

UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE
PARIS VI

THESE

Présentée à
l'université Pierre et Marie Curie
pour obtenir le grade de
docteur de l'université

par

Dominique DAUTHUILLE

Etude écopathologique de deux
Baculovirus pathogènes de
Spodoptera frugiperda (J.E. Smith)
(Lépidoptère: Noctuidae) en
prairie guyanaise à
Digitaria swazilandensis Stent.

Soutenue le 25 novembre 1986 devant la commission d'examen

| | |
|----------------------------|------------|
| Mme - J. RACCAUD-SCHOELLER | Présidente |
| MM. - P. FERRON | Directeur |
| - G. CROIZIER | Rapporteur |
| - P. MONSARRAT | Rapporteur |
| - M. VERDIER | Examineur |

Centre O.R.S.T.O.M. de Cayenne, Guyane française

Station de recherches de lutte biologique, I.N.R.A.,
La Minière-Guyancourt

Station de recherches de pathologie comparée, I.N.R.A.-C.N.R.S.,
St-Christol-les-Alès

1986

DAUTHUILLE DOMINIQUE

UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE PARIS 6

ETUDE ECOPATHOLOGIQUE DE DEUX BACULOVIRUS PATHOGENES DE SPODOPTERA FRUGIPERDA (J. E. SMITH) (LEPIDOPTERE: NOCTUIDAE) EN PRAIRIE GUYANAISE A DIGITARIA SWAZILANDENSIS STENT.

RESUME: Deux Baculovirus, une granulose et une polyédrose nucléaire, isolés de Spodoptera frugiperda (J. E. Smith) en Guyane française sont décrits. Les deux maladies sont responsables d'enzooties dans les populations du ravageur en prairie à Digitaria swazilandensis Stent. La valeur maximale de la mortalité larvaire naturelle engendrée par les deux virus, déterminée après échantillonnage et élevage au laboratoire, est de 32%. La cyclicité de la présence sur une même parcelle de la noctuelle et de ses Baculovirus est due au mode de conduite des exploitations agricoles. Les taux de mortalité larvaire par granulose et par polyédrose nucléaire sont variables d'une parcelle à une autre, et un équilibre dynamique se maintient entre les deux viroses.

L'introduction d'un mélange des deux virus a permis de montrer que les larves jouent un rôle important dans la dissémination des pathogènes dans la prairie. La présence plus importante de la polyédrose nucléaire dans les larves parasitées par rapport aux larves non parasitées a été enregistrée et est discutée. Deux prédateurs Nabis capsiformis (Hétéroptère: Nabidae) et Polistes sp. (Hyménoptère: Vespidae) sont capables, après ingestion de larves virosées, de disséminer les deux Baculovirus par leur fèces. Le transit intestinal est sans action sur les corps d'inclusions qui conservent leur virulence. Le suivi des déplacements du prédateur Polistes sp. montrent que cet insecte est susceptible au cours de sa quête de parcourir des distances supérieures à 600 m. Ce résultat, allié à son comportement alimentaire, fait de ce prédateur un disséminateur potentiel important des deux Baculovirus.

L'application en surface et à faible volume d'une suspension virale, apparemment souhaitable eu égard au comportement des larves du ravageur, ne fournit pas les résultats escomptés à cause de l'attaque continue de la parcelle après traitement et de l'inactivation très rapide des virus. L'activité d'une suspension virale, estimée par essais biologiques conduits au laboratoire avec le feuillage traité, a chuté de 75% en 18 heures.

L'étude entreprise souligne, compte tenu de la complexité des relations existant entre les virus leur hôte et l'environnement, la nécessité de mettre en place un suivi écopathologique, avant toute application raisonnée des virus en lutte microbiologique. De nouvelles techniques de diagnostic ne faisant pas intervenir de quarantaine (E.L.I.S.A), peuvent être utilisées dans ce but.

MOTS-CLES: Spodoptera frugiperda, Baculovirus, polyédrose nucléaire, granulose, écopathologie, traitement microbiologique, Guyane française, prairie, Digitaria swazilandensis, taux de mortalité, prévalence, persistance, répartition, dissémination, comportement, parasites, prédateurs, échantillonnage, E.L.I.S.A.

ECOPATHOLOGICAL STUDIES ON TWO BACULOVIRUSES PATHOGENIC TO SPODOPTERA FRUGIPERDA (J. E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) IN A DIGITARIA SWAZILANDENSIS STENT. PASTURE

SUMMARY: A granulosis virus and a nuclear polyhedrosis virus, both isolated in French Guyana from Spodoptera frugiperda (J. E. Smith), are described. The two baculoviruses cause enzootic diseases among populations of the pest infesting pastures of Digitaria swazilandensis Stent. Field sampling and laboratory rearing show that the highest rate of natural larval mortality due to the viruses is 32%. The cyclical occurrence of the noctuid and its baculoviruses on one given plot is related to cattle rotation on the grazing plots. Larval mortality rates due to the granulosis and nuclear polyhedrosis vary from plot to plot; the two viruses maintain themselves in a dynamic equilibrium.

Introduction of a mixture of the two viruses showed that the larvae play an important role in the dissemination of the pathogens. The higher occurrence of the NPV found in parasitized compare to unparasitized larvae is discussed. Two predators, Nabis capsiformis (Heteroptera: Nabidae) and Polistes sp. (Hymenoptera: Vespidae) are able to disseminate the baculoviruses in their feces, after feeding on diseased larvae. The inclusion bodies keep their virulence following passage through the alimentary tract of the two predators. Field studies showed that the predatory wasp is able to cover distances of over 600 m while searching for its preys. This flight behavior combined with the feeding habits of the predator make Polistes sp. an important potential propagator of the baculoviruses.

A low volume surface application of a viral suspension did not give results expected from the known larval behavior; failure to control the pest in the treated plot was due to continuous reinfestation following treatment and to very rapid inactivation of the virus. Laboratory bioassays with a viral suspension applied to foliage showed a 75% decrease in the activity of the virus within 18 hours.

This study emphasizes the need for ecopathological monitoring of the virus-host-environment complex relationships prior to any use of the virus in microbiol control. New diagnostic technics, which do not require quarantine, such as E.L.I.S.A., can be used for this purpose.

KEY-WORDS: Spodoptera frugiperda, baculoviruses, nuclear polyhedrosis, granulosis, ecopathology, microbiol control, French Guyana, grasslands, Digitaria swazilandensis, mortality rate, prevalence, persistence, localisation, dissemination, behavior, parasites, predators, sampling, E.L.I.S.A.

A Marie

A Audrey et Steven

AVANT PROPOS

Je profite de l'occasion qui m'est donnée pour adresser mes remerciements les plus vifs à Monsieur P. Monsarrat, qui a su, par son dynamisme, susciter en moi la vocation de la pathologie des invertébrés.

C'est avec un très vif plaisir que je remercie Monsieur P. Ferron, pour avoir dirigé mes travaux et avoir su me guider par ses remarques pertinentes, durant les quatre années passées.

Je tiens à exprimer ici ma profonde reconnaissance à Monsieur G. Croizier pour les excellents conseils qu'il a su me donner durant les mois où j'ai eu le plaisir de travailler à ses côtés. Ses connaissances sur la virologie des insectes, et son analyse de cette discipline, ont été très utiles à l'orientation de mes recherches.

Que Madame Raccaud-Schoeller dont j'avais déjà pu apprécier les qualités d'enseignante durant ma scolarité, et qui me fait l'honneur de présider mon jury de thèse, trouve dans ces quelques lignes l'expression de toute ma considération.

Je prie également Monsieur M. Verdier d'accepter mes plus sincères remerciements pour sa participation à la critique du travail présenté.

Que Monsieur le Professeur C. Vago, membre de l'Institut, trouve ici l'expression de ma plus sincère gratitude, pour m'avoir accueilli à la station de Recherches de Pathologie Comparée des Invertébrés de St-Christol-Lès-Alès.

Comment ne pas mentionner ici, la sympathie, et l'amitié que Madame L. Croizier a su si bien me prodiguer parallèlement à l'encadrement technique hors pair dont elle a fait preuve.

Il en est de même pour Monsieur G. Biache, et Mademoiselle M. Severini à qui je voue le plus profond respect pour le travail qu'ils ont accomplis à mes cotés.

C'est avec plaisir que j'associe à ces remerciements Mesdames A. Amargier et N. Bres, pour leurs précieux conseils en histologie, ainsi que Madame F. Odier pour l'aide qu'elle m'a apporté dans l'application des techniques immunologiques.

Je prie Messieurs G. Kuhl et J. L. Duthoit ainsi que Mademoiselle Y. Serre de trouver ici l'expression de ma sincère reconnaissance pour le travail qu'ils ont accompli en microscopie électronique.

Que Messieurs, J. Tissandier et J. Michotte, directeurs du centre ORSTOM de Cayenne, qui m'ont accueilli durant mon séjour outre-mer, en soient ici chaleureusement remerciés.

Enfin, que l'ensemble du personnel des stations de La Minière et de St-Christol-Lès-Alès, que je m'excuse de ne pouvoir tous citer, et qui ont participé, sous quelque forme que ce soit, au travail présenté ici trouvent en ces quelques lignes l'expression de toute ma sympathie.

SOMMAIRE

| | page |
|---|------|
| <u>INTRODUCTION</u> | 1 |
| <u>CHAPITRE I. LES ENTOMOVIRUS, FACTEURS DE REGULATION DES POPULATIONS D'INSECTES</u> | 5 |
| A. CONDITIONS D'UTILISATION..... | 9 |
| 1) Notion de cultures pérennes..... | 9 |
| 2) Notion de rapidité d'action..... | 10 |
| B. RAPPORTS AVEC L'ENVIRONNEMENT..... | 11 |
| 1) Aspects positifs: spécificité, innocuité, biodégradation..... | 11 |
| 2) Aspects négatifs: les facteurs antagonistes des entomopathogènes..... | 12 |
| C. LE CYCLE DES VIRUS DANS LA NATURE..... | 14 |
| 1) Transmission verticale..... | 16 |
| 2) Transmission horizontale..... | 17 |
| <u>CHAPITRE II. CARACTERISTIQUES BIOCENOTIQUES DU MILIEU D'ETUDE: LA PRAIRIE GUYANAISE A DIGITARIA SWAZILANDENSIS STENT</u> | 21 |
| A. CARACTERISTIQUES GEOGRAPHIQUES GENERALES DE LA GUYANE FRANCAISE..... | 23 |
| 1) Le milieu physique..... | 23 |
| 2) Le milieu humain..... | 24 |
| B. PRESENTATION DU BIOTOPE ETUDIE..... | 25 |

| | |
|---|----|
| C. LE RAVAGEUR PRINCIPAL, <u>SPODOPTERA FRUGIPERDA</u> (J. E. SMITH) | |
| (LEPIDOPTERE: <u>NOCTUIDAE</u>) | 26 |
| 1) Position systématique..... | 26 |
| 2) Répartition géographique..... | 27 |
| 3) Bionomie..... | 27 |
| 4) Importance économique..... | 33 |
| D. LES BACULOVIRUS DE <u>SPODOPTERA FRUGIPERDA</u> | 36 |
| 1) Rappel sur les caractéristiques générales des Baculovirus.... | 36 |
| 2) Les Baculovirus de <u>Spodoptera frugiperda</u> | 37 |
| <u>CHAPITRE III. MATERIEL ET TECHNIQUES</u> | 43 |
| A. TECHNIQUES D'ÉCHANTILLONNAGE UTILISÉES SUR LE TERRAIN | 47 |
| 1) Échantillonnage des populations de <u>Spodoptera frugiperda</u> | 47 |
| 2) Échantillonnage des populations du prédateur <u>Nabis</u> <u>capsiformis</u> Germar (Hétéroptère: <u>Nabidae</u>)..... | 52 |
| 3) Relevés effectués sur les prédateurs <u>Vespidae</u> | 52 |
| B. TECHNIQUES D'ÉLEVAGE | 53 |
| 1) <u>Spodoptera frugiperda</u> | 53 |
| 2) <u>Nabis capsiformis</u> Germar..... | 57 |
| 3) <u>Polistes</u> sp..... | 58 |
| C. TECHNIQUES DE PATHOLOGIE EXPERIMENTALE | 59 |
| 1) Infection <u>per os</u> | 59 |
| D. TECHNIQUES CYTOLOGIQUES | 60 |
| 1) Microscopie photonique..... | 60 |
| 2) Microscopie électronique..... | 61 |

| | |
|---|-----------|
| E. TECHNIQUES DE PURIFICATION DES VIRUS ET DES ADN..... | 61 |
| 1) Broyage des larves..... | 61 |
| 2) Purification des corps d'inclusion..... | 61 |
| 3) Extraction et purification des virions..... | 62 |
| 4) Extraction de l'ADN..... | 62 |
| F. TECHNIQUES BIOCHIMIQUES..... | 63 |
| 1) Analyse de l'ADN par les enzymes de restriction..... | 63 |
| G. TECHNIQUES D'ELECTROPHORESE EN GEL D'AGAROSE..... | 64 |
| H. TECHNIQUES IMMUNOLOGIQUES..... | 64 |
| 1) Préparation des immun-sérums..... | 64 |
| 2) Immunodiffusion en gel d'agarose..... | 65 |
| 3) Technique E.L.I.S.A..... | 65 |
| <u>CHAPITRE IV. LA POLYEDROSE NUCLEAIRE ET LA GRANULOSE DE</u> | |
| <u>SPODOPTERA FRUGIPERDA.....</u> | 67 |
| A. CARACTERISATION DES VIRUS ETUDIES..... | 69 |
| 1) Caractéristiques générales des virus étudiés..... | 69 |
| 2) Nombre de fragments obtenus après l'action des enzymes de | |
| restriction..... | 70 |
| 3) Estimation du poids moléculaire des génomes..... | 75 |
| 4) Discussion..... | 77 |
| B. CONSIDERATIONS SUR L'UTILISATION DE LA TECHNIQUE E.L.I.S.A. | |
| DANS LE DIAGNOSTIC IMMUNOLOGIQUE DES INFECTIONS A BACULOVIRUS..... | 78 |
| 1) Choix des immun-sérums..... | 78 |
| 2) Concentration des sérums employés..... | 81 |
| 3) Variations individuelles..... | 81 |

| | |
|--|------------|
| 4) Absorption des sérums..... | 82 |
| 5) Importance de la composition des solutions coatées..... | 83 |
| 6) Discussion..... | 84 |
| <u>CHAPITRE V. ECOPATHOLOGIE DES INFECTIONS VIRALES A BACULOVIRUS.....</u> | 87 |
| A. CONSIDERATIONS SUR LES TECHNIQUES D'ECHANTILLONNAGE DES POPULATIONS LARVAIRES DE <u>SPODOPTERA FRUGIPERDA</u>..... | 89 |
| 1) Comparaison des deux techniques employées..... | 89 |
| 2) Evolution qualitative des effectifs capturés au filet fauchoir au cours du temps: fiabilité de la technique..... | 91 |
| 3) Discussion..... | 92 |
| B. IMPACT NATUREL DES DEUX BACULOVIROSES DE <u>SPODOPTERA FRUGIPERDA</u> EN PRAIRIE A <u>DIGITARIA SWAZILANDENSIS</u>..... | 93 |
| 1) Evolution des populations larvaires de <u>Spodoptera frugiperda</u> | 94 |
| 2) Evolution du rôle joué par les deux baculoviroses dans la limitation des populations larvaires de <u>Spodoptera frugiperda</u> | 95 |
| 3) Discussion..... | 98 |
| <u>CHAPITRE VI. ESSAI D'INTERVENTION DE L'HOMME SUR LES RELATIONS HOTE-PATHOGENES DANS LA PRAIRIE A DIGITARIA SWAZILANDENSIS</u>..... | 103 |
| A. COMPORTEMENT LARVAIRE POUVANT INFLUER SUR L'ENDEMISME DES VIROSES..... | 105 |
| 1) Préférence-non préférence feuillage sain-feuillage traité...105 | |
| 2) Influence de la localisation spatiale des larves sur le développement de la maladie..... | 111 |
| 3) Discussion..... | 111 |

| | |
|---|----------------|
| B. CONSEQUENCES DE L'INTRODUCTION ARTIFICIELLE DE VIRUS DANS L'ENVIRONNEMENT..... | 113 |
| 1) Conditions d'application des Baculovirus, protocole expérimental..... | 113 |
| 2) Efficacité des Baculovirus..... | 115 |
| 3) Dissémination horizontale des virus..... | 117 |
| 4) Relations virus-parasites..... | 119 |
| 5) Discussion..... | 120 |
| C. PERSISTANCE DES VIRUS DANS L'ENVIRONNEMENT..... | 123 |
| 1) Protocole expérimental..... | 123 |
| 2) Résultats..... | 125 |
| 3) Discussion..... | 128 |
| <u>CHAPITRE VII. ETUDE DE L'INTERACTION FAUNE AUXILIAIRE-PATHOGENES: CAS PARTICULIER DES PREDATEURS.....</u> | 131 |
| A. ETUDE DU POUVOIR DE TRANSMISSION DES DEUX BACULOVIRUS PAR LES PREDATEURS <u>NABIS CAPSIFORMIS</u> GERMAR (HETEROPTERE: <u>NABIDAE</u>) ET <u>POLISTES SP.</u> (HYMENOPTERE: <u>VESPIDAE</u>)..... | 133 |
| 1) <u>Nabis capsiformis</u> Germar..... | 133 |
| 2) <u>Polistes sp.</u> | 137 |
| 3) Discussion..... | 138 |
| B. ETUDE DU POUVOIR DE DISSEMINATION DES VIRUS PAR LES <u>VESPIDAE</u> DU GENRE <u>POLISTES</u>..... | 139 |
| 1) Comportement favorisant la dissémination des Baculovirus.... | 139 |
| 2) Répartition spatiale du prédateur <u>Polistes sp.</u> | 140 |
| 3) Discussion..... | 142 |
| <u>CONCLUSION ET DISCUSSION.....</u> | 145 |

BIBLIOGRAPHIE.....155

LISTE DES NOMS D'INSECTES CITES.....195

PLANCHES HORS-TEXTE.

INTRODUCTION

La noctuelle Spodoptera frugiperda (J. E. Smith) (Lépidoptère: Noctuidae) est un des premiers ravageurs des productions agricoles sur l'ensemble du continent américain.

La lutte contre cet insecte est compliquée par la diversité des plantes hôtes qu'il colonise, ainsi que par sa vaste répartition géographique associée à des possibilités de dispersion importantes.

