

OFFICE DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE
OUTRE-MER

O R S T O M
24, rue Bayard
75008 PARIS

P. MONSARRAT

LUTTE CONTRE LES RAVAGEURS TROPICAUX
à l'aide d'agents entomopathogènes

Compte rendu de fin de contrat
d'une recherche financée
par la
Délégation générale à la
Recherche scientifique et technique

Action concertée : EQUILIBRES ET LUTTE BIOLOGIQUE

Janvier 1975

Convention n° 72.7.0237

O.R.S.T.O.M. Fonds Documentaire

N°

22774

Cpte

B

I - INTRODUCTION

L'objet de la convention était l'étude des possibilités de lutte contre les ravageurs tropicaux à l'aide d'agents entomopathogènes. Les problèmes entomologiques qui apparaissent sur les cultures de la zone inter-tropicale sont de trois types ayant des caractéristiques très différentes et pour lesquels la conception des méthodes de lutte doit être adaptée.

- Le premier cas concerne les déprédateurs cosmopolites d'une culture donnée. Ces insectes sont en général polyphages et leur adaptation à la culture est très ancienne. Il existe sur eux une abondante littérature. Leur biologie est relativement bien connue. Notre travail, pour ceux-ci, s'était limité, dans un premier temps, à rechercher localement des souches d'entomopathogènes et à effectuer des essais en laboratoire. Dans le cadre de la convention, nous espérons passer au stade de l'application sur le terrain de préparations microbiennes et virales, afin de dégager rapidement les possibilités d'utilisation.

L'apparition brutale d'un problème du deuxième type nous a conduit à abandonner ce projet pour suivre l'évolution d'une population en expansion de ravageurs du pin, atteinte d'une épizootie virale.

- Le deuxième type de problème entomologique est, en effet, constitué par des pullulations, souvent brutales, d'insectes endémiques sur des plantes-hôtes exotiques introduites en grande culture. Ces pullulations sont caractérisées par une phase de cohabitation de lisière plus ou moins longue, suivie d'une ou plusieurs phases d'adaptation progressives à la nouvelle plante-hôte, en général très discrètes, et se terminant par une explosion de population spectaculaire. Les deux premières phases peuvent être très longues puisque dans le cas de la Cigale de la Canne à sucre, cette cohabitation a duré plusieurs centaines d'années avant l'apparition d'un grave problème entomologique en 1963. L'évolution des techniques culturales peut jouer un rôle important dans le devenir de ces adaptations.

- Un troisième type de problème est celui créé par l'introduction accidentelle d'un ravageur exotique sur une culture préexistante. Ce fût le cas de l'introduction d'Oryctes rhinoceros L. dans de nombreuses îles du Pacifique et de l'Océan Indien et en particulier à Wallis et à l'île Maurice.

Un des principaux obstacles aux études sur les populations d'invertébrés réside dans le fait que leur répartition spatiale est caractérisée par une distribution à agrégats, ne pouvant être commodément étudiée mathématiquement que par des méthodes ne faisant pas d'hypothèses préalables sur leur distribution. Nous avons rencontré ce problème aussi bien sur les populations de larves de Cigales de la Canne à sucre que sur celles de Vers Blancs en champ de Canne, de cocons d'un Lépidoptère Lasiocampidae, déprédateur du Pin, Europtera punctillata ou de dégâts causés par Oryctes Rhinoceros au Cocotier.

L'étude de ces populations se poursuit encore par différentes méthodes.

II - CONDUITE DE LA RECHERCHE

Les études sur Oryctes rhinoceros L. se placent dans le contexte du projet FAO-CPS de lutte biologique contre ce ravageur. Les études de laboratoire, pathologie, purification du virus, etc., ont été réalisées à la Station INRA-CNRS de Cytopathologie de St-Christol les Alès, dirigée par le Professeur VAGO, en collaboration avec différents chercheurs de cette station. Elles n'ont pu se développer que grâce à la fourniture de matériel vivant par l'Insectarium de la Station de Lutte biologique et de Biocoenotique de la Minière.

Les études sur Europtera punctillata Saalm. ont été réalisées, pour le travail de terrain, en collaboration étroite avec le Service des Eaux et Forêts Malgaches et avec M. BRUNCK, Entomologiste du Centre Technique Forestier Tropical. Les études histopathologiques ont été effectuées à la Station INRA-CNRS de Cytopathologie de St-Christol les Alès. Le traitement des résultats des échantillonnages est accompli en relation étroite avec M. GERRY de la Station de Lutte Biologique et de Biocoenotique Forestières de la Minière et de M. MILLES du Centre National de Recherches Forestières de Nancy.

III - ANALYSES ET INTERPRETATIONS

A - Oryctes rhinoceros

1 - Généralités

Rappelons qu'en 1970, HAMMES (3), après une étude préliminaire des populations d'Oryctes, introduisait le virus découvert en Malaisie par HUGER (6, 7) en 1963 qui l'a décrit sous le nom de Rhabdionvirus oryctes. L'introduction quasi ponctuelle de la maladie et la rapidité de son extension avaient fait penser à un rôle de l'adulte dans la dissémination du germe.

