

Sensibilité d'un prédateur culiciphage, *Toxorhynchites amboinensis* (Doleschall), à l'hyphomycète entomopathogène *Metarhizium anisopliae* (Sorokin)

Marc RAVALLEC ⁽¹⁾, Pierre-H. ROBERT ⁽¹⁾, Jean COZ ⁽²⁾

Résumé

Le champignon *Metarhizium anisopliae* est pathogène pour les larves de *Toxorhynchites amboinensis*, prédatrices de plusieurs espèces de moustiques. Les larves proies, *Aedes albopictus*, contaminées par ce cryptogame se comportent comme un réservoir d'inoculum capable d'infecter le prédateur.

Mots-clés : *Metarhizium anisopliae* — Spectre d'hôte — *Toxorhynchites amboinensis* — Prédation.

Summary

SUSCEPTIBILITY OF A CULICIPHAGOUS PREDATOR, *TOXORHYNCHITES AMBOINENSIS*, TOWARD THE ENTOMOPATHOGENIC HYPHOMYCÈTE *METARHIZIUM ANISOPLIAE*. The fungus *Metarhizium anisopliae* is pathogenic towards the predatory larvae of the mosquito *Toxorhynchites amboinensis*. The prey larvae, *Aedes albopictus*, infected by a fungus represent a potential inoculum for the predator.

Key words : *Metarhizium anisopliae* — Host spectrum — *Toxorhynchites amboinensis* — Predation.

Introduction

L'hyphomycète entomopathogène *Metarhizium anisopliae* dont l'agressivité à l'égard des larves de moustiques est réelle (Roberts, 1970, 1974 ; Riba *et al.*, 1986a et b), reste un agent potentiel de lutte contre les Culicidés. Cependant, le spectre d'hôte extrêmement large de cette espèce (Veen, 1968) rend nécessaire l'étude de son impact éventuel sur la faune non cible. C'est dans cette optique que nous avons éprouvé la sensibilité d'un moustique culici-

phage, *Toxorhynchites amboinensis*, récemment introduit à Tahiti comme agent de contrôle des moustiques vecteurs (Rivière *et al.*, 1979).

Par ailleurs, le rôle des proies comme réservoir de pathogène est classique dans de nombreux schémas épidémiologiques et la découverte par Nolan *et al.* (1973) d'une larve de *Toxorhynchites* infectée par *Coelomomyces macleayae* habituellement inféodé aux *Aedes* nous ont amené à étudier l'innocuité des larves infectées par l'agent des « muscardines vertes » sur ce prédateur.

(1) Station de Recherches de Lutte biologique, I.N.R.A., La Minière, 78280 Guyancourt, France.

(2) Entomologiste médical ORSTOM, 70-74 Route d'Aulnay, 93140 Bondy, France.

Matériel et méthodes

SOUCHE FONGIQUE

Nous avons retenu pour nos manipulations le pathotype Ma 139, l'un des plus agressifs de la mycothèque de La Minière sur les larves de moustiques (Riba *et al.*, 1984). Cette souche a été originellement isolée en 1981 de larves diapausantes d'*Ostrinia nubilalis* dans le Sud de la France.

MÉTHODES DE CULTURE

La souche est périodiquement repiquée sur milieu complet gélosé qui contient 10 g de glucose, 0,36 g de KH_2PO_4 , 1,42 g de Na_2HPO_4 , 1 g de KCl, 0,6 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, 0,7 g de NH_4NO_3 , 5 g d'extrait de levure, 20 g d'agar dans 1 000 ml d'eau distillée. Les conidies sont récoltées après 15 jours de culture à 25° C. La production en masse du germe est assurée par multiplication sur grains de riz préalablement stérilisés en sacs autoclavables. Dans les conditions optimales, on récolte ainsi 10^{10} spores par gramme de riz. Les conidies sont récupérées par lavage et la suspension mère est homogénéisée par agitation.

MOUSTIQUES

Rapportés de Papeete en 1981, les *Toxorhynchites* sont maintenus depuis en élevage permanent au Laboratoire d'Entomologie médicale de l'ORSTOM, à Bondy. En raison de leur extrême voracité, les larves de ce prédateur sont élevées individuellement selon la méthode décrite par Désenfant (1984) : chaque larve de cet auxiliaire est nourrie quotidiennement par six larves d'*Aedes albopictus* au stade 4.

MÉTHODES DE CONTAMINATION

Traitements topiques

Les larves de *Toxorhynchites amboinensis* sont immergées du stade 4 jusqu'à leur nymphose dans des suspensions conidiennes de titre connu. Les expérimentations sont conduites sur 25 larves par variante.