Jusqu'à présent les efforts entrepris pour combattre ce ravageur ont porté essentiellement sur la lutte chimique. La nécessité de mettre au point une lutte intégrée fait maintenant l'unanimité, d'autant que l'apparition de phénomènes de résistance vis à vis de certains insecticides chimiques a été enregistrée (Gardner et al. 1982; Janes et Greene, 1969; Young, 1979; Young et McMillian, 1979).

Les pratiques culturales, rotations et associations végétales figurent parmi les nouvelles méthodes de la lutte dite biologique envisagées contre S. frugiperda (Altieri, 1980; Gardner et Duncan, 1983; Hopkins et Culp, 1984; Lynch et al., 1980; Shenk et Saunders, 1984).

Les relations plantes hôtes-ravageur, les anti-appétants, sont de même étudiés dans le but de sélectionner des variétés résistantes aux attaques de la noctuelle (Altieri et al., 1984; Brett et Bastida, 1963; Leuck, 1970, 1972; Leuck et al., 1968, 1974; McMillian et Starks, 1966; McMillian et al., 1966, 1969; Wilson et Burton, 1980; Wiseman et Davis, 1979; Wiseman et al., 1983; Zalkow et al., 1979).

La perturbation des communications phéromonales a été envisagée pour réduire le niveau des populations de S. frugiperda (Mitchell et al., 1974, 1976).

Une lutte autocide par stérilisation chimique ou physique a de même été entreprise sur l'espèce (Carpenter et al., 1983; Cox et al. 1967; Snow et al., 1970, 1972; Young et Cox, 1965; Young et al. 1968).

L'utilisation des agents biotiques antagonistes des populations du ravageur que sont les prédateurs et les parasites est une composante importante de la lutte intégrée contre S. frugiperda. Elle est le plus souvent réalisée sous la forme d'introduction d'insectes absents d'une zone géographique donnée (Van Waddill et Whitcomb, 1982; Yaseen et al., 1981).

Enfin il convient de citer la lutte microbiologique comme outil intéressant de régulation des populations du ravageur. Les nématodes (Landazabal et al., 1973), les champignons entomopathogènes (Boucias et al., 1982; Gardner et al., 1977; Hamm, 1980), les protozoaires (Fuxa, 1981; Henry, 1981) et les virus, en particulier les Baculovirus, présentent tous des potentialités intéressantes pour une utilisation dans la lutte contre la noctuelle.

En ce qui concerne cette dernière catégorie de pathogènes, son utilisation est répandue pour de nombreux ravageurs des cultures. Cependant, force est de constater, que l'utilisation des virus entomopathogènes, essentiellement des Baculovirus, reste encore très limitée et accompagnée de résultats parfois peu encourageants. L'explication de ces résultats réside dans le fait que les relations naturelles entre les Baculovirus et leurs hôtes sont encore très mal connues. Dès lors, l'introduction artificielle des germes, calquée généralement sur le modèle insecticide chimique, est entachée des incertitudes que l'on connaît. La compréhension des phénomènes écopathologiques est donc essentielle pour appréhender correctement l'utilisation des pathogènes dans un biotope donné, or relativement peu d'études ont été consacrées à ce sujet.

La pérennité du milieu prairie à Digitaria swazilandensis Stent se prêtait à un suivi continu de deux baculoviroses naturellement présentes dans les populations larvaires de S. frugiperda.

De plus l'absence de données relatives à l'insecte dans cette partie du monde et les dégâts importants qu'il est capable d'y commettre

constituaient un argument en faveur de l'étude de S. frugiperda et de ses virus en Guyane française.

La caractérisation précise des deux virus a été entreprise au cours d'un premier chapitre afin de définir clairement le matériel étudié.

Un second chapitre est consacré à la dynamique des deux populations virales naturelles et de leur hôte. L'évolution des taux de mortalité larvaires engendrés par les deux maladies virales en relation avec le milieu a été observée durant trois années consécutives.

Une approche complémentaire des phénomènes écopathologiques a ensuite été entreprise par le biais de l'introduction des virus dans le biotope prairie à D. swazilandensis. Parallèlement à ces travaux une analyse du comportement alimentaire de l'hôte a été entreprise, afin de préciser la possibilité de rencontre des virus et de leur hôte dans la nature. La persistance des virus dans l'environnement a été étudiée par l'intermédiaire d'un essai biologique entrepris au laboratoire avec un feuillage traité au champ.

Les interactions particulières prédateur-virus qui ont fait l'objet d'une étude plus précise ont été regroupées dans un dernier chapitre. L'infectivité des fèces de deux prédateurs Nabis capsiformis Germar et Polistes sp., alimentés sur larves virosées, a été éprouvée. Enfin, l'étude du mouvement des guêpes du genre Polistes a été entreprise afin de définir les potentialités de dispersion des virus par ces prédateurs.

CHAPITRE I

LES ENTOMOVIRUS, FACTEURS DE REGULATION DES POPULATIONS D'INSECTES

| | |
|--|-----------|
| A. CONDITIONS D'UTILISATION..... | 9 |
| 1) Notion de cultures pérennes..... | 9 |
| 2) Notion de rapidité d'action..... | 10 |
| B. RAPPORTS AVEC L'ENVIRONNEMENT..... | 11 |
| 1) Aspects positifs: spécificité, innocuité, biodégradation..... | 11 |
| 2) Aspects négatifs: les facteurs antagonistes des entomopathogènes. | 12 |
| a) La température..... | 13 |
| b) Le rayonnement ultraviolet..... | 13 |
| C. LE CYCLE DES VIRUS DANS LA NATURE..... | 14 |
| 1) Transmission verticale..... | 16 |
| 2) Transmission horizontale..... | 17 |
| a) Transmission par l'insecte hôte: autodissémination..... | 17 |
| b) Transmission par les parasites et les prédateurs..... | 17 |
| c) Autres modes de transmission..... | 18 |
| d) Persistance..... | 18 |

LES ENTOMOVIRUS, FACTEURS DE REGULATION DES POPULATIONS D'INSECTES

L'idée de l'utilisation des virus en lutte biologique est une conséquence de la découverte, chez les insectes, depuis le début du siècle de nombreux pathogènes viraux. Plus de 1100 virus ont été décrits, dans l'ensemble de ce groupe animal (Martignoni et Iwai, 1981).

La présence des entomovirus, a été enregistrée chez les plus grands ravageurs des cultures et des forêts: Heliothis zea (Lépidoptère: Noctuidae), Spodoptera frugiperda, Lymantria dispar (Lépidoptère: Lymantriidae), Neodiprion sertifer (Hyménoptère: Diprionidae); ainsi que sur les plus importants vecteurs de maladies humaines: Aedes aegypti, Culex pipiens (Diptères: Culicidae)...

Les descriptions d'épizooties naturelles, qui prouvent que les virus d'insectes sont naturellement capables de réguler de façon spectaculaire les populations de ravageurs sont un argument majeur et communément évoqué, en faveur de l'utilisation des entomovirus (Balch et Bird, 1944; Entwistle, 1977; Federici, 1978; Leonard, 1974; Stairs, 1972).

Afin d'apprécier le rôle exact que les virus jouent dans la dynamique des populations d'insectes hôtes, de nombreuses études ont porté sur l'estimation de la mortalité qu'ils engendrent au sein de ces populations. Dans certains cas l'impact naturel des viroses est très faible: moins de 1% de larves infectées par exemple chez Pterocera amplicornis (Lépidoptère: Anthelidae) (Day et al., 1953). Cependant de nombreux auteurs décrivent des taux de mortalité non négligeables, qui justifient la part qui doit être réservée aux virus entomopathogènes en lutte biologique (Fuxa, 1982; Pavar et al., 1981; Schwehr et Gardner, 1982).

Il est important de signaler que, pour des raisons inhérentes à la difficulté de mise en évidence des infections sublétales, la plupart des travaux entrepris ne prennent en compte que les taux de mortalité engendrés par les virus. L'estimation de la prévalence d'une maladie, définie dans toute la suite du texte comme le nombre total de cas de maladie à un moment donné et dans une population donnée, est cependant un aspect essentiel de l'estimation de l'efficacité d'un virus entomopathogène. En effet, un certain nombre de phénomènes, regroupés sous le terme de morbidité, peuvent affecter la survie d'une espèce sans qu'aucune mortalité ne soit observée. La présence d'un virus peut ainsi engendrer un allongement du cycle, une diminution du poids des nymphes, ou encore une baisse des taux de fertilité et de fécondité. Ce type de phénomènes sont fréquemment rencontrés chez les virus appartenant au groupe des polyédroses cytoplasmiques (Bullock et al., 1970; Simmons et Sikorowski, 1973; Vail et Gough, 1970).

De très nombreux travaux menés en laboratoire ont prouvés que les virus d'insectes sont des pathogènes très efficaces. Ainsi, si la démonstration des potentialités des virus entomopathogènes n'est donc plus à faire, il est normal de s'étonner que ceux-ci n'aient pu supplanter, après 50 années de recherches, les insecticides chimiques. La réponse à cette question réside dans l'extrême complexité des rapports hôte-virus-environnement. En effet, si l'on suppose les problèmes de production résolus: production à grande échelle, standardisation, formulation, (ce qui est encore loin d'être le cas puisque moins d'une dizaine de préparations commerciales virales sont actuellement disponibles sur le marché des pesticides) se posent encore tous les problèmes inhérents à l'application et à l'efficacité in situ des suspensions appliquées.

Les insectes sont sans conteste les plus grands compétiteurs de l'homme pour son alimentation, et les problèmes qu'ils causent doivent être généralement réglés au plus vite, compte tenu d'impératifs aussi immédiats que famine et surpopulation. La démarche des partisans de la lutte biologique par entomopathogènes se heurte à chaque pas à la disponibilité de produits aussi efficaces que les insecticides chimiques.

Cependant, l'apparition de phénomènes de résistance, de plus en plus fréquents, vis à vis des insecticides chimiques (FAO/OMS, 1973), l'absence de spécificité de ces produits vis à vis des autres occupants de l'environnement et en particulier de la faune auxiliaire. L'accumulation des pesticides chimiques dans les écosystèmes, leur concentration à chaque niveau des chaînes trophiques (Dajoz, 1975; Pesson, 1973), ont poussé les chercheurs et personnels chargés de protection des cultures vers d'autres voies, et en particulier vers l'utilisation des virus entomopathogènes.

Les conditions d'application, les rapports des entomovirus avec leur environnement doivent être définis de façon précise afin que ce type de lutte puisse se développer activement. Une place importante doit être réservée à l'étude des phénomènes écopathologiques afin de pouvoir comprendre et expliquer les raisons de l'échec de bons nombres d'applications.

A. CONDITIONS D'UTILISATION

1) Notion de cultures pérennes

Un des principaux obstacles rencontré au cours de l'utilisation d'un virus est l'absence de pérennité du milieu d'application. La notion d'équilibre écologique du milieu est, pour les virus, très importante, une contamination naturelle des hôtes ne pouvant avoir lieu que si les virus sont présents. La probabilité de présence d'un germe en un site donné sera d'autant plus forte que la probabilité de présence de l'hôte le sera ou l'aura été, ce qui signifie que les milieux pérennes sont des sites de choix pour une mise en application de la lutte par entomovirus.

Si de nombreux résultats parfois très satisfaisants ont été obtenus à l'aide de préparations virales, la plupart des essais entrepris en comparaison avec des insecticides chimiques se soldent cependant par un avantage en faveur de ces derniers. Ce résultat n'est pas un inconvénient majeur si l'on envisage les possibilités de maintien

des germes et leur action renouvelée, à long terme, en milieu pérenne. C'est dans de tels milieux que les potentialités des insecticides viraux se trouvent les mieux employées. Il est en effet possible d'y envisager des phénomènes aussi intéressants que l'induction d'épizootie et la régulation à long terme des populations, qui sont sans conteste parmi les meilleurs arguments en vue de leur utilisation.

De plus, puisque moins déséquilibrés, les milieux pérennes sont plus sensibles aux bouleversements intenses provoqués par l'introduction de pesticides chimiques. La richesse de la faune de ces milieux oriente l'utilisation des virus de manière plus écologique, par une prise en compte des multiples interactions établies entre le milieu et ses occupants, alors qu'en d'autres milieux, l'utilisation des productions virales est envisagée ponctuellement de la même manière qu'un insecticide chimique classique.

2) Notion de rapidité d'action

Si certaines productions agricoles ou forestières, peuvent supporter un certain nombre de dégâts sans préjudice financier notable (prairies, forêts), il existe des cultures pour qui le moindre dégât se traduit comme une perte pure et simple du produit (arboriculture fruitière, culture sous serre). Dans ce dernier cas la nécessité d'une action efficace et immédiate, de l'insecticide appliqué se fait ressentir.

Le stade de la plante durant lequel a lieu l'attaque du ravageur joue aussi, dans la notion d'intervention rapide, un rôle considérable. Une attaque sur jeunes plants, par exemple, doit être sévèrement et rapidement limitée, alors que sur végétal plus âgé une régulation plus lente des populations du ravageur pourra être tolérée.

Ces diverses considérations sont d'une très grande importance en ce qui concerne les entomovirus, puisque ceux-ci ne tuent leurs hôtes qu'après une période d'incubation plus ou moins rapide. Si les impératifs de temps ne peuvent être occultés, le choix de germes à effet rapide s'impose. Les polyédroses nucléaires et les densoviroses se trouvent

donc être prioritaires dans ce type de raisonnement, par rapport à d'autres virus présentant des temps létaux plus importants tels que granuloses ou polyédroses cytoplasmiques.

Cependant, si contrairement aux insecticides chimiques, les virus entomopathogènes ne détruisent pas immédiatement les populations de leurs hôtes, de nombreux travaux montrent que leur présence se traduit par une diminution de la consommation, et par conséquent des dégâts occasionnés aux cultures. La comparaison de l'efficacité d'un virus entomopathogène et d'un insecticide classique doit donc être réalisée sur la notion de dégât ou de rendement plutôt que sur celle des effectifs collectés après traitement.

B. RAPPORTS AVEC L'ENVIRONNEMENT

1) Aspects positifs: spécificité, innocuité, biodégradation

Les notions de spécificité et d'innocuité sont intimement liées. Les virus inclus, appartenant au groupe des Baculovirus et Reovirus, sont extrêmement spécifiques. La trop grande spécificité affichée par certains types de virus (granuloses par exemple) constitue d'ailleurs un obstacle à leur développement commercial. L'extension des spectres d'hôtes, souhaitée à des fins de rentabilité, a été réalisée pour certains virus mais reste très limitée à une famille ou à un genre d'insecte (David, 1975). L'absence d'infectivité des entomovirus sur les insectes parasites ou prédateurs se nourrissant d'insectes contaminés illustre bien la stricte spécialisation de ces germes. De même, les divers suivis d'animaux vertébrés entrepris au cours d'épizooties naturelles concluent tous à l'innocuité des entomovirus concernés par ces études (Lautenschlager et al., 1980)

Le premier insecticide composé d'une poudre virale à être autorisé pour utilisation a été le virus d'Heliothis en 1970 (Ignoffo, 1973). Depuis cette date plusieurs préparations virales ont été commercialisées. Elles appartiennent toutes au sous-groupe A des

Baculovirus, exception faite du CPV de Dendrolimus spectabilis (Lépidoptère: Lymantriidae) (Kawase, 1983). L'homologation de ces produits signifie que ceux-ci ont subi de nombreux tests prouvant leur innocuité vis à vis d'espèces témoins (Burges et al., 1980 a et b; Gourreau et al., 1979; Gröner et Döller, 1982; Reimann et Miltenburger, 1982, 1983).

D'une manière générale la dégradation des virus, sous l'action des facteurs antagonistes qui font l'objet d'un développement au paragraphe suivant, est très rapide. Cette caractéristique fait que les risques de pollution après introduction des virus, dans un environnement où ils sont déjà présents sont peu élevés. En revanche c'est un des principaux obstacles à leur utilisation comme méthode de lutte.

2) Aspects négatifs: les facteurs antagonistes des entomopathogènes

Les différences observables entre les résultats obtenus en plein champ et ceux issus des manipulations de laboratoire sont dues à un événement essentiel. Cet événement, qui est la rencontre du virus avec son hôte à une dose létale, n'est pas spécifique à l'utilisation des agents pathogènes d'origine virale, mais est général à l'emploi d'un pesticide quel qu'il soit.

Cependant, alors qu'un simple contact est nécessaire avec la plupart des substances létales chimiques communément employées, la contamination de l'insecte par un insecticide viral nécessite, pour la majorité des agents viraux dont l'utilisation est envisagée, une étape supplémentaire qui est l'ingestion du virus. L'inactivation des virus sous l'action des agents antiviraux est fonction de la durée de cette étape à laquelle de nombreux auteurs se sont donc intéressés. Deux grandes voies d'investigation ont été de ce fait développées.

La première, la plus classique consiste en une adaptation des méthodes d'application au ravageur visé. Elle ne diffère donc pas fondamentalement des préoccupations de l'ensemble des personnels chargés de la protection des cultures, et regroupe des travaux menés sur les doses, les époques, et les techniques d'application optimales.

La deuxième voie, plus originale, est liée à la nécessité d'ingestion imposée par le mode de transmission per os des virus. Le but des travaux entrepris est l'augmentation de la consommation des virus par les insectes, par addition de stimulants gustatifs ou olfactifs (Allen et Pate, 1966; Andrews et al., 1975; Bell et Karnavel, 1977; Bell et Romine, 1980; Hostetter et al., 1982; McLaughlin et al., 1971; Montaya et al., 1966; Smith et al., 1982; Stacey et al., 1977). Le temps d'ingestion de la dose létale se trouve de ce fait accéléré et la contamination des larves a donc lieu avant que les facteurs du milieu, qui provoquent la perte d'activité du virus, ne puissent intervenir. Les principaux facteurs antagonistes des virus sont la température et les rayonnements ultraviolets.

a) La température

La température constitue un facteur important de perte d'activité des virus qui est dépendante à la fois de la température et du temps d'exposition du virus à une température donnée (Boucias et al., 1980; Johnson et al., 1982, Stairs et Milligan, 1979). Martignoni et Iwai (1977) dressent une liste des points d'inactivation d'un certain nombre de Baculovirus.

L'inactivation du virus peut se produire à l'intérieur de l'hôte lorsque celui-ci est exposé à des températures élevées mais non létales (Bird, 1955; Stairs, 1978; Tanada et Tanabe, 1965; Thompson, 1959).

