

Les ennemis naturels d'insectes du cotonnier au Tchad : premières données sur les champignons de l'ordre des Entomophthorales

P. Silvie (1) et B. Papierok (2)

(1) Entomologiste IRCT, station d'Anié-Mono, BP1, Anié, Togo.

(2) Chef de laboratoire, Unité de Lutte biologique contre les Insectes, Institut Pasteur, 25, rue du Dr Roux, 75724 Paris Cedex 15, France.

Résumé

En 1986 et en 1987, des épizooties à Entomophthorales (Zygomycètes) ont été observées dans des populations du puceron *Aphis gossypii* et dans des populations adultes de l'aleurode *Bemisia tabaci* évoluant sur cotonnier dans le sud du Tchad. C'est la première fois que la présence d'Entomophthorales est signalée dans ce pays. Les auteurs présentent tout d'abord le cycle biologique de ces champignons entomopathogènes et les différents éléments morphologiques qui y sont impliqués. Etant donné qu'il est indispensable de récolter et de préparer correctement les insectes tués par une Entomophthorale afin de pouvoir identifier celle-ci, les techniques utilisées sont ensuite détaillées. Les

symptômes de la mycose d'*Aphis gossypii* sont alors décrits et la morphologie respective des spores de résistance, des conidies primaires et des capilloconidies de l'agent responsable, *Neozygites fresenii*, est illustrée. L'entomophthorose des adultes de *Bemisia tabaci* est due à une espèce inédite de *Zoophthora*, dont la description sera présentée par ailleurs. Les auteurs précisent, cependant, les symptômes de la mycose et illustrent à l'aide d'une autre espèce la morphologie caractéristique des conidies primaires et des capilloconidies au sein du genre *Zoophthora*. Jusqu'aux observations effectuées au Tchad en 1986 et en 1987, aucun cas d'entomophthorose n'était connu sur *Bemisia tabaci*.

MOTS-CLES : cotonnier, insectes, Entomophthorale, *Aphis gossypii*, *Neozygites fresenii*, *Bemisia tabaci*, *Zoophthora* sp., épizooties, Tchad.

Introduction

L'ordre des Entomophthorales (Zygomycètes) comporte plus d'une centaine d'espèces pathogènes d'insectes ou d'acariens. Ces champignons sont plus ou moins régulièrement responsables d'épizooties spectaculaires, entraînant une diminution brutale des effectifs des populations-hôtes. L'observateur est alors frappé par la présence, en grand nombre, de cadavres d'insectes fixés au végétal par les pattes, par l'appareil buccal et éventuellement par des filaments mycéliens spécialisés partant de la face ventrale de l'insecte et s'accrochant au substrat, les rhizoïdes.

Observées du cercle polaire à l'équateur, les Entomophthorales entomopathogènes ont surtout été étudiées en zone tempérée. Ce n'est que depuis une dizaine d'années que l'on commence véritablement à apprécier le rôle significatif que peuvent jouer certains de ces champignons dans la régulation des populations d'insectes d'importance économique en zone tropicale (PAPIEROK, 1987), notamment vis-à-vis de *Zonocerus variegatus* (L.) (Orthoptères Pyrgomorphidae) dans le sud du Nigéria (PAGE, 1978; CHAPMAN et PAGE, 1979), de la cochenille du manioc, *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero (Homoptères Pseudococcidae) dans la région de Brazzaville (LE RÜ *et al.*, 1985; LE RÜ, 1986) et de la

"mosca pinta", *Aeneolamia albofasciata* Fennah (Homoptères Cercopidae), un des ravageurs les plus importants des pâturages dans le sud du Mexique (REMAUDIÈRE et LATGE, 1985). Cependant, les données de la littérature sur les Entomophthorales actives à l'égard des insectes ou des acariens s'attaquant au cotonnier sont rares et souvent fragmentaires, si l'on excepte les travaux déjà cités concernant l'acridien polyphage *Zonocerus variegatus*.

Dans la présente note, nous traiterons des deux mycoses à Entomophthorale les plus fréquemment mises en évidence lors des observations régulières effectuées en 1986 et en 1987, dans les populations d'insectes du cotonnier au Tchad, principalement à Bébedjia, dans le sud du pays. Un aperçu général sur ces champignons et sur leur cycle biologique sera tout d'abord donné. En ce qui concerne les procédés de récolte et d'étude utilisés, nous avons tenu à accorder une attention particulière à leur description, même s'ils ont déjà été présentés par ailleurs (REMAUDIÈRE *et al.*, 1976; PAPIEROK, 1989). Seul un suivi scrupuleux de ces méthodes permet, en effet, de recueillir les différents éléments du cycle du champignon, indispensables à son identification.



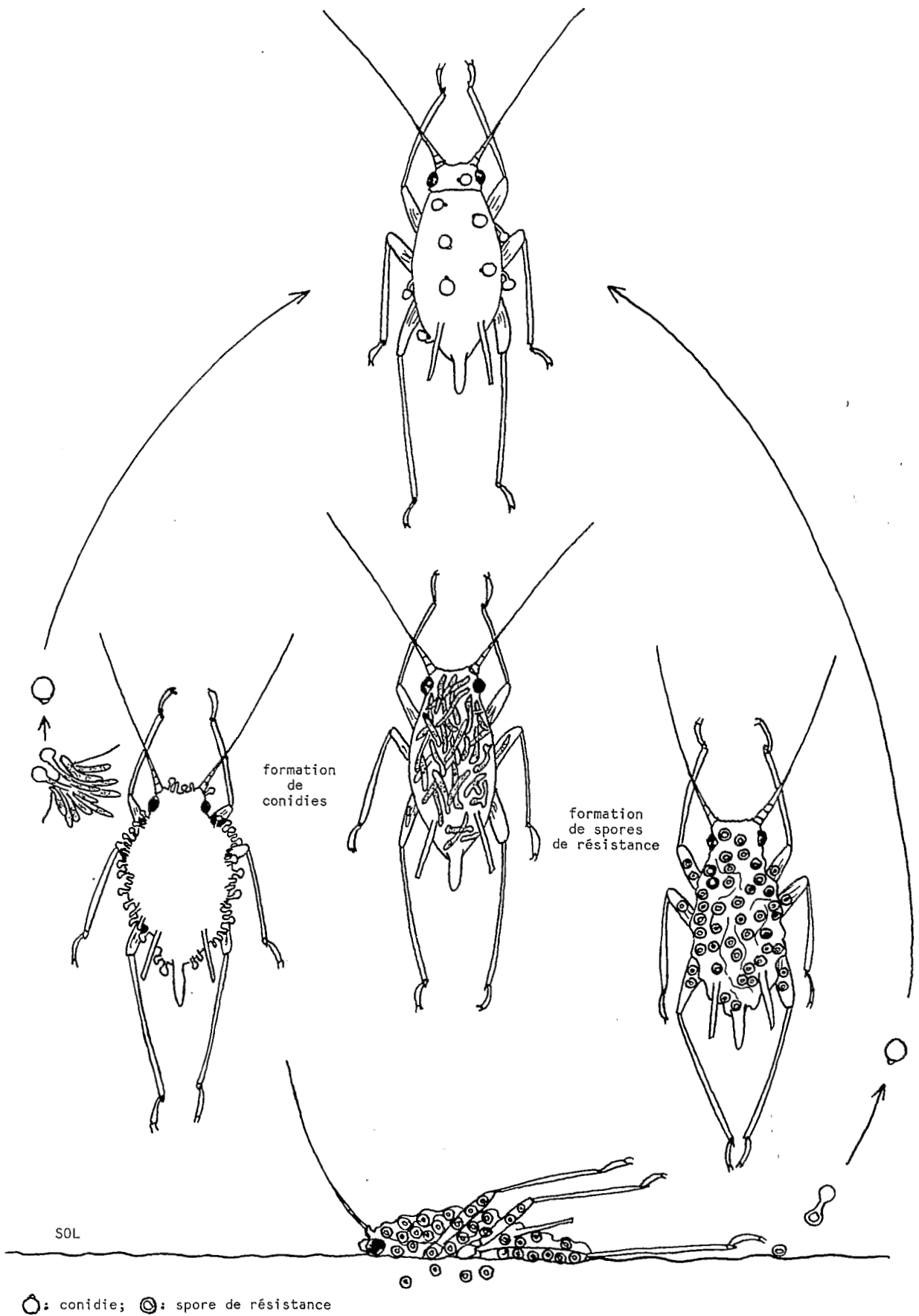


Figure 1

Cycle biologique type d'une Entomophthorale pathogène de pucerons d'après le cycle de *Conidiobolus obscurus* (Hall et Dunn) Remaudière et Keller (cf. BREY, 1987).

Typical biological cycle of an Entomophthorale aphid pathogen, after the cycle of *Conidiobolus obscurus* (Hall and Dunn) Remaudière and Keller (BREY, 1987).

