfouis par une opération de labour ou incorporés de manière relativement homogène, ainsi que l'intensité de compactage du sol et des résidus (passage de roue par exemple), jouent un rôle fondamental sur les transferts d'eau, de solutés, de chaleur dans le sol. Les propriétés physiques des sols (stabilité structurale par exemple) peuvent être également fortement influencées par la présence de résidus (en fonction de leur nature, quantité et distribution) à la surface du sol. Ces facteurs physiques influencent en retour la cinétique de décomposition des résidus organiques et les biotransformations dans leur ensemble, laquelle modifie les propriétés physiques qui vont de nouveau influencer les processus biologiques.

Décomposition des résidus de colza dans le sol

Quelques références ont été acquises en conditions de laboratoire [60, 65], mais très peu de données ont été acquises *in situ* [66-68]. En France, des données ont été acquises pour le colza [69]. Leurs résultats montrent que les résidus sont rapidement décomposés, 50 % du carbone des résidus étant minéralisé sous forme de CO₂ pendant les deux premiers mois suivant l'incorporation dans le sol (figure 7). L'incorporation des résidus a induit tout d'abord une immobilisation de l'azote minéral du sol d'environ 20 kg N ha⁻¹ à l'automne. Neuf mois après incorporation, les résidus issus de la culture fertilisée (apport de 270 kg N ha⁻¹) induisent une fourniture nette d'azote minéral (+ 9 kg N ha⁻¹) correspondant à 10 % de l'azote apporté par les résidus alors que la fourniture pour les résidus issus de la culture sans fertilisation azotée reste nulle (- 3 kg N ha⁻¹, valeur non statistiquement différente de 0).

Décomposition des résidus et libération de composés à effets allélopathiques

Si de nombreux travaux ont mis en évidence les effets allélopathiques des résidus de culture de colza suite à leur incorporation dans le sol [71], finalement peu de références relient expressément les effets allélopathiques des résidus de colza et leur décomposition dans le sol. Purvis [72] a mis ainsi en relation les effets allélopathiques avec le degré de décomposition des chaumes de colza. *A priori*, aucune référence ne rapporte de travaux mettant en relation la dynamique de relargage des GSL dans le sol ou leur décomposition et la dynamique de décomposition des résidus.

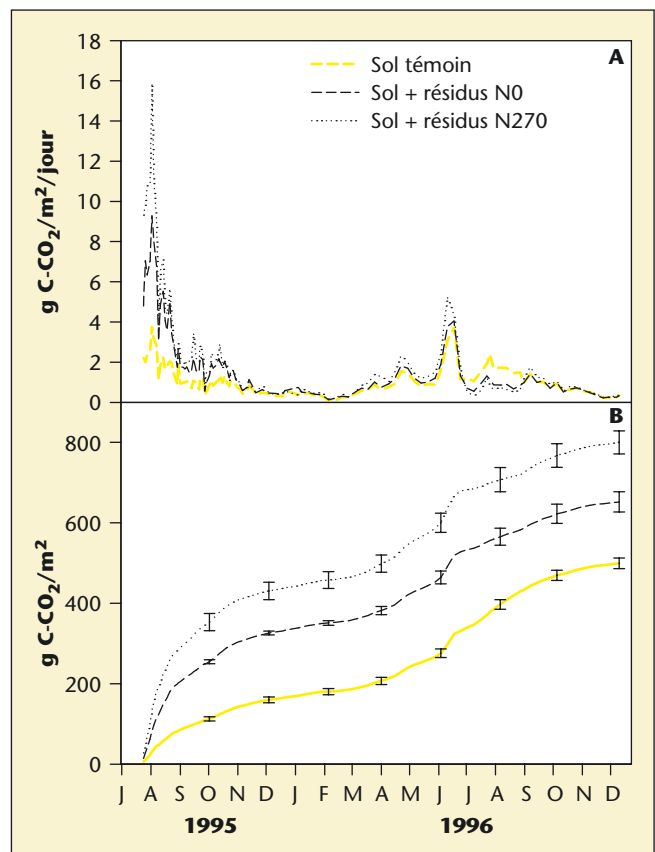


Figure 7. Vitesse de minéralisation du carbone (a) et évolution cumulée (b) du CO₂ émis par le sol au champ avec ou sans apport de résidus de culture de colza. Les résidus de colza sont issus d'une culture non fertilisée (N0) ou fertilisée avec 270 kg N par ha (N270). D'après [70].