La bionomie de l'Oryctes est caractérisée par trois stades larvaires dont le développement se fait dans les matières végétales en décomposition et durent respectivement, d'après HURPIN et al (9) 160 jours et un stade adulte de 4 mois environ. Notre mission à Wallis a eu deux buts principaux : l'un consistait à dresser un bilan provisoire de l'opération de lutte biologique, l'autre à récolter du matériel permettant à la fois de trouver une explication à la rapidité de diffusion du virus et de caractériser celui-ci, les études entreprises depuis 10 ans, par des laboratoires étrangers n'ayant pas abouti à ce résultat.

2 - Bilan provisoire de l'opération de lutte biologique

2.1. - Résultats

Notre étude (11) a complété et confirmé les résultats de C. HAMMES (4) sur l'effet du virus sur les populations larvaires. L'évolution de l'action du virus Oryctes sur le déprédateur a été conduite au niveau des dégâts par la mise au point d'une méthode basée sur la phénologie du Cocotier et tenant compte des variations individuelles.

Elle a consisté dans la comparaison du niveau des dégâts dans les populations de jeunes palmes dont on pouvait être raisonnablement sûr qu'elles avaient pu subir les attaques des adultes d'Oryctes après l'introduction du virus et dans les populations de palmes âgées dont la phase critique

en ce qui concerne les attaques d'Oryctes, était certainement antérieure à l'introduction de l'agent pathogène. Cette méthode présentait l'avantage de fournir une estimation par défaut. En raison de l'hétérogénéité rencontrée, nous avons dû échantillonner 2 500 arbres. La situation des dégâts sur cocotiers en Mars 1972 était la suivante :

- dans l'île principale, le niveau des dégâts était de :
5,9 % \pm 2,1 à 99 % de probabilité, de palmes attaquées en cocoteraies denses ;
20,9 % \pm 2,4 % à 99 % de probabilité, de palmes attaquées en cocoteraies non denses ;
soit une moyenne, tenant compte des surfaces de différents types, de 14,5 % \pm 1,5 pour l'île principale. Rappelons que le seuil de nuisibilité économique a été établi par HINCKLEY (5) aux Samoa, en cocoteraies industrielles, à 15 % de palmes endommagées ;

- il y a, parmi les palmes endommagées, une baisse significative du pourcentage de celles à rachis sectionnés, pour les cocoteraies non denses et le total d'Uvea ; c'est à dire qu'il y a diminution à la fois de la quantité et de la gravité des dégâts ;

- la diminution du niveau des dégâts, à la suite de l'introduction du virus est de l'ordre de 90,8 % pour les cocoteraies denses, de 76,2 % pour les cocoteraies non denses. Rappelons que les résultats ci-dessus sont susceptibles d'être entachés d'une erreur par défaut en raison des hypothèses formulées (11). La diminution pour l'ensemble de l'île se situe aux environs de 82,6 %.

2.2 - Discussion des résultats

Les premiers résultats font apparaître un niveau moyen des dégâts sensiblement égal au seuil de nuisibilité, avec toutefois des variations relativement importantes entre les cocoteraies denses et non denses. L'explication de cette différence, que l'on retrouve accentuée dans l'évolution du niveau des dégâts, peut être trouvée dans deux faits : les cocoteraies dites denses ne contiennent que peu ou pas de gîtes larvaires. Les dégâts sont donc occasionnés par des adultes provenant de l'autre type de cocoteraie. Il est normal de penser que la diminution des dégâts doit être plus importante en cocoteraie dense si l'on admet l'hypothèse que le volume des transferts de populations d'adultes est une fonction directe de leur densité en cocoteraie non dense. Ce n'est là qu'une hypothèse de travail qui peut s'ajouter à celle d'une modification du comportement du ravageur, due à la contamination par le virus d'un grand nombre d'adultes. (11)

Un autre aspect qui pourrait être invoqué pour expliquer cette différence est le niveau des dégâts déjà moins important en cocoteraie dense avant l'introduction du virus. Ceci provenait d'un rapport du nombre d'adultes au nombre de cocotiers disponibles plus favorable qu'en cocoteraie non dense. On peut considérer qu'une attaque d'un Oryctes endommage 2 à 3 palmes. Il y aura donc un certain nombre de palmes présentant les signes de plusieurs attaques. Dans notre échantillonnage, elles n'ont été comptées qu'une fois. Le pourcentage de palmes endommagées n'est convertible en nombre d'attaques que pour les très faibles niveaux.

La conversion pour les niveaux élevés se fait avec une forte erreur par défaut, et par conséquent, dans l'estimation de l'effet d'un facteur de réduction de population d'adultes, donc du nombre d'attaques, on aura une erreur importante par défaut sur les hauts niveaux d'attaques. Il nous reste, par l'intermédiaire d'un modèle mathématique, tenant compte de la non normalité de la distribution spatiale des dégâts, à tester la valeur explicative de ce raisonnement.