Généralités sur les Entomophthorales

La figure 1 illustre le cycle biologique type d'une Entomophthorales s'attaquant aux insectes. Comme pour la quasi-totalité des champignons entomopathogènes, l'infection d'un insecte par une Entomophthorale se fait par la pénétration à travers le tégument du tube germinatif issu d'une conidie présente sur la cuticule. Ces conidies sont des spores à paroi mince, de taille le plus souvent comprise entre 20 et 40 μm . Une fois dans la cavité générale, le champignon se développe aux dépens des tissus de l'hôte sous forme, soit de protoplastes, soit de corps hyphaux; ceux-ci peuvent être des filaments courts souvent ramifiés ou des cellules pratiquement sphériques. L'insecte meurt au bout de quelques jours, lorsqu'il est complètement envahi. En fonction notamment des conditions de température et d'humidité, les éléments fongiques remplissant le cadavre évoluent soit en conidiophores qui produisent des conidies (appelées conidies primaires) à l'extérieur du cadavre, soit en spores de résistance. Le tapis de conidiophores qui se forme à la surface de l'insecte lui donne un aspect «moisi» caractéristique. Chez la majorité des espèces, les conidies une fois différenciées sont projetées à distance; l'ensemble de celles qui sont tombées aux environs immédiats du cadavre peut dessiner un halo visible à l'oeil nu. Les conidies primaires germent en donnant un tube germinatif ou une ou plusieurs conidies secondaires qui peuvent, elles-mêmes, donner un tube germinatif ou des conidies tertiaires et ainsi

de suite. C'est la pénétration à travers le tégument d'un insecte sain, d'un tube germinatif issu d'une conidie primaire ou d'ordre supérieur au contact de cet insecte, qui assure la propagation de la maladie. Les spores de résistance, qui ne sont pas mises en évidence chez toutes les espèces, sont généralement sphériques, à paroi épaisse, de diamètre le plus souvent compris entre 20 et 40 μm . En état de dormance chez la majorité des espèces, elles permettent la survie du champignon lorsque les conditions sont défavorables. Ces spores germent en émettant un tube germinatif qui évolue en conidiophore; celui-ci donne alors naissance à une conidie capable d'infecter un insecte.

Pour l'identification des espèces d'Entomophthorales, on utilise comme critères fondamentaux: la morphologie et la taille des conidies primaires et secondaires, leur mode de formation et de libération et la morphologie des conidiophores (REMAUDIÈRE et HENNEBERT, 1980; REMAUDIÈRE et KELLER, 1980) ainsi que certaines caractéristiques des noyaux (KELLER, 1987). Tous les degrés de spécificité parasitaire sont mis en évidence chez ces champignons entomopathogènes: selon les espèces, le spectre d'hôtes couvre plusieurs ordres d'insectes ou est restreint à un genre ou à quelques genres très voisins. Toutefois, la majorité des Entomophthorales apparaissent inféodées à une ou à plusieurs familles d'un même ordre.

Matériel et méthodes

Récolte des spécimens

Les insectes supposés morts d'entomophthorose sont prélevés avec le fragment de la plante-hôte sur lequel ils sont fixés; dans le cas où les insectes sont attachés à un support dur, pierre par exemple, on les détache délicatement avec des pinces en veillant à ne pas dissocier du cadavre les filaments fongiques qui éventuellement le fixent au substrat. Les cadavres sont emportés au laboratoire dans des boîtes aérées (figure 2). Des insectes apparemment sains peuvent être également prélevés sur le terrain, puis maintenus en élevage; cette procédure permet, s'il apparaît de la mortalité par mycose, de récolter des individus fraîchement tués par le champignon.

Obtention des différentes formes du champignon (figure 2)

Au laboratoire, les cadavres sont immédiatement observés à la loupe binoculaire, de manière notamment à examiner l'état des conidiophores éventuellement présents et à confirmer, le cas échéant, l'existence de rhizoïdes. Si le corps de l'insecte est recouvert de conidiophores défraîchis, ce qui donne à penser que sa mort remonte à plus de 24-48 h, le spécimen est placé directement dans l'alcool à 65 % ou conservé à sec. Si l'insecte mort ne porte

pas de conidiophores ou si, dans le cas contraire, les conidiophores présents paraissent frais, on le place immédiatement sur un morceau de papier filtre ou mieux de ouate de cellulose humidifié. L'imbibition du cadavre favorise, en effet, la formation des conidiophores et la production des conidies primaires. L'ensemble insecte + support humide est posé sur la face interne du couvercle d'une boîte de Petri de 60 mm de diamètre ou moins, qui est alors placé au-dessus d'une lame porte-objets ou d'une lamelle destinée à recueillir les conidies projetées. On prépare ainsi plusieurs lames (ou lamelles), chacune portant au minimum une centaine de conidies. Le cadavre est ensuite utilisé pour l'isolement du champignon ou directement placé dans l'alcool à 65 % ou maintenu à sec. Un même numéro d'identification est attribué à chaque cadavre et aux lames (ou lamelles) correspondantes.

Dans le cas où l'on a récolté un grand nombre de cadavres d'une même espèce d'insecte paraissant envahis par la même espèce d'Entomophthorale, on peut, pour des raisons de commodité, placer simultanément plusieurs spécimens sur papier filtre ou ouate de cellulose humidifiée au-dessus d'une lame. Toutefois, une telle façon de faire peut être source de confusion lorsqu'on se trouve en réalité en présence de plusieurs espèces fongiques.

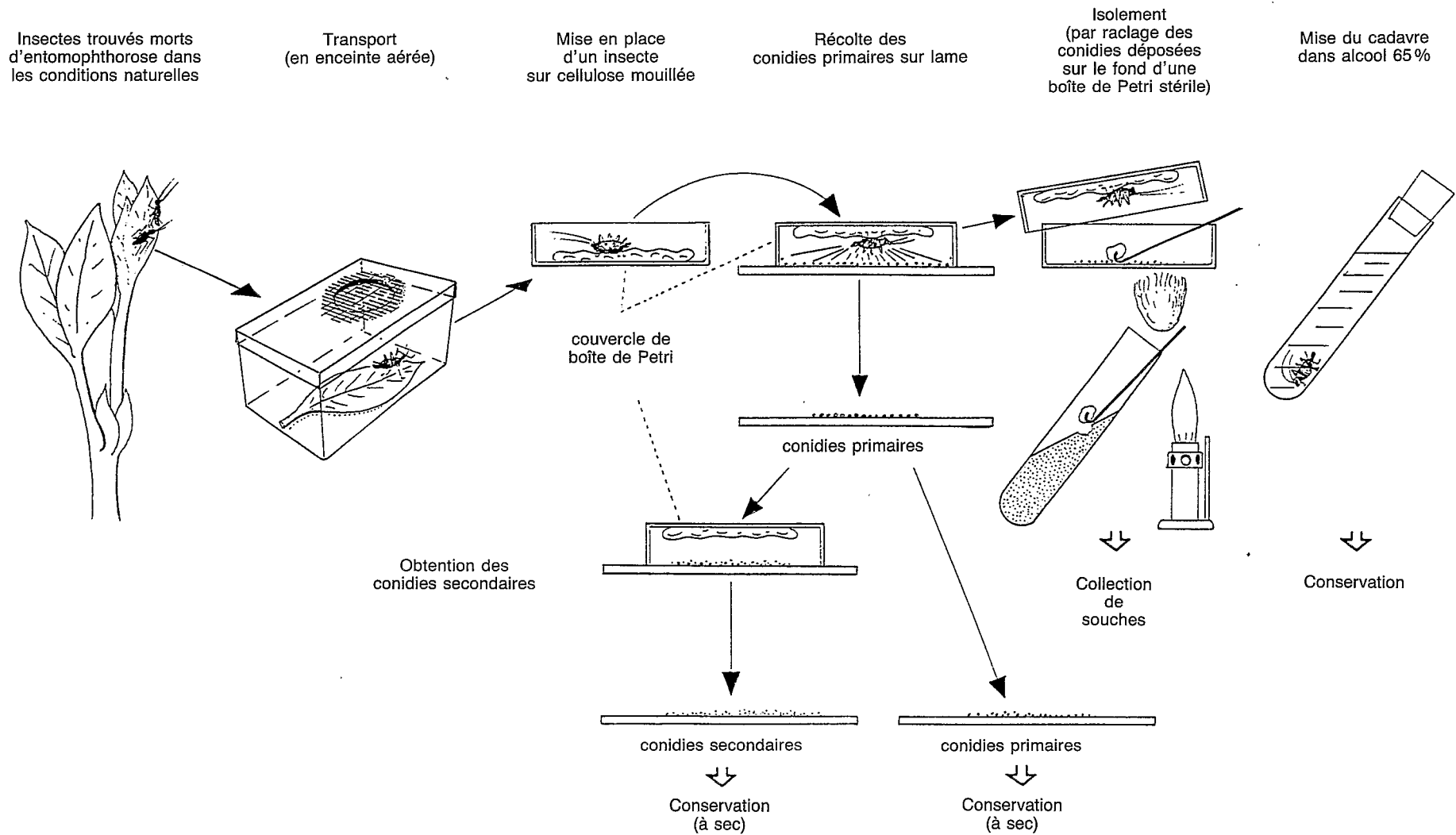


Figure 2
Phases successives de la préparation, aux fins d'étude, d'un insecte trouvé mort d'entomophthorose (récolte des différentes formes et isolement du champignon).
Successive phases of preparation of an insect killed by entomophthorosis (collection of different forms and isolation of the fungus).

Il est fortement recommandé, notamment sous les climats tropicaux, de ne pas maintenir le cadavre sur substrat humide au-delà d'une période de 12 h, et même moins si l'insecte portait déjà des conidiophores au moment où il a été prélevé, ce qui implique que toutes les opérations que nous décrivons soient effectuées le jour même de la récolte. On sait en effet que des champignons saprophytes, dont certaines espèces d'Entomophthorales, peuvent se développer secondairement sur le cadavre d'un insecte tué par une Entomophthorale pathogène (PAPIEROK, 1985). Les conidies de l'Entomophthorale saprophyte seront alors recueillies sur les lames avec celles du pathogène d'origine, d'où des risques de confusion dans l'interprétation des faits.