Ingestion de larves contaminées

Les larves proies de stade 4 sont immergées dans une suspension conidienne à 10^6 sp/ml. Cette dose a été choisie pour éviter les toxémies des con-

centrations élevées car les larves moribondes sont moins attractives pour les prédateurs. Les expérimentations sont conduites sur 40 larves. Les exigences nutritionnelles des prédateurs nous ont empêché de travailler sur un échantillon de taille plus élevée.

Résultats

La sensibilité des *Toxorhynchites* aux spores du pathotype Ma 139 est significative. Aux doses élevées ($\geq 10^7$ sp/ml) les larves sont sensibles aux toxines de ce germe (fig. 1). 46,6 % d'entre elles sont tuées au troisième jour après une période de morbidité, caractérisée notamment par une chute du taux de prédation.

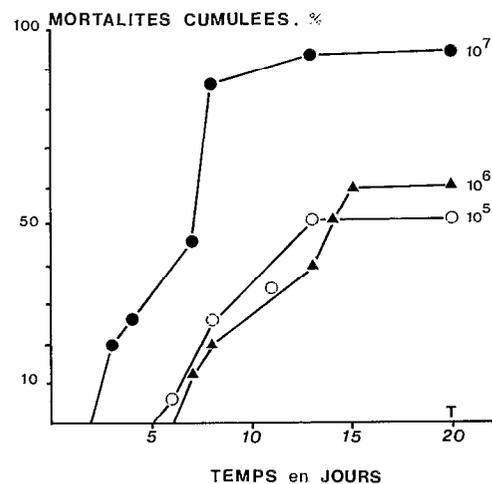


FIG. 1. — Pouvoir pathogène des spores de Ma 139 sur *Toxorhynchites amboinensis*

Par contre, les mortalités apparaissent tardivement après une période d'incubation lorsque la dose est égale ou inférieure à 10^6 sp/ml ; dans ces conditions le mode d'action du champignon suit une voie de type parasitaire normale, c'est-à-dire qu'il parvient à coloniser entièrement l'hémocèle.

De même, l'ingestion de larves de moustiques préalablement traitées avec *M. anisopliae* suffit à contaminer le prédateur. La figure 2 révèle que les premières morts apparaissent le sixième jour et, dès le dixième jour, près de la moitié de la population des *Toxorhynchites* est détruite. Finalement environ 70 % des larves prédatrices mourront de mycose au cours du premier mois qui suit l'ingestion des larves contaminées.

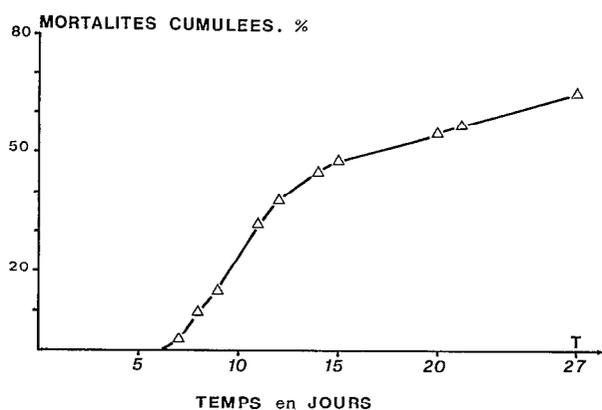


Fig. 2. — Développement d'une muscardine verte chez des larves de *Toxorhynchites amboinensis* prédatrices de larves d'*Aedes albopictus* préalablement contaminées par *Metarhizium anisopliae*

Discussion

Les barrières tégumentaires et immunitaires ne permettent pas aux larves de *Toxorhynchites amboinensis* de résister aux infections de *M. anisopliae*. Immergées dans des suspensions conidiennes, les larves de ce prédateur manifestent les mêmes réactions que les larves proies (Keita, 1982). Le germe agit par un double mode d'action : effet toxémique à forte dose (10^7 sp/ml) et parasitaire au-dessous de ce seuil. La durée élevée du quatrième stade larvaire des prédateurs qui peut s'étaler de 14 à 30 jours (Désenfant, 1984) peut même favoriser les infections parasitaires, le rejet des téguments contaminés étant différé.