La nullité des coefficients de corrélation entre le nombre total de palmes et les attaques à différents niveaux nous a énormément surpris. Là également, une étude complémentaire s'impose, soit à partir du modèle mathématique, soit après transformation des données. Nous l'entreprendrons prochainement.

Au cours de la mission, des essais de marquage à l'iridium 192 ont été réalisés. Les résultats sont encourageants.

En conclusion de l'opération de lutte biologique contre Oryctes rhinoceros par rhabdionvirus Oryctes, il semble que, économiquement, à l'heure actuelle, le problème soit résolu. Il reste à exercer une surveillance constante des populations et dans le cadre des projets de régénération de la cocoteraie wallisienne se pose un problème complexe de gestion.

Rhabdionvirus Oryctes semble n'avoir qu'une rémanence de l'ordre de 15 jours dans les conditions naturelles (18). La destruction d'un trop grand nombre de gîtes larvaires par des nettoyages inconsidérés des cocoteraies, ou par une augmentation trop homogène de leur densité, risque d'aboutir à des accidents sérieux voire même à l'éradication du virus. Il convient donc d'être extrêmement prudent dans ces actions.

3 - Etude de la pathogénèse et du virus

Ce travail a été rendu possible par l'étude du matériel ramené de Wallis et surtout par la fourniture d'insectes à différents stades, élevés à la Station INRA de la Minière. Enfin, il n'a pu être effectué que grâce au concours du Professeur VAGO, Directeur de la Station de Cytopathologie de St-Christol les Alès ainsi que des chercheurs de cette station. Ce travail a été conduit en fonction des préoccupations suivantes :

3.1 - Pathogénèse et explication des phénomènes constatés à Wallis

Cycle du virus dans la nature

a) Les gîtes larvaires

La contamination des gîtes larvaires est probablement liée à la venue des adultes lors de la ponte et de l'accouplement. Les déjections des adultes infectés sont très riches en virus. Nous avons pu estimer que la quantité d'agents pathogènes émis par adultes et par jour peut atteindre 0,3 mg soit environ 3×10^{11} particules virales. A l'intérieur du gîte larvaire, la dispersion du virus à partir des déjections des adultes est probablement le fait du déplacement de ceux-ci et surtout de la faune associée (Formicidae, Acariens, Collembolés...). Les larves présentes dans le gîte constituent des réservoirs, assurant par l'émission des virions dans leur déjections la rémanence de l'agent pathogène. La durée de la maladie chez les larves de troisième stade âgées est un facteur très favorable à ce maintien. En outre, la transmission transovarienne du virus est aussi un facteur intéressant. La dégradation du germe ne commencera dans les oeufs que tardivement.

Dans le cas où ils éclosaient, celle-ci ne commencerait qu'à la mort des jeunes larves, c'est à dire après le départ des adultes. Il semble que les adultes soient susceptibles de contracter l'infection virale à l'intérieur des gîtes larvaires. L'intestin d'adultes conservés pendant 48 h dans du milieu d'élevage larvaire coloré par du rouge neutre est apparu coloré à la dissection. Il est probable que les adultes machonnent le substrat humide et soient ainsi susceptibles de contracter la maladie.

b) Les couronnes de cocotiers

Outre la possibilité d'infection des adultes dans les gîtes larvaires, il est probable que le mécanisme principal de dispersion de la maladie dans les populations se situe au niveau des couronnes de cocotiers.

La facilité de l'infection per os et les quelques données fournies par CUMBER (2) concernant l'agégativité des adultes, permettent de le penser. Toutefois, ces données font état du nombre d'*Oryctes* adultes capturés par cocotier mais ne précisent pas si ils se trouvaient ou non dans la même galerie.

La contamination par souillure du substrat alimentaire par l'un des deux partenaires doit également se produire lors de l'accouplement. Nous avons signalé aussi la possibilité d'une infection de la femelle par le mâle lors de l'accouplement (12).

Il est probable que la faune inféodée aux dégâts de l'*Oryctes* joue un rôle actif dans la dispersion de l'agent pathogène de couronne à couronne de cocotier.

Les multiples possibilités d'infection, la diversité des mécanismes de dispersion du virus et le rôle de réservoir joué par les individus malades explique le maintien du virus dans les populations et l'importance de son action.

Pathogénèse

Dans cette première partie, l'essentiel du travail a porté sur le rôle de l'adulte. HUGER signale dans le rapport semestriel 1972, dont nous n'avons eu connaissance qu'en Mai 1973, la présence de cellules atteintes dans l'intestin de l'adulte. ZELAZNY (17) confirme l'infectiosité des déjections de l'adulte infecté par infection.

En Février 1973, sur le matériel prélevé et fixé à Wallis, nous avons constaté la présence de virions dans l'intestin de l'adulte et dans la spermathèque de la femelle. Les études de pathogénèse sur la larve et sur l'adulte montrent que la maladie est essentiellement intestinale au départ et que la généralisation se produit par la suite par voie trachéale (13).