Les lames (ou lamelles) portant les conidies primaires sont réparties en 2 lots: le premier est conservé à sec, l'autre est placé immédiatement à l'humidité pour l'obtention de conidies secondaires. Pour ce faire, on place sur la lame un couvercle de boîte de Petri sur la face interne duquel a été déposé un morceau de papier filtre ou de ouate de cellulose humidifié (figure 2). Ces conditions permettent généralement d'obtenir en 12 à 24 h l'évolution des conidies primaires en conidies secondaires. Celle-ci peut éventuellement être gênée par une condensation plus ou moins importante à l'intérieur de la boîte. On contrôlera ce phénomène d'abord en veillant à ne pas trop imbiber d'eau le papier filtre ou la ouate de cellulose, ensuite en éloignant plus ou moins de la lame (ou lamelle) le couvercle de la boîte.

Isolement de l'agent de la mycose (figure 2)

L'isolement de l'agent responsable d'une entomophthorose sera seulement tenté lorsqu'on sera déjà familiarisé avec la manipulation d'insectes envahis par le champignon. Cette opération nécessite de toute manière un matériel particulier (boîtes de Petri stériles, tubes et éventuellement boîtes de Petri contenant du milieu de culture) et doit se faire à proximité de la flamme.

Dans le sud du Tchad, en 1986 et en 1987, des Entomophthorales ont été trouvées sur quatre insectes vivant aux dépens du cotonnier: *Aphis gossypii* Glover (Homoptères Aphididae), *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptères Aleyrodidae), *Maconellicoccus hirsutus* (Green) (Homoptères Pseudococcidae) et *Frankliniella schultzei* (Trybom) (Thysanoptères Thripidae). Des épizooties ayant uniquement été reconnues dans les populations de l'aphide et dans celles de l'aleurode, il sera seulement question ici des deux espèces d'Entomophthorales en cause.

Caractéristiques de l'entomophthorose d'*Aphis gossypii*

La mycose a été observée dans différentes localités, au sud du Tchad (Bébedjia, Pont-Carol, Sarh, Péni, Doyaba et

On procède de la manière suivante. Dès que plusieurs lames (ou lamelles) portant des conidies ont été préparées, le couvercle de la boîte de Petri à l'intérieur duquel est apposé l'ensemble insecte + support humide est placé au-dessus d'un fond stérile. Les conidies recueillies sont récupérées à l'aide d'un fragment de milieu à base de jaune d'oeuf et de lait (PAPIEROK et CHARPENTIE, 1982) frotté sur le fond de la boîte de Petri, puis repiquées dans le tube de culture. On peut éventuellement tenter l'isolement en plaçant le couvercle avec le cadavre sur le fond d'une boîte de Petri contenant du milieu. Une fois le champignon mis en culture, la souche est entretenue sur un milieu à base de gélose de Sabouraud, de jaune d'oeuf et de lait (PAPIEROK, 1978).

Comme pour l'obtention des différentes formes du champignon, l'isolement doit être réalisé dans les 12 h suivant la mise du cadavre sur support humide. Au delà, il y a en effet augmentation du risque de contamination par des bactéries ou par des champignons saprophytiques, dont certaines Entomophthorales comme par exemple *Conidiobolus coronatus* (Costantin) Batko (PAPIEROK, 1985).

Identification

En vue de l'identification du pathogène, les conidies primaires et secondaires conservées à sec sur les lamelles (ou lames) sont montées au bleu coton-lactophénol et observées au microscope. Les mensurations (longueur et largeur) sont effectuées sur 50 unités au minimum. Les structures fongiques (corps hyphaux, conidiophores, éventuellement spores de résistance et rhizoïdes) associées au cadavre sont observées et mesurées au microscope après écrasement du spécimen dans le bleu coton-lactophénol entre lame et lamelle. Le champignon est nommé suivant la classification générique des Entomophthorales à potentialité entomopathogène retenue par KELLER (1987).

Résultats

Bekamba), en août, septembre et octobre. Des taux d'infection élevés, pouvant dépasser 70 % (comme à Bébedjia en 1987, figure 3), ont été notés; ils correspondent à la chute brutale des effectifs de la population-hôte.

Les pucerons tués par le champignon (larves et adultes) ont été rencontrés à la face inférieure des feuilles. Lorsque les effectifs de l'Homoptère étaient élevés, ils se trouvaient notamment dans la zone proche de l'insertion du pétiole. Les cadavres étaient fixés au végétal par leurs stylets insérés dans les nervures. Leurs pattes étaient écartées, ainsi que leurs ailes, le cas échéant. Plusieurs types de cadavres ont été notés.

- Premier type, le moins fréquent: cadavres de couleur noire et à corps mou, se déformant sous la pression

modérée d'une pince. Ces spécimens se distinguent aisément des pucerons parasités par des Hyménoptères, dont le corps est gonflé et dur. L'observation de ces cadavres au microscope a révélé la présence de spores à paroi épaisse, de couleur brun-foncée à noire, de forme elliptique à subovoïde et pouvant présenter à une extrémité

un court fragment de mycélium correspondant au point d'attachement de la spore sur l'hyphe; ce sont des spores de résistance (figures 4 et 5). Certains des cadavres remplis de ce type de spores avaient éclaté et le matériel fongique ainsi libéré était parfois visible sur les feuilles.

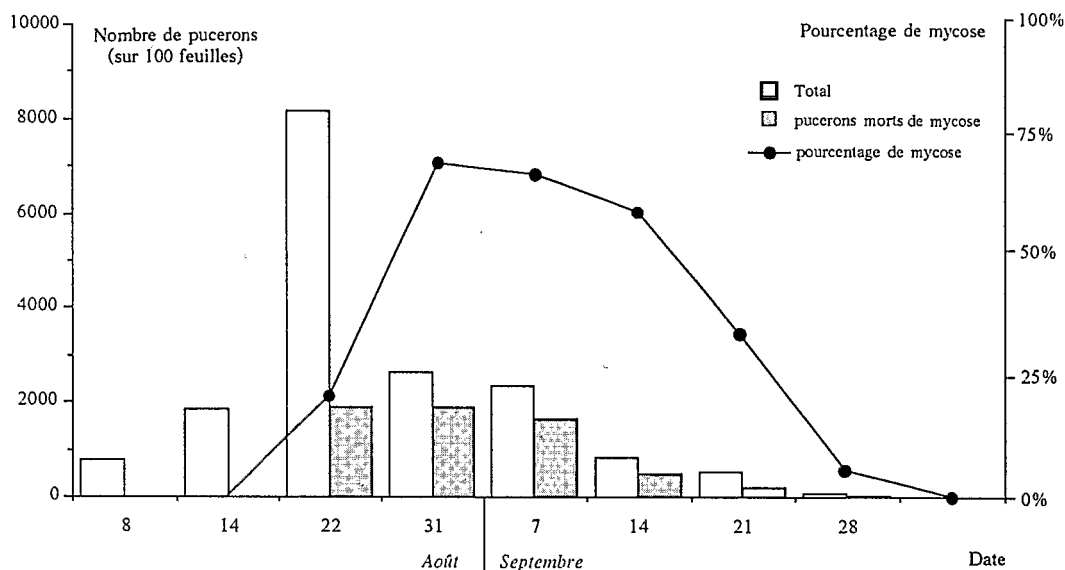


Figure 3

Dynamique de la population d'*Aphis gossypii* dans une parcelle de cotonniers à Bébedjia (Tchad), en août-septembre 1987 (dénombrement sur 100 feuilles prélevées au hasard sur un total de 6 400 plants). Variations des effectifs totaux, du nombre d'individus tués par *Neozygites fresenii* et du pourcentage de mycose. Les observations ont révélé également un parasitisme des pucerons par Hyménoptères mais les taux, n'ayant jamais dépassé 5 %, ne sont pas figurés ici.