Ces phénomènes d'inactivation par la température, posent bien évidemment des problèmes lors de l'application des virus au champ, mais ils soulèvent aussi des problèmes au niveau du stockage et de la conservation des préparations virales.

b) Le rayonnement ultraviolet

Les rayons ultraviolets constituent un deuxième facteur important de perte d'activité des virus (Kleczkowski, 1968). L'activité des virus entomopathogènes se trouve fortement altérée après exposition aux radiations solaires (David, 1969; Krieg et al., 1980). Timans (1982)

obtient une inactivation de 96% du NPV de Lymantria dispar après seulement 2 minutes d'exposition à une lumière solaire reconstituée (280-320 nm). L'ensemble des travaux réalisés montrent que c'est la portion du spectre UV, de longueur d'onde moyenne (UV B: 280-320 nm), qui contribue le plus à l'inactivation des virus (Aizawa, 1955; Griego et al., 1985; Jaques, 1977; Watanabe, 1951).

Afin de remédier à ces problèmes de nombreux auteurs ont envisagé d'adjoindre aux suspensions virales des produits jouant un rôle protecteur vis à vis des rayonnements ultraviolets (Ignoffo et Betzer, 1971; Martignoni et Iwai, 1985; Shapiro et Bell, 1984). Shapiro et al. (1983) montrent que la persistance du germe peut être par ce biais augmentée de plus de 3 fois. La simple adjonction de charbon permet de protéger efficacement les virus de l'inactivation par les rayons solaires (Ignoffo, 1973). L'addition de tels produits en application dans la nature confirme l'augmentation de l'efficacité des suspensions virales, observée au laboratoire (Stelzer et al., 1975, 1977)

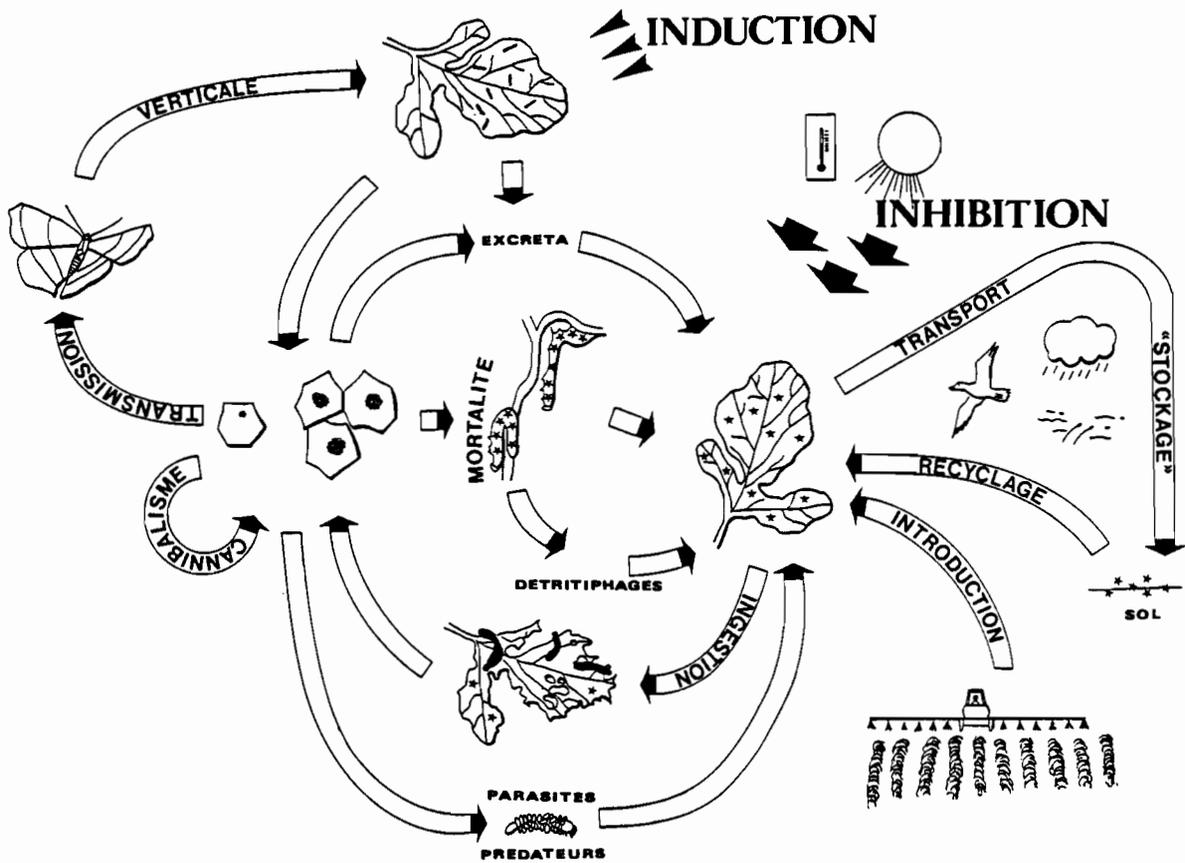
C. LE CYCLE DES VIRUS DANS LA NATURE

La complexité des phénomènes écopathologiques rend difficile l'étude des modes de transmission et de propagation naturels des entomovirus.

Dans la limite des connaissances actuelles il est cependant possible de proposer un schéma général du cycle des virus entomopathogènes dans la nature (Fig.A).

La transmission des virus dans les écosystèmes peut avoir lieu de deux façons bien distinctes. Si la transmission horizontale est la mieux connue, parce que la plus étudiée, un certain nombre de travaux montre que les entomovirus sont capables de se transmettre verticalement d'une génération à l'autre.

Fig. A - Cycle des entomovirus dans la nature.



1) Transmission verticale

La notion de transmission verticale est intimement liée à celle de virus latents ou occultes. Cette propriété d'infection subclinique est fréquemment rencontrée chez les insectes (Tinsley, 1978). L'activation et la stimulation des virus latents, sous l'action de divers agents inducteurs (stress factors), se traduit par l'expression clinique de la maladie. Parmi les principaux agents inducteurs, on peut citer les basses températures, la surpopulation associée au manque d'alimentation, ainsi que la présence d'autres agents pathogènes (Aruga, 1963; Bergold, 1958; Biever et Wilkinson, 1978; Bucher et Harris, 1968; David et Gardiner, 1965; David et al., 1968; Pimentel et Shapiro, 1962; Steinhaus et Dineen, 1960; Tanada, 1965; Vago, 1963).

Des travaux récents prouvent que la potentialisation d'infections virales peut être obtenue à l'aide, de divers produits chimiques (Reichelderfer et Benton, 1973; Shapiro et Bell, 1982) ou encore d'insecticides chimiques utilisés à doses réduites (Ranjakason, 1985; Rud et Belloncik, 1984).

La mise en évidence d'infections sublétales chez les adultes et les oeufs est extrêmement complexe. Ces considérations expliquent que le mode exact de transmission verticale, transovum ou transovarien, est souvent difficile à préciser. Ces deux modes de transmission semblent coexister et participent certainement de façon importante à la dissémination des virus (Elmore et Howland, 1964; Fine, 1975; Hamm et Young, 1974; Kellen et Hoffmann, 1983; Kunimi, 1982; Martignoni, 1964; Neelgund et Mathad, 1978; Tatchell, 1981; Vail et Hall, 1969).

Smirnoff (1962, 1967) a proposé d'utiliser ces divers résultats, en recommandant une application des préparations virales à des doses sublétales sur des larves âgées, qui seraient alors capables de transmettre la maladie à leur descendance.

2) Transmission horizontale

a) Transmission par l'insecte hôte: autodissémination.

Le mode de transmission le plus simple fait appel à l'insecte hôte lui même. Celui-ci distribue le virus qu'il a multiplié dans le milieu environnant, soit de son vivant par l'intermédiaire de ses excréta, ou encore au moment de sa mort lorsque la lyse des tissus provoque la libération des particules infectieuses. Une forte densité de l'hôte est favorable à l'expression des viroses. Ce type de transmission semble jouer un rôle important dans la propagation des entomovirus comme l'illustre les travaux d'Ignoffo et al. (1978). Ces auteurs réussissent en effet à initier une épizootie suite à l'introduction, dans une population saine, d'une proportion de 4% de larves infectées.

b) Transmission par les parasites et les prédateurs

Les parasites d'insectes possèdent la faculté de transmettre les virus de larve à larve, le plus souvent par une simple contamination de leur ovipositeur (Beegle et Oatman, 1975; Irigabon et Brooks, 1974; Levin et al., 1979, 1981, 1983; Raimo et al., 1977). La part prise par ces agents dans la dissémination naturelle des virus est encore peu connue, elle peut cependant être diminuée par un changement comportemental de la part des parasites vis à vis d'un hôte contaminé (Versoi et Yendol, 1982).

Les prédateurs d'insectes, qu'ils appartiennent à la classe des insectes ou au groupe des vertébrés insectivores, jouent un rôle non négligeable dans la dissémination des entomovirus (Akbaraly-Vally, 1985; Capinera et Barbosa, 1975; Franz et al., 1955; Lautenschlager et Podgwaite, 1977; Smirnoff, 1959; Vago et al., 1966). De nombreux travaux montrent que la virulence des germes n'est pas affectée à la suite du transit dans l'intestin des prédateurs (Hostetter et Biever, 1970). Aucun effet négatif n'a été enregistré chez les prédateurs

consécutivement à l'ingestion de proies virosées (Abbas et Boucias, 1984).

c) Autres modes de transmission

Biever et al. (1982) mettent en évidence le rôle mécanique joué par le prédateur Podisius maculiventris (Hétéroptère: Pentatomidae) dans la distribution et l'initiation de phénomènes épizootiques. Dès lors, il est raisonnable de penser que l'ensemble de la faune d'un biotope donné peut disséminer de façon purement mécanique les entomovirus qui s'y trouvent présents. Ainsi, en prairie, les bovins participent certainement au transfert des virus du sol à la végétation, ainsi qu'à leur dissémination dans le champ. (Crawford et Kalmahoff, 1977; Fuxa et Gheagan, 1983).

Les détritiphages jouent aussi un rôle dans la dissémination des entomovirus (Bergoin, 1966; Szalay-Marzo et Vago, 1975). Enfin il faut signaler que les facteurs abiotiques, vent, pluie interviennent aussi dans la dissémination des entomovirus.

d) Persistance

La persistance des entomovirus dépend directement de leur non exposition aux agents inhibiteurs précédemment décrits. Biever et Hostetter (1985) montrent que la durée de l'activité insecticide des virus déposés sur les parties basses du feuillage est supérieure à celle des virus déposés sur les parties hautes.

La présence des virus au niveau du sol a été décrite de nombreuses fois (Evans et al., 1980; Hukuhara, 1972; Hukuhara et Namura, 1972), et est la conséquence d'un déplacement vertical essentiellement dû au lessivage par la pluie.

Le sol intervient dans la protection des virus et contribue à la persistance de ces germes dans l'environnement (Jaques et Harcourt, 1971; Podgwaite et al., 1979). Tanada et Omi (1974) observent la persistance de divers Baculovirus de ravageurs de la luzerne pendant plusieurs mois. Jaques (1969) montre que le NPV de Mamestra brassicae

(Lépidoptère: Noctuidae) conserve son activité dans le sol durant 231 semaines après son application. Thompson et al. (1981) affirment que le NPV d'Orgyia pseudotsugata (Lépidoptère: Lymantriidae) peut survivre dans le sol plus de 40 ans. Une telle longévité s'explique probablement par la pénétration, et par conséquence la protection, des virus dans le sol. Hukuhara et Wada (1972) montrent dans le cas du CPV de Bombyx mori (Lépidoptère: Bombycidae), que des polyèdres appliqués en surface pénètrent jusqu'à 4 cm dans le sol.

Le recyclage de ces virus stockés au niveau du sol sur la végétation peut avoir lieu sous l'action de divers facteurs dont la pluie (Jaques, 1964)

CHAPITRE II

CARACTERISTIQUES BIOCENOTIQUES DU MILIEU D'ETUDE: LA PRAIRIE GUYANAISE A DIGITARIA SWAZILANDENSIS STENT.

| | |
|--|-----------|
| A. CARACTERISTIQUES GEOGRAPHIQUES GENERALES DE LA GUYANE FRANCAISE..... | 23 |
| 1) Le milieu physique..... | 23 |
| 2) Le milieu humain..... | 24 |
| B. PRESENTATION DU BIOTOPE ETUDIE..... | 25 |
| C. LE RAVAGEUR PRINCIPAL, <u>SPODOPTERA FRUGIPERDA</u> (J. E. SMITH) | |
| (LEPIDOPTERE: <u>NOCTUIDAE</u>)..... | 26 |
| 1) Position systématique..... | 26 |
| 2) Répartition géographique..... | 27 |
| 3) Bionomie..... | 27 |
| a) Description..... | 27 |
| * Les adultes..... | 27 |
| * Les oeufs..... | 28 |
| * Les larves..... | 28 |
| * Les nymphes..... | 28 |
| b) Ethologie..... | 29 |
| * Comportement alimentaire..... | 29 |
| * Comportement sexuel..... | 29 |

| | |
|---|-----------|
| * Comportement sexuel..... | 29 |
| * Migrations..... | 30 |
| c) Pathologie..... | 30 |
| * Pathologie générale..... | 30 |
| * Les maladies à virus..... | 30 |
| d) Plantes hôtes..... | 31 |
| 4) Importance économique..... | 33 |
| D. LES BACULOVIRUS DE <u>SPODOPTERA FRUGIPERDA</u>..... | 36 |
| 1) Rappel sur les caractéristiques générales des Baculovirus..... | 36 |
| 2) Les Baculovirus de <u>Spodoptera frugiperda</u> | 37 |
| a) Symptomatologie, pathologie externe..... | 37 |
| b) Histopathologie..... | 38 |
| c) Les corps d'inclusion..... | 39 |
| d) Les virions..... | 39 |
| * L'enveloppe..... | 39 |
| * La nucléocapside..... | 40 |
| * Le matériel génétique..... | 40 |

CARACTERISTIQUES BIOCENOTIQUES DU MILIEU D'ETUDE:
LA PRAIRIE GUYANAISE A DIGITARIA SWAZILANDENSIS STENT.

A. CARACTERISTIQUES GEOGRAPHIQUES GENERALES DE LA GUYANE FRANCAISE

1) Le milieu physique

Situé entre les 2^{ème} et 5^{ème} parallèles nord, et les 52^{ème} et 54^{ème} degrés de longitude ouest, le département de la Guyane française couvre une superficie de 83 500 km².

Géologiquement, la Guyane appartient à l'ensemble précambrien du bouclier guyanais, qui s'étend sur un territoire allant de la région brésilienne de l'Amapa au sud du Venezuela (Atlas de la Guyane, 1979).

Les 9/10^{ème} du territoire guyanais sont recouverts par la forêt équatoriale. Le reste est constitué par la frange côtière, qui borde les 320 km de littoral atlantique. Cette frange côtière englobe des milieux aussi divers que mangrove, marécage, savane, et zone boisée.

Le climat de la Guyane française est de type équatorial. La température moyenne annuelle est comprise entre 25 et 26 °C, avec une amplitude annuelle n'excédant pas 2 °C.

Les précipitations sont importantes et varient entre la zone côtière (2 à 3 m/an) et l'intérieur du pays (plus de 3,5 m/an) (Blancaneaux, 1981). Deux saisons bien distinctes se succèdent au cours de l'année; une saison sèche, qui dure environ 3 mois du 15 août au 15 novembre, et une saison pluvieuse qui englobe les 9 autres mois.

Le maximum des précipitations est enregistré durant les mois de mai et juin.

L'humidité est un trait caractéristique du climat guyanais, elle est toujours très élevée, de l'ordre de 90%.

Située juste sur l'aire de balancement de la zone intertropicale de convergence, la Guyane subit le régime des alizés du nord-est. Ces vents jouent un rôle primordial dans l'évaporation qui est maximale en saison sèche.

2) Le milieu humain

Le recensement de 1982 fait apparaître pour la Guyane une population d'environ 73 000 habitants (Résultats du recensement de la population des départements d'Outre-Mer, 1982).

L'essentiel de l'activité humaine appartient à un secteur tertiaire hypertrophié (Plan régional de développement économique, social et culturel, 1984).

L'agriculture est encore peu développée. La tendance au déclin, enregistrée au cours des années 70 s'est cependant nettement inversée depuis la mise en pratique du programme d'action prioritaire inscrit au VII^{ème} plan (Tarche, 1985).

L'élevage bovin était alors déclaré comme priorité du développement agricole de ce plan.

La création de zones agricoles nouvelles, par défrichage ou aménagement des zones de savanes, a depuis cette date été enregistrée. La surface agricole utilisée a ainsi triplé en moins de 10 années, passant de 4324 ha en 1973 à 11 275 ha en 1983 (Bulletin de statistiques agricoles, 1983).

B. PRESENTATION DU BIOTOPE ETUDIE

Plus de la moitié de la surface agricole utilisée en Guyane française est composée de pâturages et de parcours qui couvraient, en 1983, une superficie de 6250 ha.

Parmi les six graminées les plus couramment employées pour la constitution des prairies artificielles guyanaises (Digitaria swazilandensis Stent., Pennisetum purpureum Schum., Brachiaria sp. Tanner, Brachiaria sp. USDA, Brachiaria ruziziensis Germain et Evrard, Brachiaria decumbens Stapf), le Digitaria swazilandensis représente l'espèce la plus utilisée (Vivier et Coppry, 1984).

Cette graminée originaire d'Afrique du Sud, a tout d'abord été importée à Porto-Rico par Johnson, et diffusée par la suite en Guyane par l'INRA après un passage aux Antilles.

D. swazilandensis est une graminée très stolonifère, caractérisée par une couverture végétale importante et une croissance rapide (Pl.I, Fig.1 et 2). Un suivi réalisé durant l'année 1985 montre que la croissance journalière varie, en fonction des conditions climatiques, entre 2,65 mm en saison sèche, et 9,9 mm en pleine saison des pluies (Pl.II, Fig.3 et 4). En moyenne, la production de matière sèche des prairies permanentes monospécifiques à D. swazilandensis est comprise entre 10 et 16 t/ha/an (Xande et Vivier, 1984).

C. LE RAVAGEUR PRINCIPAL, SPODOPTERA FRUGIPERDA (J. E. SMITH)
(LEPIDOPTERE: NOCTUIDAE)

1) Position systématique

Ordre : Lépidoptères
Sous-ordre : Frénates
Superfamille : Noctuoidea
Famille : Noctuidae
Groupe : Trifinae
Sous-famille : Amphypirinae
Genre : Spodoptera Guenée 1852
Espèce : Spodoptera frugiperda (J.E.Smith, 1797)

Les synonymies de cette espèce ont été, depuis sa première description par J.E.Smith en 1797, très nombreuses (Hampson, 1909; Lunginbill, 1928; Todd et Poole, 1980).