L'infection réussie en culture de tissus permet de mettre en évidence la pénétration du contenu de la capsid du virion dans le noyau de la cellule (10).

En Juillet 1973, nous avons réussi l'infection per os d'adultes et constaté la grande quantité de virions qu'ils contenaient. Des études récentes ont montré que les déjections de l'adulte étaient extrêmement riches en virus libre à tel point que la méthode actuelle d'obtention de grandes quantités de virus est basée sur l'utilisation de ce matériel (15).

Enfin, les travaux qui avaient indiqué la présence de virus dans le spermathèque se sont poursuivis dans le sens de l'étude d'une transmission génitale du virus (12).

Ces travaux ont permis la mise en évidence de virus dans le cytoplasme et le noyau des spermatides des Oryctes. De même, la présence du virus a été reconnue dans les cellules sécrétrices des glandes annexes ainsi que dans le canal spermathique.

Parallèlement, les recherches en cours ont démontré l'existence de virions dans le vitellus des ovocytes chorionés. Ceci est à rapprocher de la mise en évidence de nombreuses cellules atteintes décelées chez une larve âgée de 3 jours au plus, récoltée et fixée à Wallis. Nous pensons donc qu'il existe pour le virus un mode de transmission à la descendance par voie transovarienne, par les gamètes mâles et peut-être une transmission à la femelle par contamination par le mâle lors de l'accouplement (12).

Ces résultats, joints à la très grande quantité de virus présents dans les déjections et au comportement des adultes d'Oryctes permettent d'expliquer à la fois la rapidité de la diffusion de la maladie et son maintien dans les biotopes infectés. L'adulte d'Oryctes sert, en effet, de réservoir et de disséminateur dans les différents gîtes. Ce réservoir est constant dans le temps puisque les sorties d'adultes se produisent toute l'année. Ce rôle de réservoir actif permet de comprendre le maintien de la maladie due à un germe qui ne présente pourtant qu'une faible rémanence, de l'ordre de deux semaines en milieu naturel.

Un cycle du virus dans la nature a pu être établi. Il peut être considéré comme responsable du maintien du virus. L'existence de corps d'inclusion (13) de plusieurs types peut jouer un rôle dans cette persistance, mais il faut remarquer que ces corps d'inclusion sont extrêmement rares dans le cas de la maladie due au virus d'Oryctes. HUGER (18) signale la présence de polyèdres nucléaires avec trame protéinique. De notre côté, nous n'avons trouvé que de rares corps d'inclusion cytoplasmiques d'une origine probablement différente. Il s'agissait certainement d'inclusions dues à des réactions de défense de l'hôte.

3.2 - Obtention des moyens techniques permettant de statuer sur la stabilité de l'équilibre obtenu à Wallis

a) Il nous a paru très important d'arriver à pouvoir statuer sur l'évolution de l'équilibre atteint. Le remarquable résultat obtenu peut en effet être remis en question par des modifications génétiques ou de l'Oryctes ou du virus. Il convient d'observer que l'agent pathogène exerce sur la population d'Oryctes de Wallis, une pression de sélection continue et puissante qui peut conduire à l'apparition de phénomènes de résistance.

Une partie très importante du travail en cours porte, à l'heure actuelle, sur l'étude des réactions de défense de l'hôte. Nous avons tout d'abord constaté que la sensibilité de l'Oryctes au virus était sous la dépendance de plusieurs facteurs dont les plus importants étaient le stade larvaire et l'âge dans le stade. Si, par exemple, avec une certaine dose de matériel virulent il faut 4 jours pour obtenir la mortalité du premier stade larvaire, il faudra 6 jours pour le deuxième stade, 10 à 15 jours pour de jeunes L 3 et parfois plus d'un mois pour des L 3 âgées.

Un autre facteur jouant énormément sur la durée de la maladie est la température d'élevage. Les fortes et faibles températures semblent

prolonger de beaucoup la maladie. L'optimum thermique se situe aux alentours de 25° C. La production de virus, estimée par la densité des bandes de gradients de saccharose, dans l'intestin moyen d'insectes à l'agonie est plus importante à 25° C. Les températures de 18° C et 35° C semblent, de ce côté là, à peu près équivalentes. A 11° C, la production de virus est très faible.

Il semble que les modalités du ralentissement de la virulence puissent être différentes aux hautes et aux basses températures. A températures élevées, nous avons constaté l'apparition de violentes réactions cellulaires de l'hôte qui sont en cours d'étude. Ces réactions se produisent surtout chez les larves en fin de troisième stade.

Enfin, il semble que les caractéristiques grossières physiques et chimiques de l'hémolymphe soient modifiées en cours de maladie. Nous avons observé des modifications du pH et du point de congélation. L'ensemble de ces résultats fragmentaires et qui demandent encore à être approfondis ne permet pas d'exclure la possibilité d'existence de moyens de défense de l'insecte hôte relativement efficaces. La formation de pseudogranulomes à centres mélanisés, les infiltrations cellulaires constatées, la grande activité des lignées de cellules génératrices dans l'intestin sont autant de faits qui plaident pour l'existence de tels processus. Il en est de même des corps d'inclusions viraux rencontrés lors de nos études.