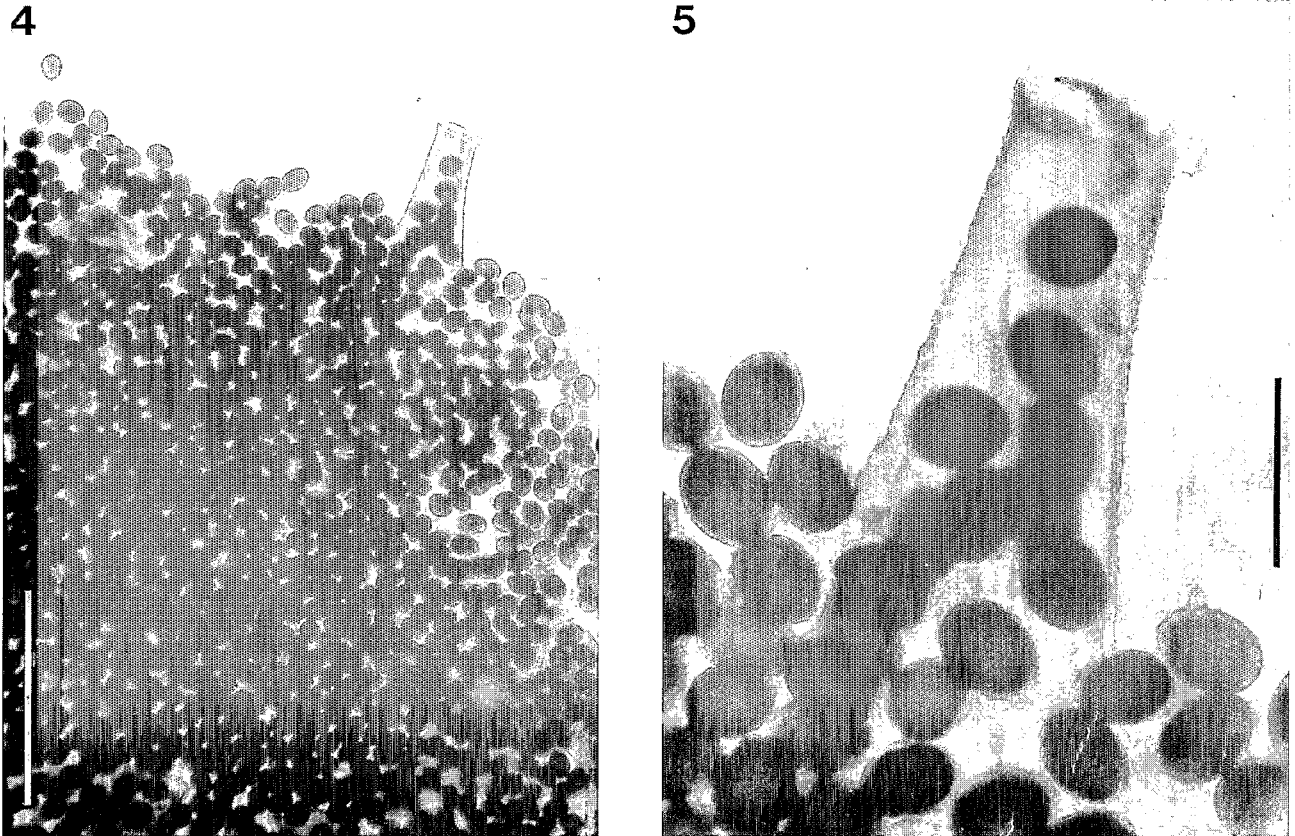
Population dynamics of *Aphis gossypii* in a cotton field at Bébedjia (Chad) in August-September 1987 (count on 100 leaves collected at random from a total of 6,400 plants). Variations in total number, specimens killed by *Neozygites fresenii* and the percentage of mycosis. The observations also revealed that aphids were parasitized by Hymenoptera, but the rates never exceeded 5 % and are not shown here.

- Deuxième type: cadavres de couleur blanche à jaun doré, à tégument intact et à corps gonflé, l'intérieur étant d'aspect granuleux. Lorsqu'ils sont mis sur substrat humide, il se forme à leur surface des conidiophores simples. Le cadavre prend alors un aspect brillant lorsqu'il est observé sous éclairage artificiel, à la loupe binoculaire. Les conidiophores projettent des spores à paroi mince (conidies primaires), qui ont une forme de montgolfière; elles sont sphériques ou très légèrement ovoïdes, à symétrie axiale, avec un apex arrondi et une papille basale sans épaulement (figure 6). A l'humidité, ces conidies peuvent donner naissance à deux types de conidies secondaires; soit il se forme, à l'extrémité d'un conidiophore court (quelques mm) et trapu, une conidie semblable à la primaire mais de taille légèrement plus faible (conidie secondaire du premier type), soit il se forme, à l'extrémité d'un tube capillaire de 30-40 mm de longueur, une conidie amygdaliforme, à symétrie bilatérale, avec une partie basale largement arrondie et une partie apicale subconique surmontée d'un disque ou d'une gouttelette adhésive (figure 7). Ces conidies secondaires, appelées capilloconidies, sont détachées passivement.

- Troisième type: cadavres de couleur blanc-brillant et présentant un aspect gonflé. Ces cadavres sont recouverts d'un tapis de conidiophores qui produisent des conidies primaires identiques à celles que nous venons de décrire.

- Quatrième type: cadavres présentant un aspect desséché et recouverts d'une fine pulvérulence blanche. Au microscope, on remarque à leur surface la présence des différents types de conidies décrits ci-dessus.

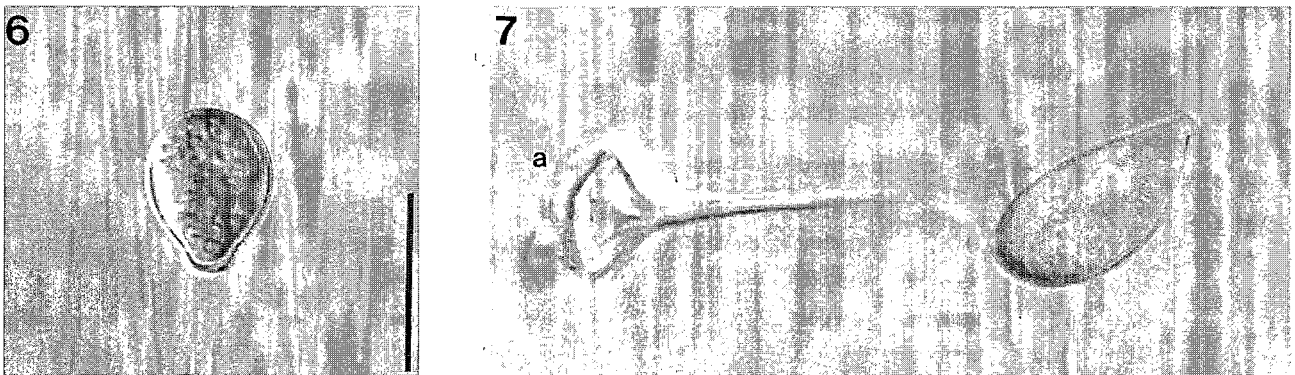
- Cinquième type: cadavres de couleur gris-noir et généralement recouverts d'un enchevêtrement de filaments de champignons saprophytes. Des capilloconidies, accolées aux pattes ou aux antennes, ont été observées chez quelques-uns de ces spécimens; ceux-ci doivent donc être regardés comme des insectes dont la mort par entomophthorose remonte à quelques jours. La formation des conidiophores, puis la production de conidies ont déjà eu lieu. Le cadavre et les structures de l'Entomophthorale ont été subséquemment envahis par des contaminants.



Figures 4 et 5

Partie distale de l'abdomen d'un cadavre d'*Aphis gossypii* rempli de spores de résistance de *Neozygites fresenii*. Noter la présence de spores dans la cornicule (échelle de la figure 4 : 200 μm ; échelle de la figure 5 : 50 μm).

Distal part of the abdomen of an *Aphis gossypii* cadaver filled with *Neozygites fresenii* resistance spores. Note the spores in the nectary (scale figure 4: 200 μm ; scale figure 5: 50 μm).



Figures 6 et 7

Conidie primaire (6) et capilloconidie formée à partir d'une conidie primaire (7) de *Neozygites fresenii*. Noter, sur la figure 7, l'aspect du "fantôme" (a) de la conidie primaire qui a évolué en capilloconidie (échelle : 20 μm).

Primary conidium (6) and capilloconidium formed from a *Neozygites fresenii* primary conidium (7). The "ghostly" appearance (a) of the primary conidium which has developed as a capilloconidium should be noted (scale: 20 μm).

La morphologie et la taille (tableau 1) des différentes structures de l'Entomophthorale trouvée sur *Aphis gossypii* au Tchad correspondent à celles de *Neozygites fresenii* (Nowakowski) Remaudière et Keller (= *Entomophthora fresenii* (Nowakowski) Gustafsson = *Empusa fresenii*

Nowakowski). Cette espèce étant connue pour ne pas se développer en milieu de culture *in vitro*, aucune tentative d'isolement n'a été réalisée à partir des cadavres d'*Aphis gossypii* que nous avons récoltés.

TABLEAU 1

Dimensions de différents types de spores de l'Entomophthorale *Neozygites fresenii* observée sur des pucerons *Aphis gossypii* dans le sud du Tchad (\bar{x} : moyenne sur 50 spores provenant du même individu).

Dimensions of the different types of spore of Neozygites fresenii (Entomophthorales) on Aphis gossypii in southern Chad (x, average for 50 spores from the same specimen).

Type de spores	Longueur (μm) $\bar{x} \pm \text{SV}\bar{n}$; extrêmes	Largeur (μm) $\bar{x} \pm \text{SV}\bar{n}$; extrêmes
Conidies primaires		
Individu A	17,6 \pm 0,7 ; 16,7-19,2	15,0 \pm 0,9 ; 14,1-16,7
Individu B	17,4 \pm 0,8 ; 15,4-17,9	14,4 \pm 0,8 ; 12,8-15,4
Conidies secondaires de type capilloconidie		
Individu A	18,8 \pm 1,6 ; 16,7-21,8	12,4 \pm 0,6 ; 11,5-12,8
Individu B	18,1 \pm 1,5 ; 15,4-23,1	11,7 \pm 0,9 ; 10,3-15,4
Spores de résistance		
Individu C	27,6 \pm 1,8 ; 21,8-33,3	19,7 \pm 1,6 ; 16,7-23,1

Individu A : lot n° C 105, récolté à Pont-Carol, 27 août 1986 ; individu B : lot n° C 132, récolté à Bébedjia, 26 août 1986 ; individu C : lot n° C 464, récolté à Bébedjia, 31 août 1987.

Specimen A: batch C 105, collected at Pont-Carol on 27 August 1986; specimen B: batch C 132, collected at Bébedjia on 26 August 1986; specimen C: batch C 464, collected at Bébedjia on 31 August 1987.