Également peu de travaux récents concernent la décomposition des GSL dans les sols, plusieurs auteurs [73-75] ont mesuré au champ et en laboratoire le relargage et la rétention dans le sol des isothiocyanates après l'incorporation de résidus de brassicacées, et ont mis en évidence l'importance de la teneur initiale des résidus en GSL et de l'humidité du sol.

D'avantage de références existent quant au devenir des produits de décomposition des GSL dans la mesure où ces composés chimiques sont utilisés comme fumigants. C'est notamment le cas des isothiocyanates avec en particulier le méthyl isothiocyanate [76-80]. Les études portent sur les processus de dégradation (biologique ou abiotique), l'adsorption par le sol [80], l'entraînement par les eaux de lessivage [76] ou la volatilisation [78]. La persistance de ces molécules dans le sol dépend en particulier des conditions de température et d'humidité [77], mais est aussi fonction de l'adaptation de la microflore des sols suite à des apports répétés [79].

RÉFÉRENCES

- BODNARYK RP. Developmental profile of sinalbin (p-hydroxybenzyl glucosinolate) in mustard seedlings, *Sinapis alba* L., and its relationship to insect resistance. *J Chem Ecol* 1991 ; 17 : 1543-56.
- MÉNARD R. Rôle des glucosinolates et de leurs produits de dégradation dans la résistance du chou-fleur (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) à *Peronospora parasitica*, agent pathogène du mildiou. Thèse de doctorat, Université de Rennes I, 2000.