La modification des caractéristiques de l'hémolymphe doit aussi être examinée plus avant pour essayer de voir si ces perturbations sont liées à des réactions de défense ou si elles sont la conséquence de modifications physiologiques importantes dues aux lésions tissulaires. Il convient de noter, entre autres, deux faits importants :

1) les adultes semblent, en général, très bien supporter la maladie et les résultats obtenus jusqu'ici ne nous permettent pas, contrairement à ZELAZNY (17) d'affirmer un effet net de la maladie sur la longévité. Des adultes dont l'infection a été vérifiée par l'examen des déjections ont vécu près de 6 mois. De façon générale, les lésions avec réactions spectaculaires de l'hôte sont très rares chez les adultes alors que la production de virus est très importante. Il y a là un problème qui peut s'expliquer par l'obtention d'un équilibre de "compensation" entre l'activité des lignées cellulaires génératrices de l'intestin notamment et les destructions opérées par l'entomopathogène ;

2) En ce qui concerne l'ensemble de ces réactions, les variations individuelles sont relativement importantes, ce qui représente un facteur inquiétant pour l'avenir.

b) Méthodes de diagnostic : Le deuxième volet de la préparation des techniques permettant de statuer sur la stabilité de l'équilibre obtenu dans le Pacifique, a été la mise au point d'une technique de diagnostic rapide, utilisable sur le terrain avec un équipement minimum. Les symptômes externes de la maladie ne permettent pas, en effet, un diagnostic suffisamment sûr et précoce pour des enquêtes épidémiologiques sérieuses. Les méthodes de réinfections de larves saines à partir de broyats de larves malades (ZELAZNY) sont très délicates à maîtriser et toujours, à notre avis, sujettes à caution, du fait de la grande facilité de transmission de la maladie. Il nous paraît difficile de conserver des larves non infectées dans une ambiance contaminée.

Monsieur CROIZIER de la Station INRA de Cytopathologie de St-Christol les Alès a bien voulu se charger de la préparation d'un sérum anti-virus *Oryctes*. Les résultats obtenus par immunisation des lapins avec les préparations virales purifiées ont permis la mise au point d'une technique de diagnostic par immunofluorescence sur frottis, rapide et utilisable pour une enquête épidémiologique (1). Le but de ces travaux est, comme il a été dit, l'étude prévisionnelle de l'évolution de l'équilibre obtenu à Wallis et dans le Pacifique.

Nous avons pensé qu'une comparaison, à la fois du niveau des réactions de défense de l'hôte et de l'endémicité du virus dans les populations de larves et d'adultes, entre la Malaisie, d'où sont originaires le virus et l'insecte hôte, et les zones traitées à différentes dates dans le Pacifique, devait fournir des éléments de réponse à ce problème.

3.3 - Caractérisation du virus

Après la découverte du virus en 1963, HUGER (6, 7) avait souligné les parentés morphologiques visibles sur les coupes de tissus de l'hôte que présentait ce virus avec les virus du groupe des Baculovirus. Rappelons que seule l'utilisation en lutte biologique de germes appartenant à ce seul groupe est admise par l'OMS.

Les tentatives de purification du germe, faites dans le but d'observations en colorations négatives et nécessaires aux études biochimiques avaient jusqu'alors échoué. Après le succès de l'infection de cultures cellulaires (10), nous avons tenté la purification du virus en prenant comme base de départ le milieu de culture. Au bout d'un certain nombre de modifications, nous avons réussi à obtenir en Août 1973 une quantité de virus suffisante pour caractériser l'acide nucléique et faire les premières études de structure en coloration négative (14).

Le travail a été poursuivi par l'étude, en collaboration avec M. REVET, du Centre National de Recherche sur le Cancer à Villejuif, des caractéristiques de la molécule d'ADN (16). Enfin, l'obtention récente de quantités relativement importantes de virus purifié devrait permettre d'avancer considérablement, dans un proche avenir, la caractérisation complète de cet agent pathogène. L'étude de son système enzymatique pourra aussi être abordé apportant des indications sur son cycle de replication intra-cellulaire et permettant peut-être d'interpréter correctement certains phénomènes et notamment l'influence de la température de développement sur la virogénèse.

Les résultats actuellement obtenus sont les suivants :

- le % d'acide nucléique du virus est de l'ordre de 14 %
- l'acide nucléique du virus est un ADN
- la molécule est circulaire bicaténaire superhélicoïdale
- son poids moléculaire est de l'ordre de $82 \cdot 10^6$ daltons
- le % de G + C de cette molécule est de 44 %.

Ces résultats obtenus, tant sur la structure et la morphogénèse du virion que sur les caractéristiques de sa molécule d'ADN, autorisent sa classification dans le groupe des Baculovirus.