La virulence du pathotype Ma 139 se répercute

donc sur les larves de *Toxorhynchites* ; selon le concept agressivité-résistance non spécifique, la virulence d'une souche sur un hôte se retrouve sur l'ensemble des autres hôtes potentiels (Van der Planck, 1975). De même, Riba *et al.* (1985) observent que la souche de *M. anisopliae* la plus agressive sur *Culex pipiens*, espèce sensible, provoque les plus hauts taux de mortalité sur le moustique le plus résistant, *Aedes aegypti*.

Les larves proies peuvent donc véhiculer ce germe à l'intérieur des écosystèmes et éventuellement infecter les autres niveaux trophiques. Après contamination, le tube digestif des proies peut être assimilé à un cylindre gorgé de spores infectieuses. Les proies sont entièrement ingérées et les spores pourraient infecter le prédateur au niveau des dérivés ectodermiques du tube digestif ou des pièces buccales, sites d'action potentiels (Roberts, 1970). Cependant les déjections des larves proies relâchent dans le milieu de nombreuses spores et l'hypothèse des contaminations tégumentaires ne peut être écartée.

L'absence de spécificité de cette souche réduit finalement ses possibilités dans la lutte biologique. L'emploi de *M. anisopliae* dans le cadre d'une lutte intégrée contre les Culicidés exige au préalable la sélection de souches dont le spectre parasitaire est plus restreint. Mais il faut toujours garder à l'esprit que la pathogénicité de ce germe n'affecte que quelques Arthropodes et les dégâts écologiques qu'il pourrait causer seront toujours inférieurs à ceux des organochlorés, d'autant plus que sa rémanence naturelle en milieu aquatique est très faible (Riba *et al.*, 1986a et b).

Manuscrit accepté par le Comité de Rédaction le 25 septembre 1986.

BIBLIOGRAPHIE

- DÉSENFANT (P.), 1984. — Biologie et paramètres de développement de *Toxorhynchites amboinensis* (Dobson, 1857), Diptères Nématocères Culicidae. Utilisation en virologie. Mémoire DEA, ORSTOM-Université Paris VI.
- KEITA (A.), 1982. — Contribution à l'étude de la sensibilité des Culicidae (Diptères Nématocères) à *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. et *Tolyocladium cylindrosporum* Gams. Thèse de 3^e cycle. Université Pierre et Marie Curie (Paris VI).
- NOLAN (R. A.), LAIRD (M.), CHAPMAN (H. C.) et GLENN (F. C.), 1973. — A mosquito Parasite from a Mosquito predator. *J. Invertebr. Pathol.*, 21, 172-175.
- RIBA (G.), AZEVEDO (J. L. de), MESSIAS (C.), DIA da SILVEIRA (W.) et TUVERON (R.), 1985. — Studies on the inheritance of virulence in the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *J. Invert. Pathol.*, 46 : 20-25.
- RIBA (G.), KEITA (A.), SOARES JR. (G. G.) et FERRON (P.), 1986a. — Comparative studies of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin and *Tolyocladium cylindrosporum* Gams as pathogen of Mosquito larvae. *J. Amer. Mosq. Contr. Assoc.*, sous presse.
- RIBA (G.), KEITA (A.) et VINCENT (J.-J.), 1984. — Sensibilité des larves de moustiques à différentes espèces d'hyphomycètes entomopathogènes. *Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol.*, 22, 4 : 271-277.
- RIBA (G.), ROBERT (P.-H.) et RAVALLEC (M.), 1986b. — Les champignons entomopathogènes des moustiques. IV^e Congrès

- sur la protection de la santé humaine et des cultures en milieu tropical, Marseille, 1986.
- RIVIÈRE (F.), PICHON (G.), DUVAL (J.), THIREL (R.) et TOUDIC (A.), 1979. — Introduction de *Toxorhynchites amboinensis* en Polynésie Française. *Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol.*, 18, 4 : 225-234.
- ROBERTS (D. W.), 1970. — *Coelomonyczes, Entomophthora, Beauveria* and *Metarhizium* as parasites of mosquitoes. *Miscell. Publ. Ent. Soc. Amer.*, 7, 1 : 140-155.
- ROBERTS (D. W.), 1974. — Fungal infections of Mosquitoes : 143-193, in *Le contrôle des moustiques*. (A. Aubin *et al.* eds.), Les Presses de l'Université, Québec, Montréal.
- VAN DER PLANCK (J. E.), 1975. — Principles of Plant Infection. Acad. Press, New York.
- VEEN (K. H.), 1968. — Recherches sur la maladie due à *Metarhizium anisopliae* chez le Criquet Pèlerin. Medeslingen Landbourwhogeschool Wageningen, 68, 117 p.