Cinq noms de genre ont été attribués successivement à cette espèce, avant qu'elle ne soit rattachée au genre Spodoptera Guenée en 1958 (Zimmerman, 1958).

La liste des synonymies de l'espèce est établie comme suit:

Noctua frugiperda J.E.Smith 1797
Phalaena frugiperda Smith et Abbot 1797
Frigonophora frugiperda Geyer 1832
Laphygma macra Guenée 1852
Laphygma inepta Walker 1856
Prodenia signifera Walker 1856
Prodenia plagiata Walker 1856
Prodenia autumnalis Riley 1871
Prodenia fulvosa Riley 1876
Prodenia obscura Riley 1876

2) Répartition géographique

L'aire de répartition géographique de S. frugiperda est limitée au continent américain, où l'insecte se maintient de façon constante dans les zones tropicales et subtropicales (Commonwealth institute of entomology, 1956). Au nord, la présence permanente de l'insecte est enregistrée dans le sud des états du Texas et de Floride (Sparks, 1979). En cas d'hiver doux, l'insecte peut se maintenir dans toute la Floride, une grande partie du Texas, et dans le sud de la Louisiane (Snow et Copeland, 1969).

L'extension septentrionale annuelle de l'aire de répartition précédemment décrite peut se produire pendant l'été jusqu'au sud du Canada, où l'insecte parvient à réaliser une génération complète. Cette extension est le résultat de vols migratoires importants, généralement associés aux mouvements des masses d'air (Rose et al., 1975).

Au sud du continent S. frugiperda est décrit au Chili et en Argentine (Ortega, 1974).

3) Bionomie

a) Description

* Les adultes

L'adulte de S. frugiperda est un petit papillon brun gris d'environ 3 cm d'envergure (Spodo, en grec, signifie oxyde de zinc, Spodoptera signifie "aile de la couleur de cet oxyde"). Les ailes antérieures sont allongées et arrondies à leur extrémité distale (Pl.III, Fig.9 et 10; Pl.IV, Fig.11). Elles sont d'une couleur uniforme chez la femelle, et ornementées de motifs blancs chez le mâle. Les ailes postérieures, blanchâtres, sont de forme plus ronde.

* Les oeufs

La ponte de S. frugiperda est composée d'une ou plusieurs couches d'oeufs, de couleur vert pâle d'un diamètre d'environ 0,6 mm (Pl.III, Fig.5). Les ooplaques, de tailles variables, peuvent contenir jusqu'à 2000 oeufs. Elles sont généralement recouvertes d'écailles abdominales, déposées par la femelle, qui leur confèrent une bonne imperméabilité à l'eau.

* Les larves

La larve de S. frugiperda se distingue aisément des autres larves de noctuelles par la présence d'un Y blanc inversé, bien visible sur la capsule céphalique.

Le développement larvaire s'effectue normalement en six stades (Pl.III, Fig.6, 7 et 8). La chenille en fin de développement atteint une taille approximative de 35 mm. Elle présente une coloration variable en fonction des individus. Il existe des formes allant du vert olive au brun. Parfois la coloration est à dominante franchement noire.

Un 7^{ème} stade larvaire est décrit chez S. frugiperda (Dauthuille, 1983; Van Dinther, 1955). La présence de ce stade surnuméraire est imputée à une alimentation insuffisante (Labrador, 1967), ou non adaptée (Pencoe et Martin, 1981; Severini, 1985). Cependant la présence d'un agent pathogène peut aussi provoquer l'apparition de stades surnuméraires. Dauthuille et Silvain (1984) dénombrent ainsi jusqu'à 9 mues larvaires sur des larves atteintes de granulose.

* Les nymphes

La description de la nymphe de S. frugiperda a été effectuée par Angulo et Carmen Jana (1982), par comparaison avec les espèces Spodoptera eridiana, Spodoptera ochrea, et Spodoptera sunia (Lépidoptères: Noctuidae).

La nymphe est fusiforme, d'une longueur d'environ 2 cm (Pl.IV, Fig.12). La taille et le poids des nymphes, très variables, sont fonction de la quantité, et de la qualité de l'aliment fourni aux larves au cours de leur développement. Ainsi, le poids des nymphes peut varier

entre 88,7 mg (Leuck, 1972) et 287,4 mg (Pencoe et Martin, 1981). D'une façon générale, les nymphes issues de larves alimentées sur maïs sont plus grosses (Labrador, 1967; Pitre et Hogg, 1982). Cependant une comparaison bibliographique précise est rendue difficile du fait que les différents élevages réalisés, l'ont été à des températures diverses. Or, le poids final des nymphes dépend de la température à laquelle l'élevage est pratiqué (Combs et Valerio, 1980) .

b) Ethologie

* Comportement alimentaire

Les larves de S. frugiperda s'alimentent dès leur éclosion. Elles s'attaquent alors aux feuilles de D. swazilandensis de façon superficielle en laissant le parenchyme intermédiaire en place (Pl.V, Fig.13). Ce type de dégâts se retrouve jusqu'au 3^{ème} stade larvaire. Par la suite la chenille devient suffisamment forte pour dévorer la feuille complètement (Pl.V, Fig.14). Le dernier stade est même capable de s'attaquer à la tige du végétal.

* Comportement sexuel

Les adultes de S. frugiperda ont des moeurs nocturnes. Leur activité semble être maximale en début de nuit.

Lunginbill (1928), aux Etats-Unis, observe le vol des adultes dès le coucher du soleil, avec un pic d'activité se situant environ 3 heures après le crépuscule. Sur des captures effectuées à l'aide d'attractifs sexuels, durant des intervalles de temps de 3 heures, Mitchell et al. (1974) mettent en évidence un pic d'activité entre 4 et 7 heures après le coucher du soleil. Au Brésil, Silveira Neto et al. (1977) enregistrent une activité maximale des adultes entre 18 H et 21 H, pour des captures réalisées par périodes de trois heures à l'aide d'un piège lumineux.

Des études réalisées en actographe de vol, montrent que les mâles sont plus actifs que les femelles (Leppla et al., 1979). Mâles et femelles conservent une activité pendant plus d'une dizaine de jours.

* Migrations

Les adultes de S. frugiperda accomplissent chaque année d'importants vols migratoires (Knippling, 1980; NASA, 1978; Starratt et McLeod, 1982). Carpenter et al. (1981) montrent que l'insecte est capable de parcourir activement des distances importantes (2,29 km en moyenne) durant un temps relativement long (74 minutes). Cependant la dispersion à grande échelle du ravageur est expliquée par le mouvement des masses d'air (Rose et al., 1975; Young, 1979b).

c) Pathologie

* Pathologie générale

Gardner et Fuxa (1980) ont établi une liste de 16 agents pathogènes de larves de S. frugiperda, incluant virus, bactéries, champignons, protozoaires et nématodes.

Depuis cette mise au point bibliographique, le champignon Aspergillus parasiticus (Patel et Habib, 1979), et dernièrement un virus non inclus (Hamm et al., 1985), ont été décrits chez cet insecte.

Il convient cependant de citer 4 virus, décrits comme pathogènes suite à des infections expérimentales de laboratoire: Plutella xylostella NPV (Lépidoptère: Yponomeutidae) (Biever et Andrews, 1984), Heliothis armigera NPV et GV (Lépidoptère: Noctuidae) (Hamm, 1982; Hamm et Lynch, 1982), et Mamestra brassicae NPV (Ferron et al., 1983).

* Les maladies à virus

Trois virus, deux appartenant à la famille des Baculoviridae et un à celle des Reoviridae (Ignoffo et al., 1976), ont été à ce jour décrits sur S. frugiperda.

La répartition spatiale des Baculovirus décrits chez S. frugiperda sera ici seule évoquée, une mise au point bibliographique sur les Baculovirus de S. frugiperda ayant fait l'objet d'un paragraphe particulier (Chapitre II, D, 2).

Chapman et Glaser mentionnaient, dès 1915, une maladie à polyèdres sur S. frugiperda, probablement la polyédrose nucléaire, décrite par la suite par Bergold (1963). Depuis cette date la présence naturelle de la maladie a été signalée sur une grande partie de l'aire de répartition de l'insecte (Fig.B). Au nord, la polyédrose nucléaire est présente dans les états de Louisiane et de Georgie (Fuxa, 1982; Schwerh et Gardner, 1982). Aux Antilles, la description du même germe a été faite à Porto-Rico (Kuno, 1979), et en Guadeloupe (Chapitre IV, A). En ce qui concerne la partie sud du continent la polyédrose nucléaire est décrite au Venezuela (Agudelo et al., 1982), en Guyane (Chapitre IV, A), et au Brésil (Garcia et al., 1984).

L'autre Baculovirus, une granulose, n'a, depuis sa description sur des larves récoltées en Colombie par Steinhaus en 1957, été répertorié que dans deux pays différents (Fig.B); les états américains de Géorgie et de Louisiane (Fuxa, 1982; Schwehr et Gardner, 1982), et la Guyane (Dauthuille et Silvain, 1984). En ce qui concerne cette dernière donnée, les réserves émises au chapitre IV, A, doivent être prises en compte, les deux granuloses étant différentes.

d) Plantes hôtes

Les larves de S. frugiperda présentent un comportement polyphage très marqué. Lunginbill (1928) donne une liste de 60 fruits, légumes et graminées, utilisés comme plantes hôtes par l'insecte aux Etats-Unis. Vickery (1929), établit, pour ce même pays, la présence des larves sur 16 plantes et herbes cultivées. Plus récemment Labrador (1967) dresse pour le Venezuela une liste de 61 plantes hôtes, appartenant à plus de 24 familles différentes. Au Brésil les larves ont été répertoriées sur plus de 49 espèces végétales différentes (Lima, 1968).

A titre d'exemple des larves de S. frugiperda ont été signalées se nourrissant sur des plantes aussi diverses que l'oignon, Allium cepa L. (Ingram, 1927), la betterave, Beta vulgaris L. (Bruner, 1900), le chou, Brassica oleracea L. (Creighton et al., 1970), le frangipanier, Plumieria rubra L. (Santiago-Blay, 1983), la luzerne, Medicago sativa L. (Leuck et Hammons, 1974; Smith, 1927), l'arachide, Arachis hypogaea L.

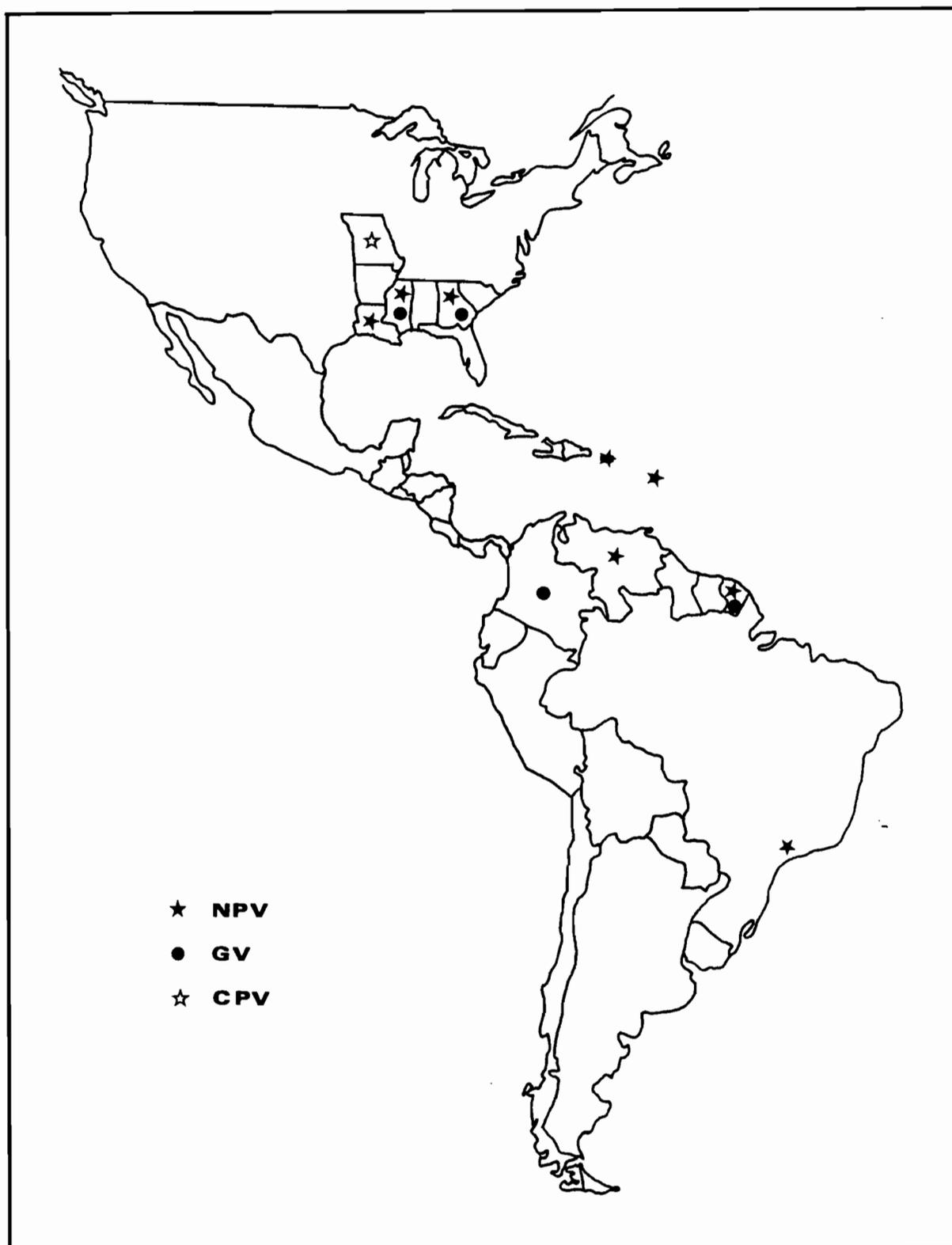


Fig. B - Répartition géographique des virus décrits chez S. frugiperda.

(Barfield et al., 1980; Garner et Lynch, 1981; Sherman et Leiby, 1918), le soja, Glycine max (L.) Merr. (Roberts et al., 1972; Van Dinther, 1956), et le coton, Gossypium hirsutum L. (Brown et al., 1982; Herzog et al., 1983; Wolfenbarger et al., 1974).

Edelson et Hyché (1980) mentionnent, en Alabama, des dégâts occasionnés en pépinière forestière sur sycomore, Platanus occidentalis L., tulipier, Liriodendron tulipifera L. et chêne noir d'Amérique, Quercus nigra L.

Cependant, les larves de S. frugiperda marquent une préférence très nette pour les plantes appartenant à la famille des graminées: maïs, Zea mays L., sorgho, Sorghum bicolor (L.) Moench, riz, Oryza sativa L., canne à sucre, Saccharum officinarum L., millet, Pennisetum typhoides (Burm.) Stapf et C.E.Hubb., prairies naturelles et artificielles (Agriculture Canada, 1981; Anderson et Cherry, 1983; Bowling, 1978; Frank et Bennett, 1970; Gardner et Duncan, 1982; Gardner et al., 1982; Leuck, 1970; McClanahan, 1978; Mahadeo, 1977; Metcalf et Flint, 1939; Roberts, 1965; Urich, 1915). Une analyse comparative du comportement d'oviposition des adultes, entreprise par Pitre et al. (1983) confirme la préférence de l'insecte pour les plantes appartenant à la famille des graminées.

4) Importance économique

La vaste répartition géographique de l'insecte, associée à un comportement polyphage très marqué, font de S. frugiperda un ravageur redoutable de la plupart des plantes cultivées en Amérique.

Aux Etats-Unis, Mitchell (1979) estime que les pertes moyennes annuelles dues à S. frugiperda dépassent 300 millions de dollars. Pour les seules années 1975-76-77, elles ont été de l'ordre de 500 millions de dollars par an. D'après Sparks (1979), les pertes pour le seul état de Georgie ont été en 1977 de 137,5 millions de dollars.

C'est probablement sur maïs que les dégâts sont les plus importants. Sur l'ensemble du continent, S. frugiperda est considéré comme l'un des premiers ravageurs de cette culture.

Les états du sud-est des Etats-Unis sont fréquemment l'objet de très sévères explosions de population, entraînant des pertes de production très importantes (Foot et Timmins, 1982; Hofmaster et Greenwood, 1949; Janes, 1973; Janes et Greene, 1969; Kelleher, 1976; Wiseman et al., 1967). Cruz et Turpin (1980) observent au cours de leurs travaux, une réduction en production de grain pouvant atteindre le chiffre de 19%. Le contrôle de S. frugiperda par insecticides a fait l'objet d'une mise au point bibliographique présentée par Young (1979a).

Au Mexique, la noctuelle S. frugiperda est considérée comme un obstacle majeur à la culture du maïs (Osorio, 1951). Velez et Sifuentes (1967) observent dans ce même pays des pertes de production de 37,7%.

En Amérique centrale et aux Antilles, Guatemala (Painter, 1955), Nicaragua (Van Huis, 1981), Cuba (Ryder, 1968), Puerto-Rico (Wolcott, 1948), Guadeloupe (Esmanjoud, 1984), la présence de l'insecte est un danger permanent.

Il en est de même dans toute les zones d'Amérique du sud où la culture du maïs est pratiquée. Au Venezuela la présence du ravageur nécessite le recours à un contrôle chimique quasi-constant (Anonyme, 1970, Horovitz, 1960). Les mêmes constatations sont faites en Colombie (Ruppel et al., 1957), et au Surinam (Van Dinther, 1955). Au Brésil, où l'espèce est particulièrement abondante dans cette culture (Almeida et al., 1967; Leiderman et Sauer, 1954; Sales, 1981), Carvalho (1969) enregistre des pertes de 20%.

Bien que présentant un danger majeur sur maïs, eu égard à l'importance prise par cette culture dans l'agriculture de cette région du monde, un certain nombre d'autres spéculations agricoles sont sujettes à de graves attaques de la part de S. frugiperda.

Sur sorgho, les dégâts occasionnés au feuillage par les larves provoquent des pertes de rendement appréciables (Henderson et al., 1966), et font de S. frugiperda un des ravageurs clés de cette culture

dans tout le sud-est des Etats-Unis (Gardner et Duncan, 1983; McMillian et Starks, 1967; Pitre, 1979; Wiseman et Gourley, 1982).

La présence de S. frugiperda dans les zones rizicoles du continent en fait également un ravageur important de cette culture (Kennard, 1965; Navas, 1971; Rai, 1973).