B - Euoptera punctillata Saalm.
Cette étude a été conduite en collaboration étroite avec le Service des Eaux et Forêts malgaches et le CIPT.

Nous avons été informés, en juillet 1972, par le Service des Eaux et Forêts malgaches, de l'apparition, dans la région Est de Fianarantsoa, d'une pullulation très inquiétante de chenilles, sur un périmètre d'environ 4 000 ha planté en Pinus patula. Il nous est apparu que, encore une fois, nous nous trouvions confrontés au problème d'une espèce, probablement endémique polyphage, se portant plus ou moins brutalement sur une plante étrangère introduite en grande culture. Outre l'aspect économique, le problème posé présentait des centres d'intérêt multiples :

- Nous arrivions au début de la phase explosive de la population du ravageur, ce qui pouvait permettre un certain nombre d'observations, notamment sur les phénomènes de colonisation.

- La présence d'une polyédrose cytoplasmique dans cette population devait favoriser l'étude comparée de la diffusion du ravageur et de celle de l'entomopathogène. Nous nous sommes attachés en priorité à considérer cet aspect qui, du fait du très faible impact des parasites et des prédateurs, devait conditionner le devenir des populations.

Entre juillet et octobre 1972, nous avons réuni des éléments concernant les parasites entomophages des différents stades, la biologie du ravageur et réalisé, en collaboration étroite avec le Service des Eaux et Forêts malgaches, un échantillonnage sur les populations en cocons de 1 à 100 arbres. Cet échantillonnage avait pour but la mise en évidence des voies de dispersion des adultes du ravageur et, parallèlement, de celles de l'entomopathogène. Le parasitisme, ainsi que les autres causes de mortalité, ont aussi été appréhendées sur deux séries de générations. Environ 25 000 cocons ont été examinés.

Il ressort d'un premier examen des résultats que les voies de dispersion du ravageur et du virus sont identiques.

Les facteurs influant sur la dispersion sont la hauteur des arbres et le relief, les crêtes étant atteintes par l'expansion de population avant le thalweg. Les chemins, layons, pare-feux, constituent, d'autre part, des voies de pénétration privilégiées du ravageur à l'intérieur du massif. Une partie de la population semble apte à se déplacer à grandes distances, 4-5 km et probablement plus.

L'influence de la polyédrie au niveau de la mortalité sur les cocons est assez importante puisqu'elle oscille, suivant les zones, de 10 à 30 %. Toutefois, la mortalité à ce stade ne représente pas l'aspect le plus important de l'impact de l'entomopathogène sur les populations. En 1972, dans la zone de diffusion ancienne de la population, un examen des adultes avait montré que 45 % de ceux-ci étaient porteurs de polyèdres. Dans un lot de cocons reçus en 1973, et provenant de la même zone, 100 % des adultes qui en sont issus ont été trouvés porteurs. Enfin, dans un lot d'adultes reçus début 1974 et récoltés fin 1973, il semble que le taux d'adultes contaminés par le virus soit extrêmement bas.

On ne peut s'empêcher de rapprocher ces données fragmentaires de l'évolution globale des populations de ravageurs qui ont été pratiquement éliminées par la polyédrie cytoplasmique en 1973. Il convient, en

outre, de noter que, lors des échantillonnages de 1972, rien ne laissait prévoir la disparition brutale des populations qui s'est produite au cours du cycle biologique suivant, si ce n'est la contamination des adultes et son accroissement.

Les structures des populations de cocons comparées à celles du cycle précédent pouvait permettre de prévoir une aggravation de la situation. Tout s'est passé comme si un élément nouveau était intervenu en 1972-1973. On est tenté de penser qu'il s'agit de l'augmentation du taux d'endémie du virus dans les populations d'adultes.

En effet, les examens histopathologiques réalisés à la Station INRA de Cytopathologie de St-Christol les Alès ont permis de mettre en évidence un certain nombre de phénomènes nouveaux.

La présence de polyèdres cytoplasmiques dans l'intestin moyen d'adultes de Lépidoptères a été signalée, dans la littérature, par quelques auteurs. Il s'agissait, dans la majorité des cas, d'expériences de laboratoire portant sur des infections de larves de dernier stade. Chez la larve comme chez l'adulte, la polyédrie cytoplasmique était, jusqu'alors, une maladie de l'intestin moyen. A notre connaissance, aucune référence n'a été faite à la présence de polyèdres ou de virus libres dans d'autres tissus que l'intestin moyen.

Lors des examens sur adultes, nous avons constaté la présence de polyèdres dans de nombreux tissus autres que l'intestin moyen. De plus, dans les sacs ovariens, certains ovocytes présentaient des polyèdres inclus dans la partie externe du chorion. Ces observations permettent de comprendre le mécanisme de la dispersion de l'agent pathogène par l'adulte et explique l'identité constatée lors des échantillonnages entre la dispersion de l'agent pathogène et du ravageur.

La transmission du virus à la descendance a pu être mise en évidence. La présence de polyèdres dans l'intestin moyen de larves issues de parents porteurs de polyèdres a été observée dès le 4ème jour de vie larvaire. La mortalité au laboratoire des jeunes larves a été pratiquement totale pour toutes les pontes provenant de parents porteurs de polyèdres.