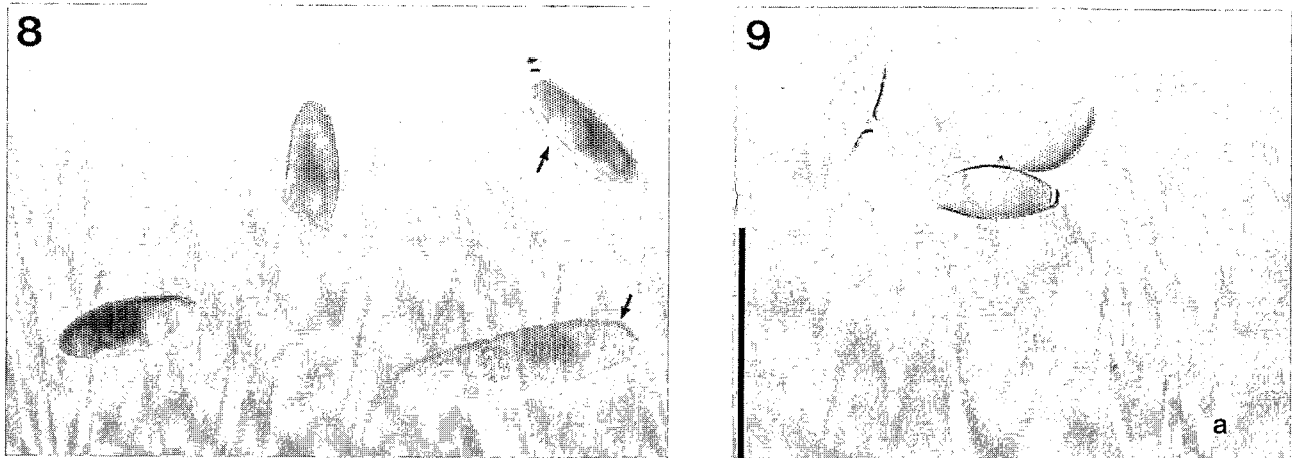
Caractéristiques de l'entomophthorose de *Bemisia tabaci*

En 1986 et en 1987, une entomophthorose a sévi dans les populations adultes de *Bemisia tabaci* évoluant sur coton à Bébedjia. Des cadavres ont également été récoltés à Péni et aux environs de Koumra (Maïtama). Le caractère épizootique de la maladie a cependant été moins net en 1987 qu'en 1986. Aucune larve n'a été trouvée morte de mycose.

Les aleurodes tués par le champignon ont été observés à partir du mois d'août et jusqu'en septembre. Leur position sur la face inférieure des feuilles fortement infestées est caractéristique: les ailes sont écartées et les stylets insérés dans le végétal. Les cadavres sont fixés au substrat par un, exceptionnellement deux, rhizoïdes opaques, subcylindriques, formés de filaments accolés les uns aux autres. Issus de la partie médiane de la face ventrale, entre la tête et le thorax, ces rhizoïdes s'élargissent au contact de

la plante en une plaque rayonnante subcirculaire. Un autre type de rhizoïdes, fins et hyalins, est également observé.

L'espèce fongique en cause appartient au genre *Zoophthora* Batko. Il s'agit d'une espèce inédite qui, comme toutes les espèces de ce genre, a des conidiophores ramifiés, des conidies primaires à symétrie axiale, composées d'un corps à paroi bituniquée, lisse et hyaline et d'une papille basale séparée du corps par un épaulement et à paroi simple et des conidies secondaires qui sont, soit morphologiquement semblables aux primaires, soit de type capilloconidie. Cependant, chez le genre *Zoophthora*, les conidies secondaires de ce type sont dépourvues de dispositif adhésif, contrairement à ce que l'on observe chez le genre *Neozygites*. La description proprement dite de l'espèce trouvée sur *Bemisia tabaci* devant être présentée par ailleurs, nous illustrons ici la morphologie respective des conidies primaires et des capilloconidies chez le genre *Zoophthora* à l'aide de l'espèce *Zoophthora phytonomi* (Arthur) Batko (figures 8 et 9).



Figures 8 et 9

Morphologie des conidies primaires (8) et des capilloconidies (9) formées à partir de conidies primaires chez le genre *Zoophthora* : exemple de *Z. phytonomi*.

Noter, sur la figure 8, l'épaule séparant le corps de la conidie primaire de la papille ainsi que la paroi bituniquée et, sur la figure 9, l'aspect du "fantôme" (a) de la conidie primaire qui a évolué en capilloconidie (échelle : 30 µm).

Morphology of primary conidia (8) and capilloconidia (9) formed from primary conidia of the genus *Zoophthora*: the example of *Z. phytonomi*.

Note in figure 8 the collar separating the bitunicate body of the primary conidia from the papilla and, in figure 9, the "ghostly" appearance (a) of the primary conidium which has developed as a capilloconidium (scale: 30 µm).

Discussion et conclusion

Dans le sud du Tchad, la présence de *Neozygites fresenii* et de *Zoophthora* sp. dans les populations respectives d'*Aphis gossypii* et de *Bemisia tabaci* a été observée, en 1986 comme en 1987, dans la seconde moitié de la saison des pluies. Pour les deux pathogènes, le processus épizootique a été plus marqué en 1986 que l'année suivante. Une explication de ce phénomène est à rechercher dans les différences de pluviométrie entre les deux années: la pluviométrie plus importante de 1986 (1104 mm contre 862 mm en 1987, à Bébedjia) s'est en effet très probablement traduite par des conditions d'humidité plus favorables à la propagation des mycoses dans les populations-hôtes.

Neozygites fresenii est une espèce inféodée aux pucerons. Les espèces du genre *Aphis* et en particulier celles du groupe *fabae* et du groupe *craccivora* en sont les hôtes les plus communs (REMAUDIÈRE *et al.*, 1981). Sa présence sur *A. gossypii* a déjà été signalée en Afrique intertropicale: Ouganda (HARGREAVES, *in* PEARSON, 1958), Côte-d'Ivoire (DUVIARD et MERCADIER, 1973; B. PAPIEROK et G. REMAUDIÈRE, communication personnelle), Tanzanie (EBBELS et ALLEN, 1979), Burundi (REMAUDIÈRE et AUTRIQUE, 1985). Nous l'avons également observée sur le même puceron au Togo. Les observations réalisées dans le sud du Tchad confirment les possibilités d'expansion épizootique de ce champignon qui est probablement le pathogène d'aphides le plus commun à basse altitude en zone tropicale (PAPIEROK,

1987). A ce jour, toutefois, *Neozygites fresenii* n'y a pas fait l'objet d'études écologiques approfondies comme cela a été le cas en zone tempérée, notamment dans les populations d'*Aphis fabae* Scopoli évoluant sur féverole en Bretagne (ROBERT *et al.*, 1973; RABASSE et ROBERT, 1975; DEDRYVER, 1978; RABASSE et DEDRYVER, 1982) et en Angleterre (WILDING et PERRY, 1980).

Le cas de l'espèce de *Zoophthora* pathogène de *Bemisia tabaci* est remarquable à plusieurs titres. D'une part, c'est la première fois qu'une Entomophthorale est trouvée sur un Homoptère de la famille des Aleyrodidae (SILVIE, *in* PAPIEROK, 1987); depuis, *Zoophthora radicans* (Brefeld) Batko a été signalé sur Aleyrodidae en Israël (BEN ZE'EV *et al.*, 1988). D'autre part, il faut remarquer que le genre *Zoophthora* a été rarement observé sous les latitudes tropicales. A notre connaissance, seules trois espèces y ont été mises en évidence à ce jour: *Z. radicans*, *Zoophthora phalloides* Batko et *Zoophthora canadensis* (MacLeod *et al.*) Remaudière et Hennebert, la première étant plus souvent signalée que les deux autres. *Z. phalloides*, espèce inféodée aux pucerons, n'a été récolté que sur un nombre limité d'individus au Burundi (REMAUDIÈRE et AUTRIQUE, 1985) ainsi qu'au Mexique (REMAUDIÈRE et LATGE, 1985). Récemment, LI *et al.* (1989) ont mentionné des épizooties dues à *Z. canadensis* dans des populations de *Cinara pinea* (Mordvilko) au sud de la

Chine (Homoptères Aphididae). Quant à *Zoophthora radicans*, qui est l'une des Entomophthorales les plus polyphages, sa présence a été reconnue sur différents insectes prédateurs des cultures. Signalée sur *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lépidoptères Noctuidae) au Brésil (HOFFMANN *et al.*, 1979), sur Homoptères Aphididae au Mexique (REMAUDIÈRE et LATGE, 1985) et sur Homoptères Cicadellidae du genre *Empoasca* au Brésil (WRAIGHT *et al.*, 1986), cette Entomophthorale s'est révélée capable de jouer un rôle d'ennemi naturel actif vis-à-vis de *Dysdercus* spp. (Hétéroptères Pyrrhocoridae) sur cotonnier en Ouganda (HARGREAVES et TAYLOR, 1936), vis-à-vis des chenilles de *Plutella xylostella* (L.) (Lépidoptères Yponomeutidae) sur chou en Malaisie (OOI, 1979, 1981; B. PAPIEROK, communication personnelle) comme aux Philippines (VELASCO, 1983) et vis-à-vis des chenilles de *Ectopis obliqua hypulina* Weh.

(Lépidoptères Geometridae) sur théier en Chine (LI *et al.*, 1989). En définitive, l'aptitude de *Zoophthora* sp. à se propager d'une manière épizootique dans les peuplements de *Bemisia tabaci* souligne le rôle que peuvent jouer des espèces d'Entomophthorales du genre *Zoophthora* dans la régulation naturelle des populations de certains ravageurs sous les tropiques.