Au Brésil les préjudices causés à la culture du blé, Triticum spp. peuvent être très importants (Falanghe, 1958; Salvadori et Rumiatto, 1982).

Sur cotonnier des dégâts très sérieux ont eu lieu en 1977 dans tout le sud-est des Etats-Unis (Bass, 1978), et des attaques importantes sont fréquemment enregistrées sur l'ensemble du continent sud-américain, en Bolivie (Candia, 1971), à Puerto Rico (Fife, 1939), et au Brésil (Pereira, 1971).

En ce qui concerne les prairies à graminées, la noctuelle S. frugiperda est considérée aux Etats-Unis comme un ravageur cyclique, caractérisé certaines années par des explosions de population (Koehler et Short, 1979).

Le chiendent, Cynodon dactylon (L.) Pers., qui est la graminée pérenne la plus couramment cultivée pour le pâturage ou la production de foin dans les états du sud-est des Etats-Unis (10 millions d'acres d'après Burton, 1975), est fréquemment l'objet d'attaques dévastatrices de la part de S. frugiperda (Combs et Valerio, 1980; Penco et Martin, 1981; Sheets et al., 1982).

En 1977, l'explosion de population s'est traduite par des pertes en fourrages, estimées, pour le seul état de Georgie, à 59 millions de dollars (Todd et Suber, 1980).

En Guyane, les dégâts occasionnés par S. frugiperda, sur prairies revêtent un caractère cyclique et généralement localisé. Lorsque les attaques ont lieu, elles se caractérisent par la destruction totale en quelques jours de la végétation de la parcelle (Pl.V, Fig.15). Une lutte, jusqu'à présent uniquement chimique (Remillet et al., 1982), a été mise en oeuvre pour résoudre les problèmes causés par le ravageur, qui par ses pullulations est un risque de perte de production.

D. LES BACULOVIRUS DE S. FRUGIPERDA

1) Rappel sur les caractéristiques générales des Baculovirus

Les Baculovirus, virus qui constituent la famille des Baculoviridae, se caractérisent par la forme en bâtonnet de leurs particules virales, qui ont une dimension moyenne de 40-60 x 200-400 nm (Ignoffo et Couch, 1981; Matthews, 1982).

La nucléocapside, de symétrie hélicoïdale, possède une molécule d'ADN bicaténaire circulaire, d'un poids moléculaire compris entre 58 et 110.10⁶ daltons (Bergold, 1958; Monsarrat, 1978; Onodera et al., 1965; Yamafuji et al., 1966).

Les virions sont constitués d'une ou plusieurs nucléocapsides enveloppées par une membrane trilamellaire (Harrap et Payne, 1979; Ponsen et al., 1965; Smith, 1976).

D'une façon générale, les virions sont inclus dans des corps d'inclusion protéiques, de 0,5 à 3 microns de diamètre. La protéine de constitution de ces corps est codée par le virus, et est constituée d'un polypeptide unique, de poids moléculaire compris entre 25 000 et 32 000 daltons (Croizier et Croizier, 1977; Croizier et Meynadier, 1973 a, b et 1975; Guelpa et al., 1977; Merdan et al., 1977; Vago et al., 1970).

Les corps d'inclusion sont insolubles dans l'eau mais se dissolvent en milieu alcalin (Langridge et al., 1981; Poinar et Thomas, 1978; Summers et Smith, 1975; Volkman et Falcon, 1982). La forme des corps d'inclusion, ainsi que le nombre de virions qui y sont contenus, définissent deux sous-groupes distincts.

Les polyédroses nucléaires, qui constituent le sous-groupe A, se caractérisent par des corps d'inclusion polyédriques contenant de nombreux virions mono-capsidaires (SNPV) ou poly-capsidaires (MNPV).

Les granuloses (sous-groupe B), se caractérisent quant à elles, par des corps d'inclusion plus petits, ovoïdes, appelés granules, qui ne contiennent généralement qu'une seule particule virale. La présence

de plusieurs virions par granule a pu être observée, mais reste une exception (Adoté, 1982).

Depuis 1982 (Matthews), un troisième sous-groupe a été inclus dans la famille des Baculoviridae (sous-groupe C). Il comporte des virus possédant les mêmes caractéristiques que ceux appartenant aux deux sous-groupes précédemment décrits, mais en diffèrent par l'absence de corps d'inclusion protéiques.

La pathologie cellulaire des infections à Baculovirus a fait l'objet de mises au point bibliographiques présentées par Granados (1980) et Tanada et Hess (1984)

2) Les Baculovirus de Spodoptera frugiperda

a) Symptomatologie, pathologie externe

Les deux maladies, granulose et polyédrose nucléaire, provoquent chez les larves de S. frugiperda qui en sont atteintes, un retard de développement par rapport aux larves saines. Dans le cas de la granulose, les larves infectées ont des durées de développement considérablement augmentées. Il est fréquent d'observer des larves atteintes de granulose encore en vie, alors que la sortie des adultes issus des larves témoins se produit (Hamm, 1968). Dauthuille et Silvain (1984) montrent, pour la granulose guyanaise, que cet allongement de la durée du développement larvaire est accompagné d'une augmentation du nombre de mues: 10 mues larvaires ont été comptées sur des larves infectées, per os, au 3^{ème} stade larvaire.

L'aspect des larves atteintes de ces deux infections diffère. Les larves atteintes de polyédrose nucléaire deviennent plus pâles que les larves saines. Leur tégument devient fragile, et à la mort, sa rupture intervient, libérant des tissus complètement liquéfiés (Pl.VI, Fig.16 et 17).

Les larves atteintes de granulose prennent une coloration blanchâtre, très caractéristique, qui rend le diagnostic externe de la

maladie aisé (Pl.VI, Fig.18). La mort survient fréquemment au moment d'une mue, dont la larve ne se débarrasse qu'en partie. Les cadavres peuvent facilement être saisis à la pince, sans rupture du tégument.

Les deux maladies présentent des développements bien différents. La polyédrose nucléaire provoque, comme l'ensemble des virus appartenant à ce groupe, une mortalité rapide des larves infectées. En revanche les cas de mortalité par granulose surviennent longtemps après que l'infection ait été réalisée. A titre d'exemple, la comparaison des temps létaux 50 (TL50) de la granulose guyanaise et de la polyédrose nucléaire montre, pour des larves traitées au stade 5, que le temps léthal 50 est d'environ 6 jours pour la polyédrose nucléaire, alors qu'il est de 10,5 jours pour la granulose (Severini, 1985).

b) Histopathologie

Le corps gras est le tissu le plus atteint par la polyédrose nucléaire; mais la présence de polyèdres viraux a été observée dans de nombreux autres tissus dont l'hypoderme, la matrice trachéale, l'épithélium de l'intestin antérieur et postérieur, l'enveloppe épithéliale des testicules, les disques imaginaires, les cellules sanguines, les oenocytes, les glandes séricigènes, les tubes de Malpighi, le cerveau, les cellules ganglionnaires, et les cellules péricardiales (Hamm, 1968).

La granulose, décrite par les auteurs américains, présente quant à elle un tropisme cellulaire restreint. Seul le corps gras des larves en est atteint. L'évolution cellulaire de cette infection a été décrite en détail par Walker et al. (1982). Des changements structuraux importants sont visibles dans le noyau et le cytoplasme. L'introduction des nucléocapsides dans le noyau, qui pourrait avoir lieu dès le lendemain du traitement, est suivie de la dispersion de la chromatine qui confère au noyau un aspect plus clair. La membrane nucléaire disparaît par la suite, parallèlement à la formation des virions. En ce qui concerne le cytoplasme, une perte lipidique et un épuisement des réserves en glycogène sont observables dans les cellules infectées. Ces phénomènes s'accompagnent d'une hypertrophie cellulaire. La présence des

corps d'inclusion est décelable dès le troisième jour après la contamination.

c) Les corps d'inclusion

La taille des corps d'inclusion de la polyédrose nucléaire semble très variable et se situe, en ce qui concerne leur plus grand axe entre 0,59 et 2,23 microns (Kuno, 1979). Agudelo et al. (1983) donnent comme valeur moyenne de la taille de ces corps d'inclusion 1,60 x 1,50 microns.

Aucune donnée n'a été publiée concernant la taille des granules. Il est cependant possible de l'estimer, par l'analyse des documents photographiques contenus dans la littérature (Walker et al., 1982). Ces corps d'inclusion sont bien plus petits, environ 0,40 x 0,19 microns, et de forme plus arrondie que les polyèdres.

L'analyse de la composition protéique des corps d'inclusion de la granulose montre qu'ils sont constitués d'une protéine majeure d'un poids moléculaire de 28 000 daltons (Summers et Smith, 1976). Cette molécule présente des similarités de taille, composition, et propriétés chimiques avec les protéines constitutives majeures isolées pour les corps d'inclusion des autres Baculovirus, que l'on regroupe sous le terme générique de granulines et polyèdrines. Summers et Smith (1976), donnent, dans le cas de S. frugiperda, la composition particulière, en acides aminés de la granuline.

L'analyse spectrophotographique des corps d'inclusion du SfNPV a été réalisée par Faust et al. (1973). Les éléments les plus représentés sont dans l'ordre: le carbone, le calcium, le fer, l'hydrogène, le magnésium, l'oxygène, le phosphore, et le soufre.

d) Les virions

* L'enveloppe

La présence de lipides polaires et non polaires a été mise en évidence par Moore et al. (1984) dans l'enveloppe des virions du SfNPV.

Le phospholipide le plus représenté est la phosphatidyle choline. Les acides gras, oléique palmitique et linoléique, entrent par ordre décroissant dans la composition de ces lipides.

* La nucléocapside

La nucléocapside du SfNPV est essentiellement constituée d'ADN. Cependant un certain nombre de polypeptides y sont représentés. Parmi ceux-ci, une protéine très basique et migrant très rapidement en gel d'acide urique serait intimement attachée à l'ADN génomique (Tweeten et al., 1980).

* Le matériel génétique

Le génome des deux viroses est constitué d'un ADN unique, bicaténaire et circulaire (Burgess, 1977; Summers et Anderson, 1972).

Dans le cas du SfNPV, le poids moléculaire du génome a été estimé de 4 façons différentes. L'estimation du poids moléculaire, après digestion par les enzymes de restriction et migration sur gel, ne sera pas ici abordée, cette technique ayant fait l'objet d'une discussion détaillée au chapitre IV, A.

L'ensemble des résultats obtenus par les trois autres techniques est rappelé sur le tableau C. Kelly (1977) donne comme estimation du poids moléculaire du génome, obtenue par la technique d'hybridation moléculaire, la valeur de $67,8 \cdot 10^6$ daltons. La comparaison des sédimentations obtenues après centrifugation dans un gradient de sucrose est une méthode possible d'évaluation de la taille du génome. La littérature fournit, pour le SfNPV, trois valeurs obtenues selon ce procédé (Tableau C). Enfin Burgess (1977) propose, après mesure de la molécule d'ADN, une valeur du poids moléculaire du génome comprise entre $76,6$ et $82,8 \cdot 10^6$ daltons.

En ce qui concerne le SfGV (Etats-Unis), l'estimation de la valeur du poids moléculaire du génome a été estimée à $95 \cdot 10^6$ daltons, après centrifugation en gradient de sucrose (Summers et Anderson, 1972).

La composition en base du génome de ce même virus a été étudiée. Elle est de 50% pour le couple GC.

Tableau C - Comparaison des différentes estimations du poids moléculaire du génome du SfNPV à partir de différentes techniques

| POIDS x 10 ⁶ daltons | TECHNIQUE | AUTEURS |
|---------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------|
| 67,8 | Hybridation moléculaire | Kelly, 1977 |
| 95 - 114 | Sédimentation en gradient de sucrose | Summers et Anderson, 1973 |
| 76 - 91 | " " | Knudson, 1975 |
| 63 - 73 | " " | Harrap <u>et al.</u> , 1977 |
| 76,6 - 82,8 | Mesure de la longueur du génome | Burgess, 1977 |

CHAPITRE III

MATERIEL ET TECHNIQUES

| | |
|--|-----------|
| A. TECHNIQUES D'ECHANTILLONNAGE UTILISEES SUR LE TERRAIN..... | 47 |
| 1) Echantillonnage des populations de <u>Spodoptera frugiperda</u> | 47 |
| a) Les oeufs..... | 47 |
| b) Les larves..... | 48 |
| c) Les nymphes..... | 50 |
| d) Les adultes..... | 51 |
| 2) Echantillonnage des populations du prédateur <u>Nabis capsiformis</u> Germar (Hétéroptère: <u>Nabidae</u>)..... | 52 |
| 3) Relevés effectués sur les prédateurs <u>Vespidæ</u> | 52 |
| B. TECHNIQUES D'ELEVAGE..... | 53 |
| 1) <u>Spodoptera frugiperda</u> | 53 |
| a) Les adultes..... | 53 |
| b) Les oeufs..... | 53 |
| c) Les larves..... | 54 |
| d) Les nymphes..... | 57 |
| 2) <u>Nabis capsiformis</u> Germar..... | 57 |
| a) Les adultes..... | 57 |
| b) Les oeufs..... | 58 |

| | |
|--|-----------|
| c) Les larves..... | 58 |
| 3) <u>Polistes sp.</u> | 58 |
| C. TECHNIQUES DE PATHOLOGIE EXPERIMENTALE..... | 59 |
| 1) Infection <u>per os</u> | 59 |
| a) Contamination du milieu nutritif..... | 59 |
| * Milieu herbacé..... | 59 |
| * Milieu artificiel..... | 59 |
| b) Contamination du chorion..... | 59 |
| D. TECHNIQUES CYTOLOGIQUES..... | 60 |
| 1) Microscopie photonique..... | 60 |
| a) Les coupes..... | 60 |
| b) Les frottis..... | 60 |
| 2) Microscopie électronique..... | 61 |
| E. TECHNIQUES DE PURIFICATION DES VIRUS ET DES ADN..... | 61 |
| 1) Broyage des larves..... | 61 |
| 2) Purification des corps d'inclusion..... | 61 |
| 3) Extraction et purification des virions..... | 62 |
| 4) Extraction de l'ADN..... | 62 |
| F. TECHNIQUES BIOCHIMIQUES..... | 63 |
| 1) Analyse de l'ADN par les enzymes de restriction..... | 63 |
| G. TECHNIQUES D'ELECTROPHORESE EN GEL D'AGAROSE..... | 64 |

| | |
|--|----|
| H. TECHNIQUES IMMUNOLOGIQUES..... | 64 |
| 1) Préparation des immun-sérums..... | 64 |
| 2) Immunodiffusion en gel d'agarose..... | 65 |
| 3) Technique E.L.I.S.A..... | 65 |

MATERIEL ET TECHNIQUES

A. TECHNIQUES D'ECHANTILLONNAGE UTILISEES SUR LE TERRAIN

1) Echantillonnage des populations de Spodoptera frugiperda

Diverses techniques d'échantillonnage ont été employées au cours de l'étude écopathologique et des essais de plein champ. Celles-ci ont couvert l'ensemble des stades de développement de l'insecte: oeufs, larves, nymphes et adultes.

a) Les oeufs

La technique utilisée, s'inspire des travaux de Thomson et All (1979). Elle est basée sur le comportement des femelles de S. frugiperda, qui déposent fréquemment leurs oeufs sur divers supports situés sur, ou à proximité des prairies (Sparks, 1979).

En Guyane, des pontes ont pu fréquemment être observées sous le couvercle des pièges sexuels utilisés pour le suivi des populations adultes. Ce phénomène d'oviposition sur des surfaces horizontales, disposées à proximité de la culture a déjà été décrit par Andrews (1980). Diverses étoffes: linge étendu, hamac, sont de même fréquemment utilisées comme support de ponte par les adultes.

L'utilisation de piquets métalliques de section carrée (4 x 4 cm), disposés dans la prairie, a été éprouvée comme technique d'échantillonnage des oeufs. Compte tenu des résultats obtenus par Thomson et All (1982), la hauteur hors végétation des piquets a été standardisée et fixée à 30 cm.

Les données récentes fournies par ces mêmes auteurs (1984) tendent à démontrer que l'utilisation de supports de ponte peut fournir des indications précises concernant les populations larvaires futures. Néanmoins, les résultats obtenus à partir de la technique d'échantillonnage utilisant les piquets métalliques, restent insuffisants pour estimer de façon précise les populations de S. frugiperda.

La mise en oeuvre de cette technique a cependant permis l'observation de certaines particularités biologiques de l'espèce. Ainsi les ooplaques sont plus fréquemment déposées dans l'angle interne des piquets, zone la moins exposée aux agressions du milieu. De plus la prédation des oeufs par d'autres insectes a pu être mise en évidence.

Compte tenu des remarques précédentes, l'utilisation de piquets métalliques a été réservée à la récolte de pontes destinées au renouvellement des souches du laboratoires ou à divers essais.

b) Les larves

La connaissance, la plus précise possible, de la densité des populations larvaires de lépidoptères, a toujours été le souci majeur des spécialistes de protection des cultures. C'est en effet à ce stade qu'ont généralement lieu les dégâts occasionnés aux végétaux. De plus, les traitements phytosanitaires visent généralement le stade larvaire, peu mobile, et de ce fait susceptible d'être plus facilement localisé et atteint par la matière active appliquée.

A ces considérations s'ajoutent celles des pathologistes. Ce sont en effet les stades larvaires qui sont les plus sensibles aux microorganismes entomopathogènes. La manifestation la plus spectaculaire de la présence d'un entomovirus reste la mortalité qu'il provoque chez son hôte. Celle-ci survient généralement chez la larve. Cette dernière remarque explique l'intérêt tout particulier porté au suivi, et à l'estimation des populations larvaires de S. frugiperda. Deux techniques ont été utilisées dans ce but: le filet fauchoir et le lancer de cercle.

La technique du filet fauchoir est fréquemment utilisée dans l'échantillonnage des populations d'insectes des milieux où la quantité de matière végétale non ligneuse est très importante. Saugstad et al. (1967), Bournoville et Cantot (1980), l'utilisent avec succès en luzernière. En ce qui concerne les prairies à graminées, c'est le procédé le plus communément utilisé par les divers auteurs qui se sont intéressés au dénombrement des populations larvaires de S. frugiperda (Dauthuille et Silvain, sous presse; Fuxa, 1982).