Dans les conditions du laboratoire, nous n'avons pu mettre en évidence une influence quelconque de la virose sur la longévité et la fécondité des femelles. C'est là un facteur extrêmement favorable à la dispersion de l'entomopathogène par l'adulte.

Un problème d'intérêt économique majeur se trouve posé. L'explication de la généralisation de la maladie qui a entraîné l'inclusion de polyèdres dans le chorion des oeufs. Nous ne pouvons qu'émettre un certain nombre d'hypothèses.

Nous pouvons penser que nous avons affaire à une souche de polyédrie cytoplasmique ou à une véritable mutation affectant une partie de la population de virus. Cette hypothèse repose sur le fait qu'il est fort probable que de nombreux mutants co-existent au sein de la population de virus. Toutefois, il convient de souligner que toutes les larves malades examinées présentaient des signes de polyédrose cytoplasmique tout à fait classiques, et que la généralisation de la maladie n'apparaît que chez les adultes atteints. Nous pensons toutefois que cette hypothèse ne peut être abandonnée dans un premier temps.

Une deuxième explication peut être avancée concernant une modification de la sensibilité des adultes à la maladie. Cette modification, d'ordre physiologique, pourrait être éventuellement rapprochée d'un effet de groupe, car c'est durant la période de densité maximale des populations que le phénomène de généralisation de la maladie est apparu avec la plus forte intensité.

Il est évident que si cette dernière hypothèse se vérifiait, et si la modification physiologique était sous dépendance hormonale, les perspectives de lutte biologique par entomopathogènes se trouveraient profondément modifiées.

IV - CONCLUSION

Les deux problèmes traités dans le cadre de cette convention, concernant deux contrôles de populations de ravageurs différents, par deux virus appartenant à des groupes très éloignés, présentent des points communs intéressants.

Tout d'abord, la répartition spatiale des populations et des dégâts, dans l'un et l'autre cas, suivent la loi de Taylor des populations à agrégats, dans laquelle la variance s^2 est liée à la moyenne, par une relation du type $s^2 = k m$ dans laquelle k représente un coefficient d'agrégation qui ne nous paraît pas être une constante pour une espèce (SOUTHWOOD), mais être lui-même une fonction de la moyenne.

Dans les deux cas, le virus s'attaque, chez l'adulte, à des tissus ordinairement indemnes.

Le rôle de l'adulte, dans la dispersion de l'agent pathogène, est primordial dans les deux cas, avec, comme modalités :

- une maladie intestinale
- une transmission génitale.

Si, dans la transmission génitale, les modalités sont différentes, il semble, par contre, que l'importance de cette voie de transmission soit élevée dans les deux cas.

La mise en évidence de cette voie de transmission jusque là non signalée, et des différents problèmes posés par ces modalités, nous semble susceptible d'avoir de nouvelles applications à la lutte biologique par entomopathogènes.

LISTE DES PUBLICATIONS CONCERNANT LA CONVENTION

- G. CROIZIER et P. MONSARRAT - Diagnostic sérologique de la maladie virale d'Oryctes rhinoceros L. - Entomophaga
- P. MONSARRAT - Influence de l'introduction à Wallis du virus d'Oryctes rhinoceros L. sur les dégats de ce ravageur aux cocotiers. Cah. Biol. ORSTOM ; 1974, 22 - 91 - III.
- P. MONSARRAT, G. MEYNADIER, G. CROIZIER et C. VAGO - Recherches cytopathologiques sur une maladie virale du coleoptère Oryctes rhinoceros L. - C. R. Acad. Sci. 1973, 276, série D, p. 2 077.
- P. MONSARRAT, J. C. VEYRUNES, G. MEYNADIER, G. CROIZIER et C. VAGO - Purification et étude structurale du virus du Coléoptère Oryctes rhinoceros L. - C. R. 1973, Acad. Sci. 1973, 277, série D, 1 413.
- P. MONSARRAT, J. L. DUTHOIT et C. VAGO -
- P. MONSARRAT et J. C. VEYRUNES - Evidence of viral particles in the Oryctes rhinoceros adults feces and a new data for the virus characterization - J. of Inv. Path. (sous presse).
- REVET B. et P. MONSARRAT - L'acide nucléique du virus du Coléoptère Oryctes rhinoceros L. : un ADN superhélioidal de haut poids moléculaire - C. R. Acad. Sci., série D, 1973.
- QUIOT J. M., MONSARRAT P., MEYNADIER G., CROIZIER G. et C. VAGO - Infection des cultures cellulaires du Coléoptère Oryctes rhinoceros par le virus Oryctes. C. R. Acad. Sci. - 276, série D, 1973, 3 229.