Les observations effectuées dans le sud du Tchad doivent être considérées comme préliminaires. Il est clair en effet qu'une intensification des recherches écologiques est indispensable, un des objectifs étant notamment de déterminer les facteurs conditionnant l'implantation et la propagation de la mycose à *Zoophthora* sp. dans les populations de cet important ravageur du cotonnier qu'est *Bemisia tabaci*.

Références bibliographiques

- BEN ZE'EV I.S., ZELIG Y., BITTON S., KENNETH R.G., 1988.- The Entomophthorales of Israel and their arthropod hosts; additions 1980-1988. *Phytoparasitica*, 16 : 247-257.
- BREY P.T., 1987.- Pathologie comparée de l'infection fongique d'insectes aériens (puçerons) et aquatiques (larves de moustiques) par deux Phycomycètes. *Thèse Doctorat ès Sciences, université Pierre et Marie Curie, Paris VI*, 195 p.
- CHAPMAN R.F., PAGE W.W., 1979.- Factors affecting the mortality of the grasshopper, *Zonocerus variegatus*, in southern Nigeria. *J. Anim. Ecol.*, 48 : 271-288.
- DEDRYVER C.A., 1978.- Facteurs de limitation des populations d'*Aphis fabae* dans l'Ouest de la France. III. Répartition et incidence des différentes espèces d'*Entomophthora* dans les populations. *Entomophaga*, 23 : 137-151.
- DUVIARD D., MERCADIER G., 1973.- Les invasions saisonnières des puçerons en culture cotonnière: origine et mécanismes. *Coton Fibres Trop.*, 28 : 483-491.
- EBBELS D.L., ALLEN D.J., 1979.- A supplementary and annotated list of plant diseases, pathogens and associated fungi in Tanzania. *Phytopathological Papers*, 22, 89 p.
- HARGREAVES H., TAYLOR T.H.C., 1936.- Report on investigations of cotton stainers (*Dysdercus* spp.). *Report Depart. Agric. Uganda*, 3 : 9-32.
- HOFFMANN C.B., NEWMAN G.G., FOERSTER L.A., 1979.- Incidência estacional de doenças et parasitas en populações naturais de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 e *Plusia* spp. em soja. *An. Soc. Entomol. Braz.*, 8 : 115-124.
- KELLER S., 1987.- Arthropod-pathogenic Entomophthorales of Switzerland. I. *Conidiobolus*, *Entomophaga* and *Entomophthora*. *Sydowia*, 40 : 122-167.
- LE RÜ B., 1986.- Etude de l'évolution d'une mycose à *Neozygites fumosa* (Zygomycètes, Entomophthorales) dans une population de la Cochenille du manioc *Phenacoccus manihoti* (Hom.: Pseudococcidae). *Entomophaga*, 31 : 79-89.
- LE RÜ B., SILVIE P., PAPIEROK B., 1985.- L'Entomophthorale *Neozygites fumosa* pathogène de la Cochenille du manioc, *Phenacoccus manihoti* (Hom.: Pseudococcidae), en République populaire du Congo. *Entomophaga*, 30 (1) : 23-29.
- LI Z.Z., WANG J.L., LU X.X., 1989.- Two Entomophthoralean Fungi causing extensive epizootics in forest and tea plants pests. *Acta mycol. Sinica*, 8 : 81-85.
- OOI P.A.C., 1979.- The natural enemies of *Plutella xylostella* (L.) in Cameron Highlands, Malaysia. *Malays. agric. J.*, 52 : 77-84.
- OOI P.A.C., 1981.- Microbial control of the diamond-back moth in Cameron Highlands, Malaysia. *Malays. appl. Biol.*, 10 : 9-56.

- PAGE W.W., 1978.- The biology and control of the grasshopper *Zonocerus variegatus*. *Pans*, 24 : 270-277.
- PAPIEROK B., 1978.- Obtention *in vivo* des azygospores d' *Entomophthora thaxteriana* Petch, champignon pathogène de pucerons (Homoptères Aphididae). *C.R. Acad. Sci. Paris*, 286, série D, 1503-1506.
- PAPIEROK B., 1985.- Données écologiques et expérimentales sur les potentialités entomopathogènes de l'Entomophthorale *Conidiobolus coronatus* (Costantin) Batko. *Entomophaga*, 30 : 303-312.
- PAPIEROK B., 1987.- Importance des champignons Entomophthorales dans la régulation naturelle de populations d'Insectes d'intérêt économique en zone tropicale. *Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent*, 52 (2a) : 165-169.
- PAPIEROK B., 1989.- On the occurrence of Entomophthorales (Zygomycetes) in Finland. I. Species attacking aphids (Homoptera, Aphididae). *Ann. Entomol. Fennici*, 55 : 63-69.
- PAPIEROK B., CHARPENTIE M.J., 1982.- Les Champignons se développant en Côte-d'Ivoire sur la Fourmi *Paltothyreus tarsatus* F. Relation entre l'Hyphomycète *Tilachlidiopsis catenulata* sp. nov. et l'Ascomycète *Cordyceps myrmecophila* Cesati 1846. *Mycotaxon*, 14 : 351-368.
- PEARSON E.O., 1958. The insects pests of cotton in tropical Africa. *Emp. Cott. Grow-Corp.*, London, 356 p.
- RABASSE J.M., DEDRYVER C.A., 1982.- Facteurs de limitation des populations d'*Aphis fabae* dans l'Ouest de la France. IV. Nouvelles données sur le déroulement des épizooties à Entomophthoracées sur féverole de printemps. *Entomophaga*, 27 : 39-53.
- RABASSE J.M.; ROBERT Y., 1975.- Facteurs de limitation des populations d'*Aphis fabae* dans l'Ouest de la France. II. Incidence des mycoses à *Entomophthora* sur les populations des hôtes primaires de la féverole de printemps. *Entomophaga*, 20 : 49-63.
- REMAUDIERE G., AUTRIQUE A., 1985.- Contribution à l'écologie des Aphides africains. *Etude FAO : Prod. végét. Prot. Pl.*, 64 : 1-214.
- REMAUDIERE G.; HENNEBERT G.L., 1980.- Révision systématique de *Entomophthora aphidis* Hoffm. in Fres. Description de deux nouveaux pathogènes d'Aphides. *Mycotaxon*, 11 : 269-321.
- REMAUDIERE G., KELLER S., 1980.- Révision systématique des genres d'Entomophthoraceae à potentialité entomopathogène. *Mycotaxon*, 11 : 323-338.
- REMAUDIERE G., LATGE J.P., 1985.- Importancia de los hongos patógenos de Insectos (especialmente Aphididae y Cercopidae) en Méjico y perspectivas de uso. *Bol. Serv. Plagas*, 11 : 217-225.
- REMAUDIERE G., KELLER S., PAPIEROK B., LATGE J.P., 1976.- Considérations systématiques et biologiques sur quelques espèces d'*Entomophthora* du groupe *sphaerosperma* pathogènes d'insectes (Phycomycètes: Entomophthoraceae). *Entomophaga*, 21 : 163-177.
- REMAUDIERE G., LATGE J.P., MICHEL M.F., 1981.- Ecologie comparée des Entomophthoracées pathogènes de Pucerons en France littorale et continentale. *Entomophaga*, 26 : 157-178.
- ROBERT Y., RABASSE J.M., SCHELTE P., 1973.- Facteurs de limitation des populations d'*Aphis fabae* Scop. dans l'Ouest de la France. I. Epizootologie des maladies à Entomophthorales sur féverole de printemps. *Entomophaga* 18 : 61-75.
- VELASCO L.R.I., 1983.- Field parasitism of *Apanteles plutellae* Kurdj. (Braconidae, Hymenoptera) on the diamondback moth of cabbage. *Philipp. Entomol.*, 6 : 539-553.
- WILDING N., PERRY J.N., 1980.- Studies on *Entomophthora* in populations of *Aphis fabae* on field beans. *Ann. Appl. Biol.*, 94 : 367-378.
- WRAIGHT S.P., GALAINI-WRAIGHT S., CARRUTHERS R.I., ROBERTS D.W., 1986.- Field transmission of *Erynia radicans* to *Empoasca* leafhoppers in alfalfa following application of a dry, mycelial preparation. In R.A. Samson, J.M. Vlask & D. Peters (Ed.). *Fundamental and applied Aspects of Invertebrate Pathology. IVth International Colloquium of Invertebrate Pathology*, Wageningen, p. 233.

Natural enemies of insect pests on cotton in Chad: preliminary data on entomophthoralean fungi

P. Silvie and B. Papierok

Summary

Epizootics caused by Entomophthorales (Zygomycetes) affected *Aphis gossypii* and adult *Bemisia tabaci* populations in southern Chad in 1986 and 1987. In this first report on species of this group occurring in Chad, the authors describe the biological cycle and the general morphology of these fungi. The methodology is covered in detail as proper collection and preparation of insects killed by an Entomophthorale is essential for accurate identification of the fungus. Mycosis symptoms in *Aphis gossypii* and the morphology of resting spores, primary conidia and capilloconidia

are described in *Neozygites fresenii*, the agent of the disease. Entomophthorosis in adult *Bemisia tabaci* is caused by a new *Zoophthora* species which is to be described in full elsewhere. However, the authors present the symptoms of the disease and illustrate with another species the characteristic morphology of primary conidia and capilloconidia in the genus *Zoophthora*. No Entomophthorale was known to infect *Bemisia tabaci* until the observation performed in Chad in 1986 and 1987.

KEY WORDS: cotton, insect, Entomophthorale, *Aphis gossypii*, *Neozygites fresenii*, *Bemisia tabaci*, *Zoophthora* sp., epizootics, Chad.