Cette technique consiste en un fauchage du milieu herbacé, par un filet constitué d'une poche de tissu épais soutenue par un anneau métallique de 30 cm de diamètre, solidaire d'un manche. Dans le but de rendre les résultats obtenus comparables, les coups de filet sont tous donnés sur un angle de 90°, et en rasant le plus possible la surface du sol (Pl.VII, Fig.19)

Comme pour toutes les techniques d'échantillonnage non absolues, un certain nombre de critiques peuvent être émises vis à vis de l'utilisation du filet fauchoir.

Ainsi, la hauteur de l'herbe et le nombre de larves collectées sont positivement corrélés. Le sondage maximal théorique effectué à chaque coup de filet porte sur le volume d'un tore de 90° d'arc, soit dans le cas des filets employés environ 0,085 m³. La hauteur de l'herbe, selon qu'elle se situe en dessous ou en deçà de 30 cm, conditionne le volume végétal effectivement échantillonné. En fait, bien que le volume échantillonné soit plus important lorsque l'herbe est plus haute (si toutefois la hauteur reste inférieure à 30 cm), le nombre de larves capturées est plus important lorsque l'herbe est plus courte. Alvarado et al. (1983) proposent deux explications à ce résultat: d'une part l'opposition d'un feuillage trop dense au passage du filet pourrait expliquer la perte d'efficacité du procédé. D'autre part, l'approche de l'expérimentateur pourrait être plus facilement perçue, par les larves, dans un milieu constitué d'une végétation haute, plus sensible aux vibrations. Ceci aurait pour effet la chute des larves au niveau du sol.

Ces considérations sur la validité de la technique du filet fauchoir sont importantes dans les conditions guyonaises, où la graminée

étudiée a une croissance très rapide, de l'ordre de 0,5 cm par jour (Chapitre I, B).

De plus, ces mêmes auteurs montrent que l'heure à laquelle sont effectués les prélèvements influe sur les résultats obtenus. Ce sont en fait les variations climatiques enregistrables dans le biotope graminéen au cours de la journée qui conditionnent le comportement des larves de S. frugiperda. Leur position est fonction des migrations verticales qu'elles effectuent dans le couvert végétal. A maintes reprises il nous a été permis de constater qu'un ensoleillement excessif, ainsi que de fortes pluies, étaient préjudiciables à la collecte des larves selon cette technique. L'heure des relevés a donc été fixée pour chaque manipulation de terrain.

Il faut signaler afin que la technique du filet fauchoir est traumatisante, surtout pour les jeunes larves. Un certain nombre de chenilles sont ainsi retrouvées écrasées; d'autres ne meurent des suites de leurs lésions qu'une fois mises en élevage. Cette mortalité, introduite par la manipulation, outre le fait de diminuer les effectifs larvaires pris en compte au cours d'une étude écopathologique, pose le problème d'une éventuelle confusion avec une mortalité ayant une origine pathologique.

Compte tenu de cet ensemble de réflexions, une technique complémentaire d'échantillonnage des chenilles, le lancer de cercle, a été envisagée. Elle consiste en un dénombrement de toutes la population larvaire présente à l'intérieur d'un cercle de 30 cm de diamètre, lancé au hasard dans la prairie. Cette technique est employée avec succès, aux Etats-Unis, en prairie artificielle (Koehler et Short, 1979; Koehler et al., 1977). Les données issues de ce mode d'échantillonnage présentent, par rapport à la technique du filet fauchoir, l'intérêt d'être en relation directe avec une unité de surface, ce qui facilite l'établissement des différents seuils, économique ou d'intervention.

c) Les nymphes

La nymphose de S. frugiperda a généralement lieu dans le sol, à une profondeur comprise entre 2 et 8 cm (Sparks 1979; Walton et

Luginbill, 1917). La technique d'échantillonnage des nymphes consiste en un prélèvement répété d'un volume de sol (20 x 20 cm² de surface sur 10 cm de profondeur). Une fois le prélèvement effectué, un séchage partiel de la terre précède la recherche des nymphes par émiettement de l'échantillon.

d) Les adultes

Deux techniques de piégeage des adultes ont été utilisées au cours des diverses expérimentations entreprises.

La première consiste en une capture des adultes dès qu'ils sortent de la chrysalide. Des cadres en bois d'une surface de 1 m² et d'une hauteur de 20 cm ont été recouverts, sur leur partie supérieure, d'une fine toile moustiquaire. Les adultes qui sortent de la surface délimitée par les cadres restent prisonniers du dispositif et peuvent ainsi être dénombrés. Une telle technique a été employée dans le but de quantifier la mortalité naturelle au stade nymphal, toujours très difficile à apprécier, mais dont l'estimation est essentielle à la compréhension des phénomènes écopathologiques.

L'autre technique employée consiste en un piégeage des adultes par attraction olfactive. Dans ce cas, l'utilisation d'une substance de synthèse, proche de la phéromone émise par la femelle, permet la capture des seuls mâles de l'espèce. Ce type de piégeage présente une très grande facilité d'emploi et peut donc être répété fréquemment. Son utilisation en tant que méthode fiable de suivi et de détection des populations adultes de S. frugiperda est bien reconnu (Silvain et Ti A Hing, 1985; Starratt et McLeod, 1982).

Une phéromone de synthèse (phéromone Fall ArmyWorm: Albany int.), contenue dans des microtubules et disposée au centre du piège, joue le rôle d'attractif vis à vis des populations adultes mâles. Le piège (piège à phéromones: Albany int.), se compose d'un toit, et d'un fond dont la partie interne, recouverte de glu retient les papillons qui s'y sont posés (Pl.VII, Fig.20).

La période séparant les relevés des pièges a été fixée en fonction des diverses expérimentations effectuées. Elle a cependant été maintenue inférieure à trois jours, compte tenu de l'efficacité décroissante de ces pièges. Ce phénomène est probablement dû à la saturation de la glu par les écailles et les papillons déjà prisonniers (Tingle et Mitchell, 1975).

2) Echantillonnage des populations du prédateur *Nabis capsiformis* Germar (Hétéroptère: Nabidae)

Les Nabidae ont été récoltés selon la technique du filet fauchoir précédemment décrite. L'échantillonnage a été effectué simultanément à celui des populations larvaires de *S. frugiperda*.

3) Relevés effectués sur les prédateurs Vespidae

L'étude de la dispersion des populations de Vespidae du genre Polistes a été réalisée par capture à vue, au filet, des individus chassant dans la prairie. Les guêpes ainsi capturées ont été marquées sur le dos de l'abdomen, à l'aide de bombes de peintures, de couleurs différentes pour chaque parcelle. La recapture au champ, des individus marqués donne une idée des zones prospectées par cette espèce de guêpe.

Cette étude a été complétée par une observation journalière des nids situés sous les bâtiments de la ferme où ce travail a été réalisé. La dispersion des guêpes à partir de leur point de départ, ainsi que la distance parcourue ont ainsi pu être estimées.

B. TECHNIQUES D'ELEVAGE

1) Spodoptera frugiperda

a) Les adultes

Les imagos de S. frugiperda ont été élevés par couples dans des boîtes de polystyrène cristal rondes, d'un diamètre de 8 cm et d'une hauteur de 5 cm (Pl.VIII, Fig.21).

L'aération des boîtes est assurée par une fine toile métallique, collée à chaud sur une ouverture préalablement pratiquée dans les couvercles. Les parois des boîtes sont recouvertes de papier servant de support de ponte. Ces papiers sont pliés en accordéon afin d'augmenter la surface de repos des adultes et de faciliter la ponte. Les oeufs sont en effet fréquemment déposés dans les plis du papier.

L'alimentation des imagos est assurée à l'aide d'une solution de saccharose à 7,5%. Cette solution est dispensée jusqu'à saturation, sur un papier absorbant disposé dans une boîte de 2 x 2 x 2 cm³. L'eau sucrée a été préférée à une solution aqueuse d'eau additionnée de miel dont la fermentation survient très rapidement. Le renouvellement de cette solution nutritive a été pratiqué chaque jour.

b) Les oeufs

Les pontes de S. frugiperda sont récupérées quotidiennement et immédiatement désinfectées.

Trois procédés ont été utilisés. Le premier a consisté à exposer les pontes à des vapeurs de formol en enceinte fermée. Les pontes sont ensuite aérées durant 24 heures afin d'assurer l'évaporation totale des vapeurs de formol.

Le second procédé de désinfection consiste en un trempage dans une solution de formol à 15% et d'eau distillée additionnée de quelques gouttes de mouillant, pendant 45 minutes. Le rinçage des pontes

s'effectue pendant 45 minutes dans un grand volume d'eau distillée renouvelée fréquemment.

Le dernier procédé consiste en un trempage de 5 minutes dans une solution d'hypochlorite de sodium (12° chlorométrique) à 2%, suivi d'un rinçage durant 5 minutes dans de l'eau distillée. Le séchage des pontes est obtenu à l'air libre durant une vingtaine de minutes.

c) Les larves

Dès l'éclosion, les larves néonées sont déposées, à l'aide d'un pinceau fin dans des boîtes individuelles de 4 x 1,9 x 1,4 cm³. Un cube de milieu artificiel constitue l'alimentation de ces jeunes chenilles. L'ensemble du développement larvaire s'effectue dans ce type de boîte (Pl.VIII, Fig.22). Le milieu, ainsi que les boîtes, sont renouvelés en moyenne tous les trois jours.

Le milieu artificiel utilisé pour l'élevage de S. frugiperda est dérivé des milieux décrits par Poitout et Bues (1970). Sa composition est la suivante:

| | | |
|--------------------|--------------------------------|----------|
| Substances liantes | agar-agar | 4 g |
| | eau distillée | 170 ml |
| Eléments nutritifs | semoule de maïs | 28 g |
| | levure de bière | 7,5 g |
| | germe de blé | 7 g |
| Anti-microbiens | acide benzoïque | 0,35 g |
| | parahydroxybenzoate de méthyle | 0,35 g |
| | formaldéhyde 10% | 1 ml |
| | auréomycine | 0,0625 g |
| Vitamines | acide ascorbique | 2 g |

Le milieu utilisé pour les essais réalisés avec les Baculovirus a été réalisé sans adjonction de formol.

La fabrication du milieu se déroule en plusieurs étapes. La moitié de l'eau est tout d'abord chauffée, dans une casserole, en présence de l'agar-agar, jusqu'à la température de 100°C. Une fois cette température atteinte la moitié de l'eau restante est ajoutée et le chauffage arrêté. La température du mélange descend alors rapidement. Lorsque celle-ci atteint 55°C, sont ajoutés dans l'ordre, les éléments nutritifs préalablement mélangés, les agents anti-microbiens, et les vitamines. Le parahydroxybenzoate de méthyle, insoluble dans l'eau est dissous dans l'alcool à 95° avant son introduction dans le mélange. Une bonne homogénéisation de l'ensemble des composants est obtenue par utilisation d'un mélangeur électrique au cours des opérations précédemment décrites.

Le milieu, encore liquide, est alors rapidement coulé dans les différentes boîtes où il se solidifie. Il est ensuite laissé à sécher sous une rampe UV à la température ambiante durant deux heures. La bonne conservation du milieu est assurée en boîtes hermétiques, pendant une dizaine de jours au réfrigérateur à 7°C.

L'isolement des larves dès le premier stade de développement de la chenille n'est pas une nécessité, mais il facilite l'obtention d'un élevage sain. Jusqu'au troisième stade les larves peuvent être maintenues en groupe, sur un milieu coulé dans une boîte plastique transparente de 20 x 7,5 x 2,5 cm³.

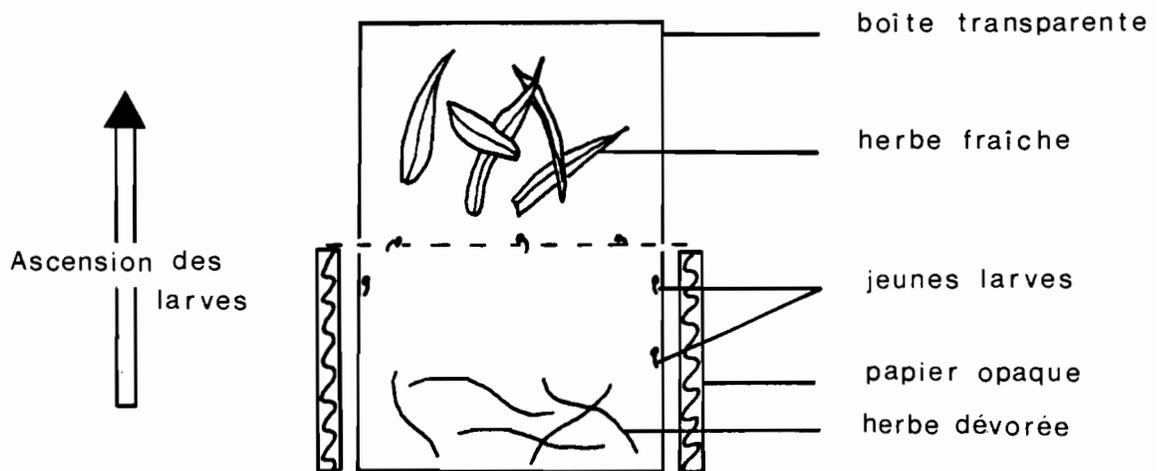
Le rainurage du milieu à l'aide d'une lame de couteau facilite sa consommation par les jeunes larves. A partir de ce stade, en revanche, l'élevage individuel devient une nécessité, eu égard au comportement cannibale des larves.

Un élevage sur milieu herbacé a aussi été entrepris. Dans ce cas des feuilles fraîchement cueillies de D. swazilandensis sont quotidiennement mises à la disposition des larves. L'élevage est pratiqué individuellement dans des boîtes plastiques hermétiques de 4 x 1,9 x 1,4 cm³ dès l'éclosion de la ponte.

La quantité d'herbe, toujours apportée en excès, varie en fonction des stades larvaires. Une dizaine de feuilles d'environ 2 cm² est ainsi nécessaire à l'alimentation quotidienne des larves en fin de développement.

Afin d'alléger les manipulations, l'élevage des trois premiers stades larvaires peut, ici aussi, être entrepris collectivement. Dans ce cas, un procédé basé sur le phototactisme positif des larves a été mis au point. Chaque ponte venant d'éclore est disposée dans une boîte cylindrique de polystyrène transparent (D = 8 cm, H = 5 cm), contenant de nombreuses feuilles. Le jour suivant, la boîte contenant le feuillage consommé, est enrobée de papier opaque, puis surmontée d'une boîte de même volume contenant du feuillage frais. Les ouvertures des deux boîtes sont séparées par un grillage suffisamment lâche pour permettre aux larves de le traverser et de rejoindre ainsi le milieu frais (Fig.D).

Fig. D - Dispositif employé pour l'élevage des jeunes larves de Spodoptera frugiperda sur feuillage de Digitaria swazilandensis.



d) Les nymphes

Dans la nature, la nymphose des larves de S. frugiperda est souterraine. Au laboratoire, la présence du milieu artificiel facilite la chrysalidation. Les larves creusent en effet une loge nymphale dans le milieu, et y effectuent leur dernière mue. Lorsque l'alimentation offerte aux larves est herbacée, la nymphose a lieu sans problème dans le feuillage.

Les nymphes sont ensuite disposées, après que leur sexe ait été déterminé, dans des boîtes de plastique transparentes de 20 x 7,5 x 2,5 cm³. Les papillons sont récupérés au fur et à mesure de leur éclosion.

2) Nabis capsiformis Germar

Les techniques employées pour l'élevage de N. capsiformis s'inspirent des travaux de Hormchan et al. (1976).

a) Les adultes

Les adultes de N. capsiformis ont été disposés par couple dans des boîtes de Pétri d'un diamètre de 10 cm (Pl.VIII, Fig.23). Leur alimentation est composée de jeunes larves de S. frugiperda. Les 3 premiers stades larvaires de la noctuelle sont bien acceptés par les adultes de N. capsiformis. Au delà les chenilles se défendent trop bien des agressions du prédateur. En fait pour des raisons de commodité, des larves de 3^{ème} stade ont été fournies aux nabides, elles sont à ce stade encore très vulnérables et leur grosse taille évite un renouvellement trop fréquent des proies. Un morceau de milieu artificiel est mis à la disposition de ces larves.

Afin d'assurer un taux d'humidité constant, un morceau de papier filtre, imbibé d'eau et disposé dans une petite boîte plastique, est placé à l'intérieur de chaque boîte de Pétri

Enfin chaque femelle dispose pour pondre d'une tige de graminée, renouvelée quotidiennement.

b) Les oeufs

Après contrôle de la présence des oeufs, la tige support de ponte est disposée dans un tube de Borel en verre en atmosphère saturée en humidité. L'éclosion des larves a lieu environ 8 jours plus tard.

c) Les larves

Les larves du premier stade sont élevées collectivement en présence de larves néonées ou encore d'ooplaques de S. frugiperda. Elles sont ensuite individualisées, et élevées de la même manière que les adultes, en prenant toutefois soin d'adapter la taille des proies à celle du prédateur.

3) Polistes sp.

Le maintien d'un ou de plusieurs nids de guêpes d'une espèce du genre Polistes a été réalisé au laboratoire à partir de colonies capturées dans la nature.

Le dispositif d'élevage consiste en une boîte principale, au sommet de laquelle le nid de la colonie a été suspendu de la même façon qu'il l'est dans l'environnement naturel (Pl.IX, Fig.24). Une boîte secondaire, reliée à la précédente par un sas formé d'un tunnel de plastique transparent et muni d'une fermeture à l'une de ses extrémités, constitue la zone d'approvisionnement des Vespidae (Pl.IX, Fig.25). Des larves de 5^{ème} et 6^{ème} stade sont déposées sur du milieu artificiel à l'intérieur de cette boîte secondaire. De l'eau sucrée à 7% est également mise à la disposition des Vespidae.

Après une durée d'acclimatation de quelques jours les Vespidae viennent s'alimenter sans problème dans la boîte secondaire, en cheminant par le tunnel prévu à cet effet . . .

C. TECHNIQUES DE PATHOLOGIE EXPERIMENTALE

1) Infection per os

a) Contamination du milieu nutritif

* Milieu herbacé

La contamination du milieu herbacé est obtenue par badigeonnage, ou encore par trempage, de feuilles de D. swazilandensis à l'aide, ou dans les suspensions virales choisies.

* Milieu artificiel

La contamination du milieu artificiel est assurée par incorporation du virus dans le milieu, au cours de sa fabrication, ou, plus fréquemment par dépôt d'un volume connu d'une suspension virale titrée sur la surface de ce milieu. Dans ce dernier cas, le milieu contaminé est laissé à sécher à l'air libre durant 1 heure.

b) Contamination du chorion

Pour la multiplication des germes, la technique d'infection retenue a été le badigeonnage des ooplaques. Les larves néonées se contaminent en ingérant le chorion lors de leur éclosion.