3. BROWN PD, MORRA MJ. Control of soil-borne plant pests using glucosinolate-containing plants. *Advances in Agronomy* 1997 ; 61 : 167-231.
4. VIERHEILIG H, OCAMPO JA. Role of root extract and volatile substances of non-host plants on vesicular-arbuscular mycorrhizal spore germination. *Symbiosis* 1990 ; 9 : 199-202.
5. VIERHEILIG V, OCAMPO JA. Effect of isothiocyanates on germination of spores of *G. Moseae*. *Soil Biol Biochem* 1990b ; 22 : 1161-2.
6. RICE EL. *Allelopathy*. 2nd ed. Florida : Academic Press, Inc. Orlando, 1984.
7. DORE T, SENE M, PELLISSIER F, GALLET C. Approche agronomique de l'allélopathie. *Cahiers Agricultures*, 2004.
8. STAPELTON JJ, DUNCAN RA. Soil desinfestation with cruciferous amendments and sublethal heating: effects on *Meloidogyne incognita*, *Sclerotium rolfsii* and *Pythium ultimum*. *Plant Pathol* 1998 ; 47 : 737-42.
9. TIEDING HGM, MALINGRÉC E, VAN BROEKHOVEN LW, JONGEN WMF, LEWIS J, FENWICK GR. Role of glucosinolates in the formation of N-nitroso compounds. *J Agric Food Chem* 1991 ; 39 : 922-6.
10. BLOCK WJ, LAMERS JG, TERMORSHUIZEN AJ, BOLLEN GJ. Control of soil-borne plant pathogen by incorporating fresh organic amendments followed by tarping. *Phytopathology* 1999 ; 90 : 253-9.
11. ANGUS JF, GARDNER PA, KIRKEGAARD JA, DESMARCHÉLIER JM. Biofumigation : isothiocyanates released from *Brassica* roots inhibit growth of the take-all fungus. *Plant Soil* 1994 ; 162 : 107-12.
12. LAZZERI L, MANICI LM. The glucosinolate-myrosinase system: a natural and practical tool for biofumigation. In : Gullino ML, Katan J, Matta A, eds. *Proceedings of an International Symposium 'Chemical and non-chemical soil and substrate desinfestation'*. 2000.
13. LINSCHIED M, WENDISH D, STRACK D. The structures of sinapic acid esters and their metabolism in cotyledons of *Raphanus Sativus*. *Z Naturforsch* 1980 ; 35C : 907.
14. BJERG B, SØRENSEN H. Quantitative analysis of glucosinolates in oilseed rape based on HPLC of desulfoglucosinolates and HPLC of intact glucosinolates. In : *World Crops: Production, Utilization, Description*. Ed. Wathélet J-P, Martinus Nijhoff, Dordrecht 1987 ; 13 : 125-50.
15. FENWICK GR, HEANEY RK, MULLIN WJ. Glucosinolates and their breakdown products in food and food plants. *CRC, Critical Review in Food Science and Nutrition* 1983 ; 18 : 123-201.
16. UNDERHILL EW. Glucosinolates. In : Bell EA, Charlwood BV, Eds, *Encyclopedia of Plant Physiology*. Heidelberg : Springer-Verlag, 1980 ; 8 : 493-511.
17. VAN ETTEN CH, DAXENBICHLER ME, WILLIAMS PH, KWOLEK WF. Glucosinolates and derived products in cruciferous vegetables. Analysis of the edible part from twenty-two varieties of cabbage. *J Agric Food Chem* 1976 ; 24 : 452-5.
18. RÖBBELEN, THIES W. Variation in rapeseed glucosinolates and breeding for improved meal quality. In : Tsunoda S, Hinata K, Gomez-Campo G, eds. *Brassica Crops and Wild Allies, Biology and Breeding*. Tokyo : Japan Scientific Societies Press, 1980 : 285.
19. GLAND A, RÖBBELEN G, THIES W. Variation of alkenyl glucosinolates in seeds of *Brassica* Species. *Z Pflanzenzüchtg* 1981 ; 87 : 96-110.
20. PLANTEFOL L. Les hétérosides. In : *Biologie cellulaire et végétale*. Paris : Eugène Belin, 1955 : 680-1.
21. CLOSSAIS-BESNARD N. Aspects analytiques et physiologiques de l'accumulation des glucosinolates chez le colza (*Brassica napus* L.). Thèse de doctorat, Université de Rennes, 593 : 110 p, 1991.
22. SCHNUG E. Relation between sulfur supply and glucosinolate Content of 0 -and 00- oilseed rape. *Proc Int Rapeseed Congr 7th*, Poznan, Poland 1987 ; 3 : 682-6.