Introduction

The order Entomophthorales (Zygomycetes) comprises over a hundred species which are parasitic on insects or mites. The fungi are responsible with varying degrees of regularity for spectacular epizootics causing sharp decreases in host populations. Observers notice then a large number of dead insects fixed to the plants by their legs, mouths and possibly by rhizoids, specialised hyphae pushing out from the ventral surface to anchor the body firmly to the substrate.

Entomopathogenic Entomophthorales are found from the Arctic Circle to the Equator and have been studied mainly in temperate regions. Recognition of the significant role that some of these fungi can play in the regulation of the populations of economically important insects in the tropics has only been clearly understood for about a decade (PAPIEROK, 1987); this is the case in particular in *Zonocerus variegatus* (L.) (Orthoptera, Pyrgomorphidae) in southern Nigeria (PAGE, 1978; CHAPMAN and PAGE, 1979), cassava mealybug, *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero (Homoptera, Pseudococcidae) in the Brazzaville

area (LE RÜ *et al.*, 1985; LE RÜ, 1986) and «mosca pinta», *Aeneolamia albofasciata* Fennah (Homoptera, Cercopidae), one of the most serious pasture pests in southern Mexico (REMAUDIÈRE and LATGE, 1985). However, the data in the literature on the Entomophthorales active in insects or mites which attack cotton are rare and often fragmentary, with the exception of the work mentioned above on the grasshopper *Zonocerus variegatus*.

The two Entomophthorales mycoses most frequently observed during regular survey of insect populations on cotton in Chad (mainly in Bébedjia in the south) in 1986 and 1987 are discussed here. A general description of these fungi and their biological cycle is provided first. The collection and investigation methods used are then described in detail, even though they have been presented elsewhere (REMAUDIÈRE *et al.*, 1976; PAPIEROK, 1989). Only scrupulous application of these methods indeed gives the different morphological data required for identification purposes.

The Entomophthorales

Figure 1 shows the typical biological cycle of an insect-attacking Entomophthorale. As in almost all entomopathogenic fungi, infection is by penetration through the integument of the germinative tube originated from a conidium in contact with cuticle. Conidia are thin-walled

spores frequently measuring 20 to 40 µm. Once in the main cavity, the fungus develops at the expense of the host tissue either as protoplasts or as hyphae; the latter may be short, frequently ramified filaments or practically spherical cells. The insect dies after several days when it has been

completely colonised. Depending in particular on temperature and moisture conditions, the fungal bodies filling the dead insect either develop as conidiophores which produce conidia (referred to as primary conidia) outside the body or as resting spores. The layer of conidiophores on the surface of the insect gives it a characteristic mouldy appearance. In most species, conidia are projected for a certain distance. Those falling in the immediate vicinity of the body form a halo which can be seen with the naked eye. The primary conidia germinate, growing a germ tube or one or more secondary conidia which may in turn grow a germ tube or tertiary conidia, etc. The disease is spread by the penetration of the integument of a healthy insect by a germ tube from a conidium (primary or other) in contact with the insect. Resting spores, which are not found in all species, are generally spherical, thick-walled and generally 20 to 40 μm in

diameter. They are dormant in most species and enable the fungus to survive unfavourable conditions. They germinate by growing a conidiophore which produces conidia capable of infecting insects.

The following basic criteria are used to identify Entomophthorales: morphology and size of primary and secondary conidia, their formation and release and the morphology of the conidiophores (REMAUDIÈRE and HENNEBERT, 1980; REMAUDIÈRE and KELLER, 1980) as well as certain nucleus characteristics (KELLER, 1987). All degrees of parasite specificity have been observed in these entomopathogenic fungi; depending on the species, the host spectrum may cover several orders of insects or be limited to a single genus or several close genera. However, most Entomophthorales appear to be only attacking insects of a single family or several families within the same order.

Material and methods

Collection of specimens

Insects assumed to have died of entomophthorosis were collected with the fragment of host-plant to which they were attached. When insects were attached to a hard substance (e.g. stone), they were detached carefully with forceps, with the fungal filaments which may have attached them to the substrate. The specimens were taken to the laboratory in ventilated boxes (figure 2). Apparently healthy insects were sometimes collected in the field and kept in quarantine, making it possible to obtain specimens freshly killed by the fungus in case of outbreak of the disease.

Obtaining the different forms of the fungus (figure 2)

The specimens were examined immediately in the laboratory under a binocular microscope, in order in particular to examine the state of the conidiophores which may be present and, if so, to confirm the presence of rhizoids. If the body of the insect is covered with old conidiophores, in which case it probably died 24-48 hours before or more, the specimen was placed directly in ethanol 65% or kept dried. When the dead insect did not bear conidiophores or if, in contrast, the conidiophores present appeared to be fresh, it was placed immediately on a piece of filter paper or, better still, a piece of moistened cellulose tissues. Moistening the insect enhances the formation of conidiophores and the production of primary conidia. The insect on its moist support was placed on the inside of a 60 mm Petri dish lid which was then placed on a slide (or a cover slip) to collect the conidia projected. Several slides (or cover slips) were prepared in this way, each bearing at least a hundred conidia. The insect was then used to isolate the fungus or placed directly in ethanol 65% or kept dry. The same identification number was given to each insect and the corresponding slides (or cover slips).

For reasons of convenience, when a large number of dead insects of the same species appeared to be parasitised by the same Entomophthorales species, several specimens were placed on the same moistened filter paper or cellulose tissues above a slide. However, this technique may be a source of confusion when several fungal species are present.

It is strongly recommended - especially in the tropics - not to keep insects on moist substrates for more than 12 hours, and even less if they already bear conidiophores when collected. This means that all the operations described above must be performed on the day of collection. It is known that saprophytic fungi, including several Entomophthorales species, can display secondary development on insects killed by a true pathogenic Entomophthorale (PAPIEROK, 1985). Conidia of saprophytic Entomophthorales are thus collected on slides with those of the original pathogen, leading to risk of confusion in interpretation.

The slides with the primary conidia were divided into two batches, one kept dry and the other placed immediately in moist conditions to obtain secondary conidia. This was performed by placing a Petri dish lid with a piece of wetted filter paper or cellulose tissues over the slide (figure 2). Primary conidia generally develop secondary conidia after 12 to 24 h under these conditions. This may sometimes be hindered by varying degrees of internal condensation. This is controlled by not over-wetting the filter paper or cellulose tissues and by keeping the slide at a distance from the lid.

Isolation of the agent of mycosis (figure 2)

The causal agent of entomophthorosis should only be isolated when one is familiar with handling insects colonised by the fungus. This requires special apparatus (sterile Petri dishes, tubes and possibly Petri dishes containing a culture medium) and must be performed near a Bunsen burner or, preferably, under a transfer hood.

The following procedure was used. When several slides of conidia have been prepared, the lid of the Petri dish containing the insect on a moist support is placed above a sterile base. Conidia were collected using a fragment of egg yolk and milk medium (PAPIEROK and CHARPENTIE, 1982) rubbed on the bottom of the Petri dish and then subcultured in the culture tube. Isolation can also be attempted by placing the lid containing the insect on the bottom of a Petri dish containing the medium. Once the fungus had been put in culture, the strain was maintained on a Sabouraud agar, egg yolk and milk medium (PAPIEROK, 1978).

As with the obtaining of different forms of the fungus, isolation must be performed within 12 hours following the placing of the insect on a moist support. After this period of time there is increased risk of contamination by bacteria or saprophytic fungi, including several Entomophthorales

such as *Conidiobolus coronatus* (Costantin) Batko (PAPIEROK, 1985).

Identification

Primary and secondary conidia kept as dry preparations on slides were mounted in lactophenol, coloured with cotton blue and observed under a microscope to identify the pathogen. Dimensions (length and width) were measured on at least 50 conidia. Fungal structures (hyphae, conidiophores and possibly resting spores and rhizoids) associated with the insect were observed and measured under a microscope after the crushing of the specimen in lactophenol coloured with cotton blue between the slide and the cover slip. Fungi were named in conformity with the classification of the entomopathogenic Entomophthorales found in KELLER (1987).

Results

In 1986 and 1987 in southern Chad, Entomophthorales were found on four insects parasitising cotton: *Aphis gossypii* Glover (Homoptera, Aphididae), *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera, Aleyrodidae), *Maconellicoccus hirsutus* (Green) (Homoptera, Pseudococcidae) and *Frankliniella schultzei* (Trybom) (Thysanoptera, Thripidae). As epizootics were only observed in the aphid and aleurode populations, only the two Entomophthorales involved are discussed here.

Characteristics of the *Aphis gossypii* entomophthorosis

Mycosis was observed at different locations in southern Chad (Bébedjia, Pont-Carol, Sarh, Péni, Doyaba and Bekamba) in August, September and October. High rates of infection, sometimes exceeding 70% (as in Bébedjia in 1987, figure 3) were recorded, with sharp decreases in the host population.

The aphids (larvae and adults) killed by the fungus were found on the undersides of leaves. When the aphid population was high they were found in particular near the petiole attachment. The bodies were fixed to the plants by their stylets inserted in the veins. Their legs were spread, as were their wings if any. Several types of insect cadavers were recorded:

- Type 1. This was the rarest. The bodies were black and soft and became deformed under moderate pressure with forceps. These specimens were easily distinguished from aphids parasitised by Hymenoptera whose bodies are swollen and hard. Microscopic observation of Type 1 specimens revealed dark brown to black, elliptic to sub-ovoid thick-walled spores which sometimes bore a short fragment of mycelium at the extremity remaining from attachment to the hypha; these were resting spores (figures 4 and 5). Some of the specimens full of this type of spore

had burst and the fungal material released was sometimes visible on the leaves.