D. TECHNIQUES CYTOLOGIQUES

1) Microscopie photonique

a) Les coupes

Les larves ou les différents tissus sont fixés au Carnoy ou au Bouin, puis inclus dans la paraffine après deshydratation dans l'alcool éthylique et butylique.

Les coupes de 4,5 microns d'épaisseur sont ensuite colorées. Deux techniques de coloration spécifique ont été employées, avec le même succès, pour la mise en évidence des polyèdres d'origine virale sur coupes histologiques. Ces deux techniques se basent sur le même principe de différenciation, par contre coloration, des corps d'inclusion préalablement colorés. La couleur des corps d'inclusion est rose vif après coloration par la technique de Vago et Amargier (1963), et rouge après coloration par la technique décrite par Hamm (1966).

b) Les frottis

Pour les examens de contrôle post-infection, les frottis d'hémolymphe, de tissu adipeux, ou intestinaux, sont colorés au bleu de méthylène de Loëffler, et examinés au microscope optique en contraste de phase.

Les colorations employées en histologie sont applicables avec de très bons résultats à la technique du frottis sur lame, moyennant quelques adaptations.

Ainsi, pour l'ensemble des analyses effectuées au cours des suivis réalisés, la technique de coloration suivante, dérivée de celle de Vago et Amargier (1963), a été employée: les frottis sont laissés à sécher à l'air, puis fixés dans une solution d'acide picrique à saturation dans l'alcool à 80° pendant une heure. Après passage à l'eau lithinée et rinçage à l'eau, les lames sont colorées avec le colorant de

Vago durant 10 minutes. Elles sont ensuite rincées dans deux bains d'alcool à 40°, puis colorées au jaune de méthanile 1 minute. Les lames sont ensuite rincées une nouvelle fois à l'alcool à 40°, séchées, et observées au microscope optique.

La technique décrite par Sikorowski et al. (1971) a été employée avec succès pour la confirmation des diagnostics délicats.

2) Microscopie électronique

La préparation des grilles de suspensions virales a été réalisée, après dépôt sur grilles recouvertes de collodion carboné, par la technique de contraste négatif à l'acide phosphotungstique à 1% pH 7,5 (Brenner et Horne, 1959)

E. TECHNIQUES DE PURIFICATION DES VIRUS ET DES ADN

1) Broyage des larves

Les larves sont broyées dans un tampon phosphate M/20, pH 7,4 en présence de Sodium Lauryl Sulfate (SLS) à 0,1%, à l'aide d'un broyeur de Potter, ou encore, si les quantités à broyer sont importantes, à l'aide d'un broyeur mélangeur de type ménager (Moulinex).

La suspension obtenue est filtrée sur mousseline, puis sur coton hydrophile, afin d'éliminer les débris cuticulaires et cellulaires.

2) Purification des corps d'inclusion

Les polyèdres et granules sont amenés au culot par une série de centrifugations. Cette série est fonction des impuretés présentes dans les jus de larves initiaux. Un contrôle de pureté est réalisé, après

chaque centrifugation, par observation, au microscope optique, de frottis sur lame colorés au bleu de méthylène.

Si une bonne séparation des corps d'inclusion est difficile à obtenir par cette technique, les suspensions pré-purifiées sont placées sur gradient continu de sucre (40-60% pds/pds) et centrifugées à 30 000 trs pendant 30 minutes (ultracentrifugeuse Beckman, Rotor SW 41Ti). Les bandes de corps d'inclusion sont prélevées à la pompe péristaltique et dialysées contre un tampon phosphate M/20.

3) Extraction et purification des virions

Les corps d'inclusion sont dissous en tampon carbonate de sodium (Na_2CO_3 0,125 M, pH 10,5) durant un temps qui dépend de la richesse de la suspension initiale.

La solution obtenue est ensuite centrifugée à 4000 trs durant 3 minutes (centrifugeuse Beckman J 21 B) afin de mettre au culot les impuretés et les corps d'inclusion non dissociés. Le surnageant est, après dépôt sur gradient continu de sucre (20-50% pds/pds), centrifugé à 18 000 trs durant 1 heure (ultracentrifugeuse Beckman, Rotor SW 27.1).

Les bandes de virions sont prélevées du gradient et diluées en tampon phosphate M/20. La mise au culot des virions se fait par centrifugation à 25 000 trs durant 1 heure.

Un contrôle de pureté du culot de virions obtenu est effectué au microscope électronique sur grille, après coloration négative à l'acide phosphotungstique.

4) Extraction de l'ADN

L'extraction de l'ADN se fait par ajout de 1 ml de tampon Na_2CO_3 0,125 M, SLS 5 mg/ml, sur les culots secs de virions. Cette attaque a lieu au bain marie à 60°C pendant une heure.

La séparation des acides nucléiques des protéines se fait par extraction au phénol. Un même volume de phénol saturé (100 ml de phénol et 30 ml de tampon TRIS 0,01 M-EDTA 0,001 M, pH 7,8) est ajouté à la suspension de virions attaqués. L'acide nucléique libéré reste dans la phase aqueuse surnageante. L'opération est répétée plusieurs fois. La phase aqueuse finale est dialysée à trois reprises durant 24 heures contre un tampon TRIS-EDTA afin d'éliminer le phénol.

La pureté et la richesse de la solution d'ADN obtenue est déterminée après passage au spectrophotomètre dans le proche UV (220-360 nm). Une estimation de la concentration en acide nucléique est calculée d'après la densité optique lue à 260 nm, en considérant qu'une DO_{260} correspond à $50 \cdot 10^{-3}$ mg d'ADN.

Le calcul du rapport DO_{280}/DO_{260} permet de connaître le taux de contamination de la solution par les protéines.

F. TECHNIQUES BIOCHIMIQUES

1) Analyse de l'ADN par les enzymes de restriction.

Les enzymes de restriction possèdent la propriété de couper la molécule d'ADN suivant des séquences bien définies. Les 5 enzymes utilisées: Eco RI, Bam HI, Hind III, Sma I et Sac I reconnaissent respectivement les séquences G/AATTC, G/GATCC, A/AGCTT, CCC/GGG et GAGCT/C. L'attaque enzymatique par Eco RI, Bam HI et Hind III est réalisée dans un milieu dont la composition est la suivante: 10 mM TRIS-HCl pH 7,5; 50 mM NaCl, 10 mM $MgCl_2$; 6 mM dithiothreitol. Le milieu d'attaque des enzymes Sma I et Sac I a quant à lui une autre composition: 6 mM TRIS-HCl pH 8; 6 mM $MgCl_2$; 60 mM mercaptoéthanol; 80 mM KCl. Le mélange enzyme-ADN est porté 1 heure au bain marie à 37°C.

L'arrêt de la réaction enzymatique est provoqué par ajout d'une solution 0,5 M EDTA 4 Na, pH 7 (NaOH), 20 mg bleu de bromophénol/ml, 30% sucrose.

G. TECHNIQUES D'ELECTROPHORESE EN GEL D'AGAROSE

La migration des ADN fractionnés par les enzymes de restriction est réalisée en gel d'agarose, sur cuve horizontale (Bio-Rad mini sub DNA cell).

Les gels sont préparés en tampon Tris 40 mM-HCl pH 7,5, acétate de Na 20 mM, EDTA 2 mM, bromure d'éthydiuim $5 \cdot 10^{-5}$ mg/ml, à une concentration en agarose choisie entre 0,8 et 1%. Le tampon de migration est le même que celui entrant dans la composition du gel. Les gels, à 8 ou 15 puits, sont soumis après chargement à une différence de potentiel de 10 V (9 mA) pendant 14 heures. La présence des fragments successifs d'ADN est mise en évidence par coloration au bromure d'éthydiuim, et révélée en lumière ultraviolette (254 nm).

L'analyse de la migration, et l'estimation des poids moléculaires des bandes d'ADN est réalisée à partir d'une photographie instantanée (polaroid) du gel coloré.

H. TECHNIQUES IMMUNOLOGIQUES

1) Préparation des immun-sérums

Les immun-sérums spécifiques sont préparés à partir de jeunes lapins (4 à 5 mois) qui reçoivent un mélange à parties égales d'antigène et d'adjuvant complet de Freund (bioMérieux). L'injection est pratiquée en deux points et de deux façons différentes. La moitié du volume est injectée par voie sous-cutanée au niveau de l'épaule, l'autre moitié l'est dans le muscle de la cuisse. Un rappel consistant en une injection du même antigène sans ajout d'adjuvant de Freund, est réalisé 4 semaines plus tard.

Les sérums sont préparés à partir de suspensions antigéniques du virus entier purifié, de suspensions de virions libres, ou encore d'une suspension de virions et de corps d'inclusion solubilisés.

Le sang du lapin est prélevé par ponction intracardiaque et le sérum est récupéré après coagulation en tubes à essais durant 24 heures. Environ 40 ml de sérum sont ainsi récupérés, puis stockés jusqu'à leur utilisation, en portions aliquotes de 1 ml au congélateur.

2) Immunodiffusion en gel d'agarose

Les antigènes et immun-sérums à éprouver sont déposés dans des puits, préalablement percés dans un gel d'agarose à 1% coulé sur lame d'histologie.

Les produits sont laissés à diffuser pendant 24 heures. Passé ce délai, les lames sont rincées, séchées, puis colorées au noir amido (45% eau, 45% méthanol, 10% acide acétique et 0,5% pds/pds de noir amido). Les arcs de précipitation deviennent alors bien visibles.

3) Technique E.L.I.S.A.

L'application des techniques E.L.I.S.A. pour la détection des protéines d'origine virale est depuis longtemps pratiquée avec succès et donne de très bons résultats. C'est, de ce fait, devenu une technique couramment utilisée comme moyen de détection et de discrimination des virus d'insectes. La technique est applicable aussi bien aux virus non inclus (Kelly et al., 1978; Longworth et Carey, 1980) qu'aux virus inclus, que ce soient les Reovirus (Payment et al., 1982) ou encore pour le cas qui nous intéresse plus particulièrement, les Baculovirus (Crook et Payne, 1980; Kelly et al., 1978; Langridge et al., 1981; Ma et al., 1984; Volkman et Falcon, 1982).

La technique qui a été utilisée au cours de l'étude entreprise est la méthode indirecte à la peroxydase. Celle-ci nécessite, pour la détection d'un antigène, un anticorps spécifique obtenu à partir d'un

sérum de lapin, et un sérum de mouton anti-lapin couplé à la peroxydase. Le substrat retenu pour révéler l'activité peroxydasique a été l'ABTS.

Les suspensions de larves broyées en tampon PBS azide (tampon phosphate 0,02 M, NaCl 0,9%, azide de sodium 0,02%) sont disposées, à raison de 0,2 ml par puits dans les plaques de microtitration (Plaques Linbro à 96 puits: Flow Lab. Inc.). Après 3 rinçages successifs au tampon PBS tween-azide (tween 20 0,05%), les sérums dilués au 200^{ème} sont déposés dans les puits durant 2 heures à 37°C. Ces sérums sont d'abord dilués au 10^{ème} dans une suspension de larves saines broyées (0,1 g/ml). L'absorption est réalisée pendant une nuit à 4°C. Après centrifugation (2000 g, 10 minutes) le surnageant est prélevé et la dilution finale du sérum ajustée. A nouveau, trois rinçages sont effectués, 2 à l'aide d'un tampon PBS tween-azide, le dernier à l'eau distillée afin d'éliminer toute trace d'azide. Le conjugué peroxydase-sérum de mouton anti-lapin (Cappel Peroxidase conjugated IgG fraction, Sheep anti-rabbit IgG: heavy and light chains specific) est utilisé à la dilution de 1/10 000 en tampon PBS tween. Le conjugué est lui aussi absorbé sur une suspension de larves saines broyées (0,02 g/ml) durant 1 heure. La solution d'IgG finale est obtenue après centrifugation (2000 g, 10 minutes) et dilution du surnageant. Le contact dans les puits à lieu durant 3 heures à 37°C. 3 rinçages sont ensuite réalisés, 2 au tampon PBS tween et le dernier à l'eau distillée. Le colorant est utilisé à la concentration de 2 mM en tampon citrate (pH 4) en présence d'eau oxygénée 1,3 mM à 30%.

La mise au point du test, ainsi que la détermination de l'efficacité des sérums, ont été réalisées par lecture de la densité optique à 405 nm sur un lecteur Titertek multiskan. Par la suite les différents tests réalisés ont été analysés de manière qualitative.

CHAPITRE IV

LA POLYEDROSE NUCLEAIRE ET LA GRANULOSE DE SPODOPTERA FRUGIPERDA

| | |
|--|-----------|
| A. CARACTERISATION DES VIRUS ETUDIES..... | 69 |
| 1) Caractéristiques générales des virus étudiés..... | 69 |
| 2) Nombre de fragments obtenus après l'action des enzymes de restriction..... | 70 |
| a) La polyédrose nucléaire..... | 70 |
| b) La granulose..... | 71 |
| 3) Estimation du poids moléculaire des génomes..... | 75 |
| a) La polyédrose nucléaire..... | 75 |
| b) La granulose..... | 75 |
| 4) Discussion..... | 77 |
| B. CONSIDERATIONS SUR L'UTILISATION DE LA TECHNIQUE E.L.I.S.A. DANS LE DIAGNOSTIC IMMUNOLOGIQUE DES INFECTIONS A BACULOVIRUS: | 78 |
| 1) Choix des immun-sérums..... | 78 |
| 2) Concentration des sérums employés..... | 81 |
| 3) Variations individuelles..... | 81 |
| 4) Absorption des sérums..... | 82 |
| 5) Importance de la composition des solutions coatées..... | 83 |
| 6) Discussion..... | 84 |

LA POLYEDROSE NUCLEAIRE ET LA GRANULOSE DE SPODOPTERA FRUGIPERDA

A. CARACTERISATION DES VIRUS ETUDIES

Les études biochimiques ont été entreprises afin de caractériser de façon précise les virus étudiés. Cette caractérisation se justifie par la possibilité d'extension du spectre d'hôte de certains Baculovirus. Il était donc nécessaire de vérifier qu'aucune contamination ne s'était produite, et que les virus étudiés étaient restés les mêmes durant toute la durée du travail entrepris.

De plus, la présence de virus du même type déjà décrits sur S. frugiperda dans d'autres zones géographiques impliquait, dans un souci de comparaison des résultats, de savoir si les germes étudiés étaient identiques.

1) Caractéristiques générales des virus étudiés

Les virions de la granulose forment une bande unique après centrifugation sur gradient de sucre (Pl.X, Fig.26), caractéristique de la présence d'une nucléocapside unique par enveloppe (type single rod). Ce fait est confirmé par observation au microscope électronique des virions (Pl.X, Fig.27 et 28).

Les virions de la polyédrose nucléaire sont comme toutes les souches isolées jusqu'à ce jour sur S. frugiperda (Agudelo et al., 1983; Bergold, 1963; Kuno, 1979) du type multiple embedded, comme l'atteste la présence de nombreuses bandes après centrifugation sur gradient continu de sucre (Pl.X, Fig.26).

L'extraction phénolique des protéines, après attaque en milieu alcalin des virions, libère une molécule dont le spectre d'absorption est caractéristique d'un acide nucléique (Pl.XI, Fig.29).

La confirmation de l'identité sérologique entre les deux virus de S. frugiperda et les autres membres de la famille des Baculoviridae a été obtenue par l'observation de réactions sérologiques positives entre les sérums anti-granulose et anti-polyédrose de S. frugiperda et d'autres granuloses ou polyédroses nucléaires d'insectes. Les réactions sérologiques inverses, parfois très importantes, de sérums dirigés contre d'autres Baculovirus sur la granulose et la polyédrose nucléaire de S. frugiperda ont aussi pu être mises en évidence (Chap. IV, B, 1).

2) Nombre de fragments obtenus après l'action des enzymes de restriction

a) La polyédrose nucléaire

La présence de nombreuses bandes submolaires dans les électrophorogrammes réalisés après digestion de l'ADN extrait des isolats naturels des SfNPV Guadeloupe et Guyane, prouve la forte hétérogénéité des populations virales rencontrées. La prise en compte des seules bandes unitaires permet, pour chaque enzyme, de tirer un certain nombre de résultats et de comparer ces virus à ceux déjà décrits dans la littérature (Pl.XII, Fig.30).

Sma I : L'attaque par cet enzyme se traduit par l'absence de fragment autre que celui de la molécule complète d'ADN, suggérant qu'aucune ou qu'une seule coupure (génome circulaire) ne se produit sur l'acide nucléique. Ce résultat est en accord avec ceux énoncés par Maruniak et al. (1984).

Hind III : Après digestion par l'enzyme Hind III, le virus isolé de Guyane présente dans sa majorité les mêmes sites de restriction que le SfNPV2 décrit par Maruniak et al. (1984). 14 bandes d'un poids moléculaire variant de 1,5 à 11,1.10⁶ daltons sont obtenues.

En revanche l'isolat SfNPV Guadeloupe présente, comme l'isolat SfNPV Ohio (Loh et al., 1981), un site de restriction supplémentaire de la bande A qui génère les bandes C et D.

Bam HI : La digestion par Bam HI produit pour les deux SfNPV Guyane et Guadeloupe 7 fragments de poids moléculaire supérieur à 10^6 daltons. Dans les deux cas, comme pour les clones SfNPV B1 et B2 décrits par Knell et Summers (1981), le fragment F est présent en concentration molaire.

Sac I : L'électrophorégramme obtenu après l'attaque de l'ADN de l'isolat originaire de Guadeloupe, est identique aux électrophorégrammes des deux clones précédemment cités.

Eco RI : L'analyse comparative des électrophorégrammes issus de la digestion enzymatique par Eco RI est rendue plus difficile eu égard au nombre important de segments générés.

L'interprétation des diverses électrophorèses réalisées pour le SfNPV Guadeloupe est mentionnée figure E. De nombreux fragments, 3 doublets et 1 triplet, migrent simultanément. L'augmentation de la concentration en agarose du gel (jusqu'à 1%), ainsi que celle de la durée du temps de migration (jusqu'à 30 heures), ne permettent pas de séparer ces bandes comigrantes. Dans le domaine d'interprétation autorisé par les électrophorèses et le mode de révélation utilisés (fragments dont la masse est supérieure à $0,6.10^6$ daltons seuls décelables), 25 fragments sont obtenus pour le SfNPV Guadeloupe.