23. RAUSCH T, BUTCHER DN, HILGENBERG W. Indole-3-methylglucosinolate biosynthesis and metabolism in clubroot diseased plants. *Physiol Plant* 1983 ; 58 : 93-100.
24. HÖGLUND AS, LENMAN M, FALK A, RASK L. Distribution of myrosinase in rapeseed tissues. *Plant Physiol* 1991 ; 95 : 213-21.
25. BIRCH ANE, GRIFFITHS DW, MACFARLANE SMITH WH. Changes in forage and oilseed rape (*B. napus*) root glucosinolates in response to attack by turnip root fly (*Delia floralis*). *J Sci Food Agric* 1990 ; 51 : 309-20.
26. BENN M. Glucosinolates. *Pure Appl Chem* 1977 ; 49 : 197-210.
27. TRUSCOTT RJW, MANTHEY MK. The oxydation of 4-Hydroxyindole as a model system for the oxidation of 4-Hydroxyindolyl-3-Methyl glucosinolate. *J Sci Food Agric* 1989 ; 47 : 191-5.
28. LARSEN PO. Glucosinolate. In : Stumpf PK, Conn EE, eds, *The Biochemistry of Plants. A comprehensive Treatise*. Academic Press 1981 ; 7 : 501-25.
29. DOUGHTY KJ, PORTER AJR, MORTON AM, KIDDLE G, BOCK CH, WALLS-GROVE RM. Accumulation of glucosinolates in oilseed rape leaves as a result of fungal infection. *Proc Int Rapeseed Cong 8th*, Saskatoon, Eds GCIRC, Canola Council of Canada, 1991 ; 6 : 17-37.
30. LERIN J. Influence des substances allélochimiques des crucifères sur les insectes. *Acta OEcologica/OEcol gener* 1980 ; 1 : 215-35.
31. DOUVILLE DE FRANSSU P, CHAPUIS JL, GIOVANNI R, MOUTOU F. Conséquences physiologiques de l'ingestion du colza à graines (*Brassica napus* L.) variété Tapidor (OO), par le lièvre d'Europe (*Lepus europaeus Pallas*) en condition de semi-captivité. *Rec Méd Vét* 1991 ; 167(9) : 873-81.
32. MACGIBBON DB, ALLISON RM. Glucosinolate system in the aphid *Brevicoryne brassicae*. *NZJ Sci* 1968 ; 11 : 440-6.
33. JIRACEK V, KUTACEK M, SALKADE S, KOSTIR J. Effect of zinc on the biosynthesis of indole glucosinolates, glucobrassicin and neoglucobrassicin in etiolated rape seedlings (*Brassica napus* var. *arvensis* (Lam. Thell.). *Biol Plantarum (Prague)* 1974 ; 16 : 454.
34. KIRKEGAARD JA, SARWAR M. Biofumigation potential of Brassicas. I. Variation in glucosinolates profiles of diverse field-grown brassicas. *Plant Soil* 1998 ; 201 : 71-89.
35. BROWN AP, BROWN J, DAVIS JB. Developing high glucosinolate cultivars suitable for bio-fumigation from intergeneric hybrids. In : *Proc. of the 10th International Rapeseed Congress*. Canberra, Ed : GCIRC, Paris, 1999.
36. REESE ET, CLAPP RC, MANDELS M. A thioglucosidase in fungi. *Arch Biochem Biophys* 1958 ; 75 : 228.
37. OGINSKY EL, STEIN AE, GREER MA. Myrosinase activity in bacteria as demonstrated by the conversion of progoitrin to goitrin. *Proc Soc Exp Biol Med* 1965 ; 119 : 360.
38. NUGON-BAUDON L, RABOT S, WAL JM, SZYLIT O. Interactions of the intestinal microflora with glucosinolates in rapeseed meal toxicity: first evidence of an intestinal *Lactobacillus* possessing a myrosinase-like activity *in vivo*. *J Sci Food Agric* 1990 ; 52 : 547-59.
39. BOREK V, MORRA MJ, MCCAFFREY JP. Myrosinase activity in soil extracts. *Soil Sci Exp Am J* 1996 ; 60 : 1792-7.
40. GROB K, MATILE P. Vacuolar location of glucosinolate in horseradish root cells. *Plant Sci Lett* 1979 ; 14 : 327-35.
41. MACLEOD AJ, ROSSITER JT. Isolation and examination of thioglucoside glucohydrolase from seeds of *Brassica napus*. *Phytochemistry* 1986 ; 25 : 1047-51.
42. OHTSURU M, HATA T. The interaction of L-ascorbic acid with the active center of myrosinase. *Biochim Biophys Acta* 1979 ; 567 : 384-91.
43. WILKINSON AP, RHODES MJC, FENWICK RG. Myrosinase Activity of Cruciferous Vegetables. *J Sci Food Agric* 1984 ; 35 : 543-52.