EN PREPARATION

- P. MONSARRAT et B. REVET - Etude de la structure du virus d'Oryctes rhinoceros destiné à Virology.
- P. MONSARRAT et VEY - Pathogénèse du virus d'Oryctes rhinoceros et réactions de défense contre l'agression virale de la larve de 3ème stade âgée (Entomophaga).
- B. REVET et P. MONSARRAT - Etude Biophysique et biochimique du virus d'Oryctes rhinoceros (Virology).
- P. MONSARRAT - Cycle du virus d'Oryctes rhinoceros dans les populations de ce ravageur du cocotier (Entomophaga).

P. MONSARRAT et al. - Etude histopathologique d'une polyédrie cytoplasmique chez l'adulte d'Europtera punctillata Saalm, ravageur du Pin à Madagascar (C.R. Acad. Sci.).

P. MONSARRAT et al. - Etude écopathologique de la polyédrie cytoplasmique spontanée d'Europtera punctillata Saalm Lépidoptère ravageur du Pin à Madagascar (Entomophaga).

BIBLIOGRAPHIE SUCCINCTE

- 1 - CROIZIER G. et MONSARRAT P. - Diagnostic sérologique de la maladie virale d'Oryctes rhinoceros L., Entomophaga 1974, 19, (1), p. 115.
- 2 - CUMBER R. A. 1957 - Etudes écologiques du Rhinoceros du cocotier Oryctes rhinoceros L. aux Samoa Occidentales Commission Pacifique Sud - Doc. n° 107, 76 p.
- 3 - HAMMES C. 1971 - Multiplication et introduction d'un virus d'Oryctes rhinoceros à l'île Wallis - C. R. Acad. Sci. Paris, 273, D, 1 048-50.
- 4 - HAMMES C. 1974 - Etude de l'action de Rhabdovirus Oryctes (HUGER) sur les populations d'Oryctes rhinoceros L. à l'île Wallis - Cah. Biol. ORSTOM n° 22, 52-91.
- 5 - HINCKLEY A. D. 1966 - Damage by the rhinoceros beetle Oryctes rhinoceros L. to Pacific Island Palms. South Pacific Com. mul. 16 (4) 51-52.
- 6 - HUGER A. 1965 - Ein neuer type von Insektenviren aus malaïschen Populationen von Oryctes rhinoceros L. (Col. Scarabeidae). Die Naturwiss. 52 (19) 542.
- 7 - HUGER A. 1966 - A virus disease of the Indian rhinoceros beetle Oryctes rhinoceros L. caused by a new type of Insect virus Rhabdionvirus Oryctes, gen. n., Sp. n. J. Invert. Pathol. 8, 38-51.
- 8 - HUGER A. 1973 - Z. Angew. Entomol. 73, 309.
- 9 - HURPIN B. et FRESNEAU M. 1970 - Etude en Laboratoire du développement larvaire d'Oryctes rhinoceros L., Col. Scarabeidae. Ann. Soc. Ent. Fr., 6, 1970, 193-214.
- 10 - DUIOT J. M., MONSARRAT P., MEYNADIER G., CROIZIER G. et C. VAGO - Infection des cultures cellulaires du Coléoptère Oryctes rhinoceros par le virus Oryctes - C. R. Acad. Sci., 276, 1973, Série D, 3 229.
- 11 - MONSARRAT P. 1974 - Influence de l'introduction à Wallis du virus d'Oryctes rhinoceros L. sur les dégats de ce ravageur aux cocotiers. Cah. Biol. ORSTOM 1974, 22, 91-111.
- 12 - MONSARRAT P., DUTHOIT J. L. et VAGO C. 1974 - Mise en évidence de virions de type Baculovirus dans l'appareil génital du Coléoptère Oryctes rhinoceros L. - C. R. Acad. Sci. 278, série D.
- 13 - MONSARRAT P., MEYNADIER G., CROIZIER G. et C. VAGO 1973 - Recherches cytopathologiques sur une maladie virale du Coléoptère Oryctes rhinoceros L. - C. R. Acad. Sci., 1973, 276, Série D, p. 2 077.

- 14 - MONSARRAT P., VEYRUNES J. C., MEYNADIER G., CROIZIER G. et C. VAGO 1973 - Purification et étude structurale du virus du Coléoptère *Oryctes rhinoceros* L. - C. R. Acad. Sci. 1973, 277, Série D, p. 1 413.
- 15 - MONSARRAT P. et J. C. VEYRUNES - Evidence of viral particles in *Oryctes rhinoceros* adults feces and a new data for the virus characterization. J. Inv. Pathol. (sous presse).
- 16 - REVET B. et P. MONSARRAT 1973 - L'acide nucléique du virus du Coléoptère *Oryctes rhinoceros* L. : Un ADN superhélicoïdal de haut poids moléculaire - C. R. Acad. Sci. 278, série D 1973, 331-334.
- 17 - ZELAZNY B. 1972-1973 - Studies on rhabdionvirus *Oryctes*
J. Invert. Pathol., 20, 3, 235-241
J. Invert. Pathol., 22, 122-126
J. Invert. Pathol., 22, 359-363.
- 18 - Rapports semestriels du projet FAO/CPS.