- Type 2. The specimens were white to golden with intact integuments and swollen bodies; the insides were granular. Unbranched conidiophores formed on the surface when they were placed on moist substrate and the bodies were shiny when observed with artificial lighting under a binocular microscope. The conidiophores projected thin-walled spores (primary conidia) shaped like hot-air balloons; they were nearly spherical or very slightly ovoid with axial symmetry, a rounded apex and a short truncate slightly papillate base (figure 6). These conidia could produce two types of secondary conidia under moist conditions: either a conidium similar to the primary but slightly smaller formed at the extremity of a short (a few μm) conidiophore (first type of secondary conidium), or an amygdaliform conidium with bilateral symmetry, a broadly rounded basal part and a subconical apical part topped by a disc or an adhesive drop, formed at the extremity of a 30-40 μm capillary tube (figure 7). These secondary conidia, referred to as capilloconidia, separated passively.

- Type 3. Shiny white insects with a swollen appearance. They were covered with a layer of conidiophores which produced primary conidia identical to those described above.

- Type 4. The bodies looked dry and were covered with fine white powder. The different conidia described above were observed under the microscope.

- Type 5. Grey-black insects generally covered with a web of filaments of saprophytic fungi. Capilloconidia stuck to legs and antennae were observed in several specimens; their death by entomophthorosis had occurred several days before and conidiophore and then conidia formation had

already taken place. The bodies and fungal structures were then invaded by contaminants.

The morphology and size (table 1) of the various fungal structures found in *Aphis gossypii* in Chad were those of *Neozygites fresenii* (Nowakowski) Remaudière and Keller (= *Entomophthora fresenii* (Nowakowski) Gustafsson = *Empusa fresenii* Nowakowski). As the species is known not to develop on *in vitro* media, no attempt was made to isolate the fungus from the *Aphis gossypii* collected.

Characteristics of the *Bemisia tabaci* entomophthorosis

An entomophthorosis affected adult populations of *Bemisia tabaci* on cotton in Bébedjia in 1986 and 1987. Dead insects were also collected at Péni and near Koumra (Maïtama). However, the disease was less clearly an epizootic in 1987 than in 1986. No larvae were found to have died from mycosis.

Aleurodes killed by the fungus were observed in August and September. Their position on the undersides of strongly infested leaves was characteristic, with outspread wings

and stylets penetrating the plant. The bodies were attached by one and in rare cases two opaque, subcylindrical rhizoids formed of filaments stuck to each other. These projected from the central part of the ventral surface and enlarged to form a spreading, subcircular disc in contact with the plant. Another type of fine, glassy rhizoid was also observed.

The fungus involved belonged to the genus *Zoophthora* Batko. It was a new species which, like all the others of the genus, possessed branched conidiophores, primary conidia with axial symmetry consisting of a smooth bitunicate body and a basal unitunicate papilla demarcated from the body by a collar and secondary conidia either morphologically similar to the primary or of the capilloconidium type. However, the secondary conidia in the genus *Zoophthora* do not possess an adhesive part, in contrast to the genus *Neozygites*. As the description of the species found on *Bemisia tabaci* is to be presented elsewhere, the respective morphologies of the primary conidia and capilloconidia in the genus *Zoophthora* are illustrated using the species *Zoophthora phytonomi* (Arthur) Batko (figures 8 and 9).

Discussion and conclusion

Neozygites fresenii and *Zoophthora* sp. were observed in 1986 and 1987 in the second half of the rainy season in southern Chad in populations of *Aphis gossypii* and *Bemisia tabaci* respectively. The epizootic process was more marked in 1986 than in 1987 in both species. The explanation of the phenomenon lies in the differences in precipitation in the two years. The greater rainfall depth in 1986 (1,104 mm in comparison with 862 mm in 1987 in Bébedjia) probably resulted in conditions of humidity which were more favourable for the propagation of the pathogen in the host populations.

Neozygites fresenii is only found on aphids. The most common species involved belong to the genus *Aphis*, with the most common hosts being the groups *fabae* and *craccivora* (REMAUDIÈRE *et al.*, 1981). Presence of this Entomophthorale on *A. gossypii* has been reported in tropical Africa: Uganda (HARGREAVES, in PEARSON, 1958), Côte d'Ivoire (DUVIARD and MERCADIER, 1973; B. PAPIEROK and G. REMAUDIÈRE, personal communication), Tanzania (EBBELS and ALLEN, 1979) and Burundi (REMAUDIÈRE and AUTRIQUE, 1985). The authors also observed it on the same aphid in Togo. The observations made in the south of Chad confirm the possibility of epizootic growth of the fungus, which is probably the most common aphid pathogen at low altitudes in the tropics (PAPIEROK, 1987). However, *Neozygites fresenii* has not to date been the study of in-depth ecological studies in these regions, as has been the case in *Aphis fabae* Scopoli populations on pigeon bean in Brittany (ROBERT *et al.*, 1973; RABASSE and ROBERT, 1975; DEDRYVER, 1978; RABASSE and DEDRYVER, 1983) and in England (WILDING and PERRY, 1980).

The case of the pathogenic *Zoophthora* species in *Bemisia tabaci* is noteworthy in several respects. Firstly, it is the first time that an Entomophthorale species has been found on a member of the Aleyrodidae family (Homoptera) (SILVIE, in PAPIEROK, 1987). Since then, *Zoophthora radicans* (Brefeld) Batko has been reported on Aleyrodidae in Israel (BEN ZE'EV *et al.*, 1988). In addition, it should be noted that the genus *Zoophthora* has rarely been observed in the tropics. To the best of our knowledge, only three species have been reported to date: *Z. radicans*, *Z. phalloides* Batko and *Zoophthora canadensis* (MacLeod *et al.*) Remaudière and Hennebert, with the former being reported more frequently than the other two. *Z. phalloides*, a species parasitizing aphids, has only been collected on a few specimens in Burundi (REMAUDIÈRE and AUTRIQUE, 1985) and Mexico (REMAUDIÈRE and LATGE, 1985). LI *et al.* (1989) recently mentioned epizootics caused by *Z. canadensis* in populations of *Cinara pinea* (Mordvilko) in southern China (Aphididae, Homoptera). *Z. radicans*, which is one of the most polyphagous representatives of this order of fungi, has been identified on several insect pests. It was reported on *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Noctuidae, Lepidoptera) in Brazil (HOFFMANN *et al.*, 1979), on Aphididae (Homoptera) in Mexico (REMAUDIÈRE and LATGE, 1985) and on Cicadellidae (Homoptera, genus *Empoasca*) in Brazil (WRIGHT *et al.*, 1986), and can act as a significant natural enemy of *Dysdercus* spp. (Pyrrhocoridae, Heteroptera) on cotton in Uganda (HARGREAVES and TAYLOR, 1936), of the larvae of *Plutella xylostella* (L.) (Yponomeutidae, Lepidoptera) on cabbage in Malaysia (OOI, 1979, 1981; B. PAPIEROK, unpublished results) and the Philippines (VELASCO, 1983) and of the caterpillars of *Ectropis*

obliqua hypulina Weh. (Geometridae, Lepidoptera) on tea in China (LI *et al.*, 1989). Finally, the ability of *Zoophthora* sp. to spread epizootically in populations of *Bemisia tabaci* highlights the role that Entomophthorale species of the genus *Zoophthora* can play in the natural regulation of the populations of certain pests in the tropics.

The observations made in southern Chad should be considered as preliminary. It is clear that deeper ecological research is required and that one of the objectives should be the determining of the factors which affect the establishment and spreading of the *Zoophthora* sp. mycosis in the populations of the serious cotton pest *Bemisia tabaci*.

Los enemigos naturales de algunos insectos del algodón en el Chad : primeros datos sobre los hongos del orden de los entomoftráceos

P. Silvie y B. Papierok

Resumen

En 1986 y en 1987 se observaron epizootias de entomoftráceos (Zigomicetos) en poblaciones del pulgón negro *Aphis gossypii* y en poblaciones adultas de la mosca blanca *Bemisia tabaci* que habitan sobre algodones en el sur de Chad. Es la primera vez que se observa la presencia de entomoftráceos en este país. Los autores presentan primero el ciclo biológico de estos hongos entomopatógenos, así como los diferentes elementos morfológicos implicados en el mismo. Dado que para identificar un entomoftráceo resulta imprescindible recoger y preparar adecuadamente los insectos matados por el mismo, se detallan a continuación las técnicas utilizadas. Se describen luego los

síntomas de la micosis de *Aphis gossypii*, y se ilustra la respectiva morfología de las esporas de resistencia, de los conidios primarios y de los capiloconidios del agente responsable, *Neozygites fresenii*. La entomoftrorosis de los adultos de *Bemisia tabaci* está causada por una especie inédita de *Zoophthora*, cuya descripción se presentará en otra ocasión. Sin embargo, los autores exponen los síntomas de la micosis e ilustran, utilizando otra especie, la morfología característica de los conidios primarios y capiloconidios en el género *Zoophthora*. Antes de estas observaciones efectuadas en el Chad en 1986 y 1987, no se conocía ningún caso de entomoftrorosis en *Bemisia tabaci*.

PALABRAS CLAVES : algodón, insecto, entomoftráceo, *Aphis gossypii*, *Neozygites fresenii*, *Bemisia tabaci*, *Zoophthoras* sp., epizootias, Chad.