44. BJÖRKMAN R. Plant myrosinase. In: Vanghan JG, Mac Leod AJ, Jones BMG. *The biology and chemistry of the Cruciferae*. London : Academic Press : 191-205, 1976.
45. PIHAKASKI K, PIHAKASKI S. Myrosinase in Brassicaceae (Cruciferae). II. Myrosinase activity in different organs of *Sinapis alba* L. *J Exp Bot* 1978 ; 29 : 335.
46. KAWAKISHI S, NAMIKI M. Oxidative cleavage of the disulfide bond of cystine by allyl isothiocyanate. *J Agric Food Chem* 1982 ; 30 : 618-20.
47. GIL V, MACLEOD AJ. Effects of a *Lepidium sativum* enzyme preparation on the degradation of glucosinolates. *Phytochem* 1980 ; 19 : 2071-6.
48. TOOKEY HL. Solubilization and selected properties of crambe seed thioglucosidase (Thioglucoside Glucohydrolase, E C 3.2.3.0.). *Can J Biochem* 1973 ; 51 : 1305-10.
49. VAN ETEN CH, DAXENBICHLER ME. Formation of organic nitriles from progoitrins in leaves of *Crambe abyssinica* and *Brassica napus*. *J Agr Food Chem* 1971 ; 19 : 194-5.
50. DAXENBICHLER ME, VAN ETEN CH, WOLFF IA. Diastereomeric Episulfides from *Epi-Progoitrin* upon Autolysis of Crambe Seed Meal. *Phytochemistry* 1968 ; 7 : 989-96.
51. PETROSKI RJ, TOOKEY HL. Interaction of thioglucoside-glucohydrolase and epithiospecific protein of cruciferous plants to form 1-cyanoepithioalkanes. *Phytochemistry* 1982 ; 21 : 1903-7.
52. TOOKEY HL, VAN ETEN CH, DAXENBICHLER ME. Glucosinolates. In: Liener IE, Ed. *Toxic constituents of plants foodstuffs*. 2nd ed., New-York : Academic Press, 103, 1980.
53. VIRTANEN AJ, SAARIVIRTA M. The formation of benzyl thiocyanate in the seeds of *Lepidium sativum* Suomen Kemistil. 35B : 102, 1962.
54. PRICE JS, HOBSON RN, NEALE MA, BRUCE DM. Seed losses in commercial harvesting of oilseed rape. *J Engineering Research* 1996 ; 65 : 183-91.
55. GABRIELLE B, DENOROY P, GOSSE G, JUSTES E, ANDERSEN MN. A model of leaf area development and senescence for winter oilseed rape. *Field Crops Res* 1998 ; 57 : 209-22.
56. GABRIELLE B, DENOROY P, GOSSE G, JUSTES E, ANDERSEN MN. Development and evaluation of a CERES-type model for winter oilseed rape. *Field Crops Res* 1998 ; 57 : 95-111.
57. NICOLARDOT B, RECOUS S. Matières organiques et activités biologiques des sols cultivés – Décomposition des résidus : une affaire d'histoire culturelle et de travail du sol. *Perspectives Agricoles* 2001 ; 272 : 49-53.
58. TRINSOUTROT I, JOCTEUR MONROZIER L, CELLIER J, WATON H, ALAMERCY S, NICOLARDOT B. Assessment of the biochemical composition of oilseed rape (*Brassica napus* L.) ¹³C-labelled residues by global methods, FTIR and ¹³C NMR CP/MAS. *Plant Soil* 2001 ; 234 : 61-72.
59. PLISSON-ANNOUSSAMY M, RICHARD G, RECOUS S, GUÉRIF J. Change in mechanical properties of wheat straw due to decomposition and moisture. *Applied Engineering in Agriculture* 2000 ; 16 : 657-64.
60. TRIINSOUTROT I, RECOUS S, MARY B, NICOLARDOT B. C and N fluxes of decomposing ¹³C and ¹⁵N *Brassica napus* L. : effects of residue composition and N content. *Soil Biol Biochem* 2000 ; 32 : 1717-30.
61. RECOUS S, ROBIN D, DARWIS D, MARY B. Soil inorganic N availability : effect on maize residue decomposition. *Soil Biol Biochem* 1995 ; 27 : 1529-38.
62. FRUIT L, RECOUS S, RICHARD G. Plant residue decomposition: effect of soil porosity and particle size. In : Berthelin J, et al., eds. *Effect of Mineral-Organic-Microorganism Interactions on Soil and Freshwater Environments*. 1999 : 189-96.
63. ANGERS D, RECOUS S. Decomposition of wheat straw and rye in soil as affected by particle size. *Plant Soil* 1997 ; 189 : 197-203.
64. RECOUS S, RICHARD G, FRUIT L, GUÉRIF J. Effect of contact between straw particles and soil on the short-term mineralization of C. *European Journal of Soil Science* 2002.
65. JANZEN HH, KUCEY RM. C, N, and S mineralization of crop residues as influenced by crop species and nutrient regime. *Plant Soil* 1988 ; 106 : 35-41.
66. FRANZLUEBBERS AJ, HONS FM, ZUBERER DA. Tillage induced seasonal changes in soil physical properties affecting soil CO₂ evolution under intensive cropping. *Soil Tillage Res* 1995 ; 34 : 41-60.
67. THOMSEN IK, CHRISTENSEN BT. Availability to subsequent crops and leaching of nitrogen in ¹⁵N-labelled sugarbeet tops and oilseed rape residues. *J Agric Sci Camb* 1996 ; 126 : 191-9.
68. JENSEN LS, MUELLER T, MAGID J, NIELSEN NE. Temporal variation of C and N mineralization, microbial biomass and extractable organic pools in soil after oilseed rape straw incorporation in the field. *Soil Biol Biochem* 1997 ; 29 : 1043-55.
69. GOSSE G, CELLIER P, GABRIELLE B, et al. Bilan environnemental du colza. CR. final contrat INRA/ADEME/CETIOM, 137 p, 1997.
70. TRINSOUTROT I, NICOLARDOT B, JUSTES E, RECOUS S. Decomposition in the field of residues of oilseed rape grown at two levels of nitrogen fertilisation. Effects on the dynamics of soil mineral nitrogen between successive crops. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 2000 ; 56 : 125-37.
71. GARDINER JB, MORRA MJ, EBERLEIN CV, BROWN PD, BOREK V. Allelochemicals released in soil following incorporation of rapeseed (*Brassica napus*) green manures. *J Agric Food Chem* 1999 ; 47 : 3837-42.
72. PURVIS CE. Differential response of wheat to retained crops stubbles. I. Effect of stubble type and degree of decomposition. *Aust J Agric Res* 1990 ; 41 : 225-42.
73. BROWN PD, MORRA MJ, MCCAFFREY JP, AULD DL, WILLIAMS I. Allelochemicals produced during glucosinolate degradation in soil. *J Chem Ecol* 1991 ; 17 : 2021-34.
74. BOREK V, MORRA MJ, BROWN PD, MCCAFFREY JP. Allelochemicals produced during Sinigrin decomposition in soil. *J Agric Food Chem* 1994 ; 42 : 1030-4.
75. MORRA MJ, KIRKEGAARD JA. Isothiocyanate release from soil-incorporated Brassica tissues. *Soil and Biochemistry* 2002 ; 34(11) : 1683-90.
76. SAEED IAM, HARKIN JM, ROUSE DI. Leaching of methyl isothiocyanate in plainfield sand chemigated with metam-sodium. *Pestic Sci* 1996 ; 46 : 375-80.
77. GAN J, PAPIRNIK SK, YATES SR, JURY WA. Temperature and moisture effects on fumigant degradation in soil. *Journal of Environmental Quality* 1999 ; 28 : 1436-41.
78. FRICK A, ZEBARTH BJ, SZETO SY. Behaviour of the soil fumigant methyl isothiocyanate in repacked soil columns. *Journal of Environmental Quality* 1998 ; 27 : 1158-69.
79. VERHAGEN C, LEBBINK G, BLOEM J. Enhanced biodegradation of the nematocides 1,3-dichloropropene and methyl isothiocyanate in a variety of soils. *Soil Biol Biochem* 1996 ; 28 : 1753-6.
80. BROWN PD, MORRA MJ. Fate of ionic thiocyanate (SCN-) in soil. *J Agric Food Chem* 1993 ; 41 : 978-82.