Le SfNPV Guyane présente un électrophorégramme légèrement différent de celui venant d'être décrit. En particulier, la triple bande EFG du SfNPV Guadeloupe disparaît au profit d'une bande double EF et d'une bande supplémentaire H de $4,7.10^6$ daltons (Pl.XII, Fig.31). Une bande submolaire a) apparaît pour le SfNPV Guadeloupe entre les bandes EFG et H.

b) La granulose

Cette étude a été réalisée sur deux populations virales originaires de Guyane. La première SFGV1 a été prélevée sur le terrain

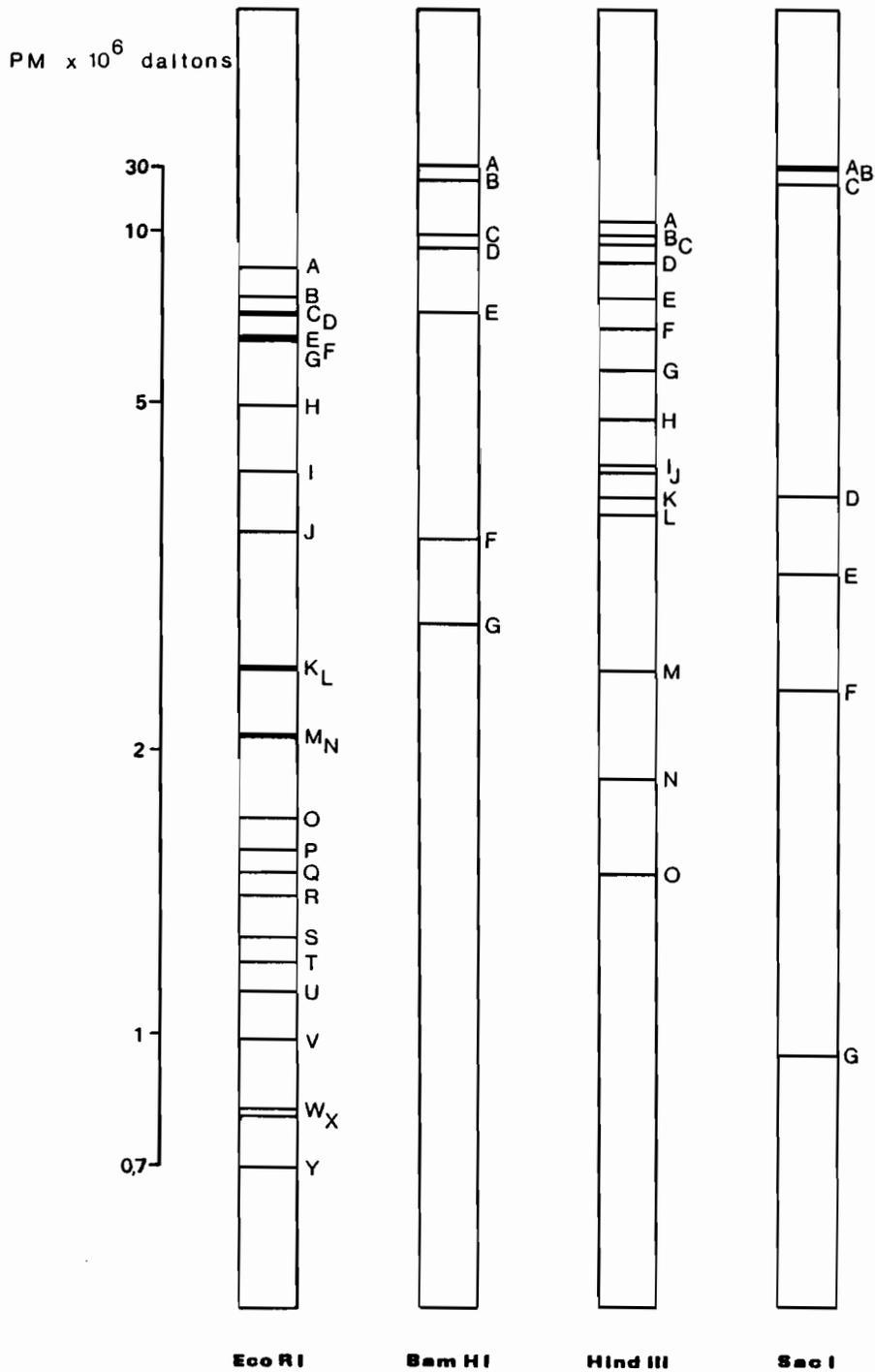


Fig. E - Digestion de l'ADN du Baculovirus de la polyédrose nucléaire de *Spodoptera frugiperda* (origine Guadeloupe) par les endonucléases Eco RI, Bam HI, Hind III, et Sac I. Electrophorégrammes normalisés sur échelle logarithmique.

en 1983, multipliée une seule fois au laboratoire de Cayenne, et conservée depuis au congélateur. La deuxième est issue d'un prélèvement effectué sur le même site, la même année, mais ramenée en métropole au laboratoire INRA de La Minière, où elle a été multipliée et entretenue depuis cette date.

Sma I : L'attaque enzymatique par Sma I coupe la molécule d'ADN des deux GV, SfGV1 et SfGV2, en trois fragments de poids moléculaire supérieur à 20.10^6 daltons (Pl.XII, Fig.32).

L'interprétation des électrophorogrammes obtenus pour les quatre enzymes de restriction Eco RI, Bam HI, Hind III et Sac I est représentée pour le SfGV1, figure F.

Hind III : L'endonucléase Hind III coupe l'ADN des deux populations de granulose en 14 fragments de poids moléculaire variant de 0,77 à 21.10^6 daltons. Les électrophorogrammes réalisés présentent de nombreuses bandes non unitaires, mettant en évidence l'hétérogénéité des populations virales étudiées.

Bam HI : Les électrophorogrammes obtenus après digestion par l'enzyme Bam HI font apparaître une différence entre les deux populations étudiées. Le SfGV2 présente, en particulier, un site de restriction supplémentaire, qui a pour conséquence de couper la bande C de 10.10^6 daltons du SfGV1, en deux bandes E et H d'un poids moléculaire complémentaire pour le SfGV2 (Pl.XII, Fig.33).

Sac I : 15 fragments sont obtenus par suite de la digestion de l'ADN de la granulose de S. frugiperda par Sac I. La présence d'une bande submoléculaire bien visible, d'un poids moléculaire de $7,2.10^6$ daltons peut être observée entre les bandes D et E de l'électrophorogramme. Les bandes GH et JK respectivement de 3,36 et $5,16.10^6$ daltons, migrent simultanément au cours des diverses électrophorèses réalisées.

Eco RI : L'attaque par Eco RI génère 17 fragments d'un poids moléculaire variant de 0,75 à $16,16.10^6$ daltons. Ce résultat comparé aux données fournies par Smith et Summers (1978), montre que l'électrophorogramme obtenu pour la granulose originaire de Guyane diffère fortement de celui du virus américain.

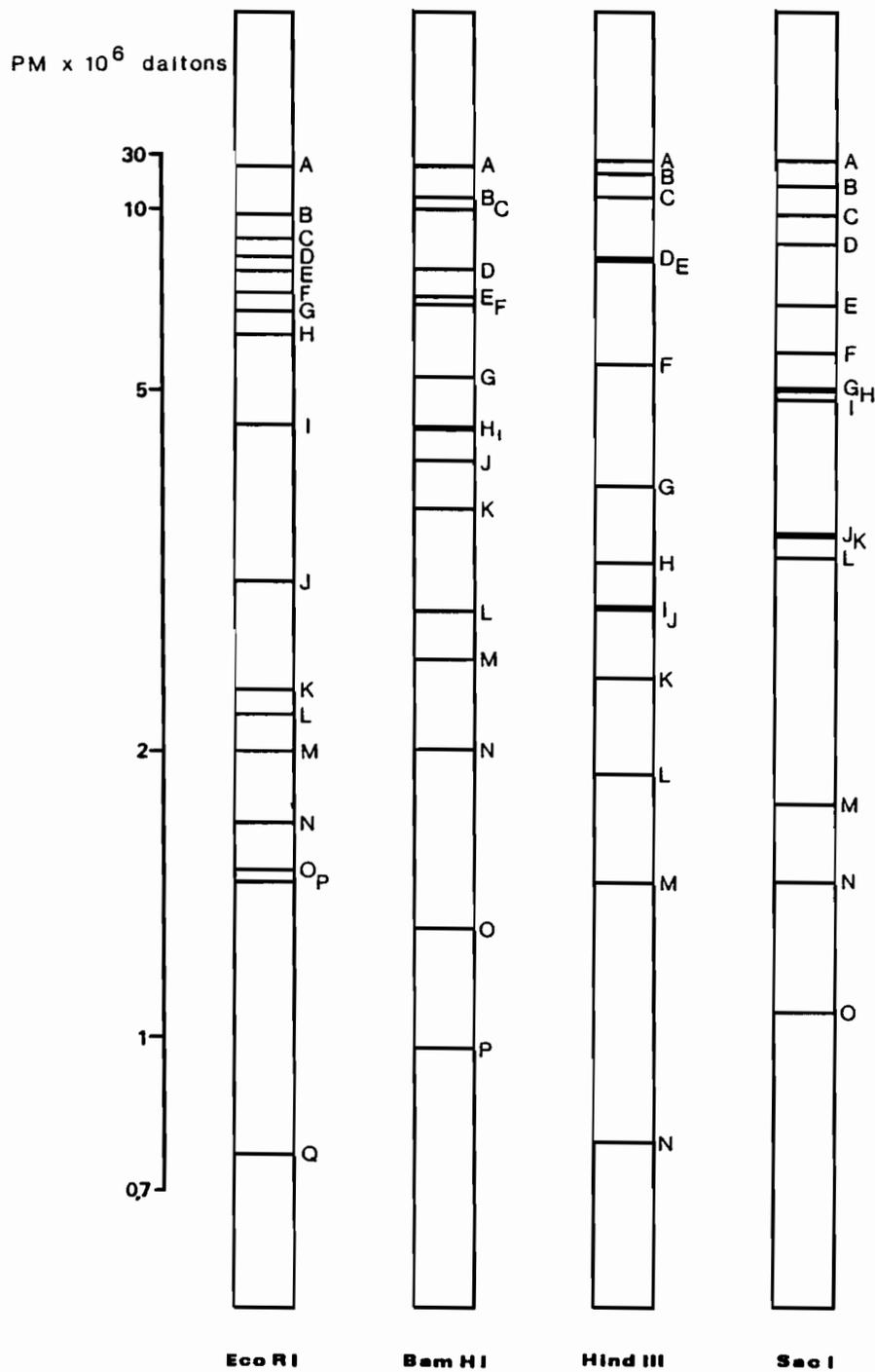


Fig. F - Digestion de l'ADN du Baculovirus de la granulose de Spodoptera frugiperda par les endonucléases Eco RI, Bam HI, Hind III, et Sac I. Electrophorégrammes normalisés sur échelle logarithmique.

3) Estimation du poids moléculaire des génomes

L'ADN de la polyédrose nucléaire d'Autographa californica (Lépidoptère: Noctuidae) (AcNPV) coupé par Eco RI (Croizier et Quiot, 1981) et le phage Lambda coupé par Eco RI (Boehringer) ont été utilisés comme référence pour l'estimation des poids moléculaires des ADN de la polyédrose nucléaire et de la granulose de S. frugiperda. Le domaine de migration observable pour les segments de l'AcNPV varie de 0,53 à 9.10^6 daltons. Les poids moléculaires mentionnés tableau G correspondent aux valeurs moyennes obtenues au cours de l'ensemble des migrations sur gel réalisées.

a) La polyédrose nucléaire

Les valeurs obtenues pour la digestion par Eco RI, Bam HI, et Hind III, respectivement de 82,46 83,95 et $84,22.10^6$ daltons, sont en accord avec les valeurs fournies par la bibliographie (Knell et Summers, 1981; Loh et al., 1981). L'imprécision sur la valeur donnée pour l'enzyme Sac I tient au fait que la digestion enzymatique n'a été réalisée qu'une fois et, que l'obtention de segments de forts poids moléculaires est entachée d'une imprécision importante, puisque ces segments sont situés en dehors du domaine étalon retenu.

b) La granulose

Les différentes électrophorèses réalisées à l'aide des trois endonucléases Bam HI, Hind III, et Sac I donnent comme estimation moyenne du poids moléculaire du génome de la granulose, respectivement les valeurs de 90,33 85,79 et $92,91.10^6$ daltons.

La meilleure estimation est obtenue avec l'endonucléase Eco RI, qui génère des fragments situés à l'intérieur du domaine étalon choisi. L'estimation du poids moléculaire de la granulose originaire de Guyane, obtenue à partir de 4 migrations réalisées avec cet enzyme, est de $88,87 \pm 0,74.10^6$ daltons.

Tableau G - Poids moléculaire moyen des segments d'ADN des deux Baculovirus, polyédrose nucléaire (SfNPV), et granuloze (SfGV) de Spodoptera frugiperda, obtenus après digestion par les enzymes de restriction Eco RI, Bam HI, Hind III, et Sac I.

| SfNPV Guadeloupe | | | | | SfGV 1 | | | | |
|------------------|--------|----------|-------|-------|--------|--------|----------|-------|------|
| Eco RI | Bam HI | Hind III | Sac I | | Eco RI | Bam HI | Hind III | Sac I | |
| S | PM | PM | PM | PM | S | PM | PM | PM | PM |
| A | 8,066 | 34 | 11,05 | 30 | A | 16,16 | 17 | 21 | 21 |
| B | 7,150 | 18 | 10 | 30 | B | 9,66 | 11 | 14 | 12 |
| C | 6,783 | 10 | 9,30 | 17 | C | 8,77 | 10 | 10,5 | 9,60 |
| D | 6,783 | 9,1 | 8,25 | 3,80 | D | 8,02 | 7,70 | 8,03 | 8,56 |
| E | 6,233 | 6,7 | 7 | 3,10 | E | 7,52 | 6,80 | 8,03 | 6,80 |
| F | 6,233 | 3,4 | 6,30 | 2,35 | F | 6,95 | 6,45 | 5,26 | 5,53 |
| G | 6,233 | 2,75 | 5,65 | 0,96 | G | 6,47 | 5,25 | 3,76 | 5,16 |
| H | 5,016 | | 4,85 | | H | 6,07 | 4,50 | 3,13 | 5,16 |
| I | 4,100 | | 4,22 | | I | 4,40 | 4,40 | 2,76 | 4,93 |
| J | 3,550 | | 4,15 | | J | 3,02 | 4,15 | 2,76 | 3,36 |
| K | 2,550 | | 3,85 | | K | 2,30 | 3,60 | 2,43 | 3,36 |
| L | 2,550 | | 3,70 | | L | 2,15 | 2,75 | 1,90 | 3,20 |
| M | 2,115 | | 2,50 | | M | 1,97 | 2,45 | 1,46 | 1,75 |
| N | 2,115 | | 1,90 | | N | 1,67 | 2,02 | 0,77 | 1,45 |
| O | 1,712 | | 1,50 | | O | 1,50 | 1,30 | | 1,05 |
| P | 1,575 | | | | P | 1,45 | 0,96 | | |
| Q | 1,487 | | | | Q | 0,75 | | | |
| R | 1,387 | | | | | | | | |
| S | 1,250 | | | | | | | | |
| T | 1,200 | | | | | | | | |
| U | 1,120 | | | | | | | | |
| V | 0,955 | | | | | | | | |
| W | 0,812 | | | | | | | | |
| X | 0,795 | | | | | | | | |
| Y | 0,687 | | | | | | | | |
| + | 82,457 | 83,95 | 84,22 | 87,21 | 88,83 | 90,33 | 85,79 | 92,91 | |

S : symbole des segments d'ADN ou de bandes d'électrophorèse

PM : poids moléculaire x 10⁶ daltons

+ : poids moléculaire total de la molécule d'ADN

4) Discussion

Les travaux entrepris pour caractériser les deux SfNPV Guadeloupe et Guyane montrent que ces virus sont identiques à ceux isolés en divers points du continent américain. La polyédrose nucléaire de S. frugiperda montre une forte hétérogénéité au niveau des populations virales, qui explique les différences observables au niveau des différents isolats géographiques.

En revanche, en ce qui concerne la granulose isolée en Guyane, il s'agit d'un virus autre que celui décrit et étudié par les auteurs américains. La valeur du poids moléculaire de l'ADN viral de ce nouveau virus est supérieure de plus de 10.10^9 daltons à celle donnée par Smith et Summers qui utilisent la même technique que celle que nous avons employée (1978). L'hypothèse d'une délétion ne peut être envisagée compte tenu des différences très marquées observables dans les électrophorogrammes des deux virus SfGV Guyane et américain.

La présence de deux granuloses différentes, isolées du même hôte dans des zones géographiques différentes a été décrite chez l'espèce Pseudaletia unipuncta (Lépidoptère: Noctuidae) (Harvey et Tanada, 1985). Puisqu'il s'avère que les deux virus sont différents, alors qu'isolés du même hôte, il conviendrait d'attribuer une dénomination particulière au virus isolé de Guyane, en vue de discerner les résultats obtenus sur ce dernier, de ceux obtenus dans d'autres régions du continent.

Les différences observables entre les deux populations de granulose étudiées montre qu'un virus peut présenter des variations de populations bien distinctes en fonction du moment où son analyse est effectuée. La multiplication répétée du virus au laboratoire pourrait être la cause de la disparité observée (Croizier et al., 1985). Il est cependant impossible de confirmer cette hypothèse avec certitude, puisqu'aucune analyse du génome par les enzymes de restriction n'a été effectuée sur le SfGV2 à son arrivée au laboratoire de La Minière.

B. CONSIDERATIONS SUR L'UTILISATION DE LA TECHNIQUE E.L.I.S.A. DANS LE DIAGNOSTIC IMMUNOLOGIQUE DES INFECTIONS A BACULOVIRUS

1) Choix des immun-sérums

Les sérums employés ont été obtenus après injection à des lapins de suspensions de corps d'inclusion entiers ou de virions purifiés.

Les résultats obtenus diffèrent fortement en fonction des deux types d'antigènes injectés. Lorsque le coating est réalisé avec des suspensions brutes de larves broyées, les réactions obtenues avec les sérums anti-virions sont bien plus faibles que celles que l'on obtient avec les sérums récupérés après injection de corps d'inclusion entiers. Cette constatation s'est appliquée aussi bien avec les sérums dirigés contre la polyédrose nucléaire, que contre la granulose.

La comparaison des réactions sérologiques obtenues avec cette dernière maladie montre cependant, que le pouvoir de détection de virus présents en faible proportion est limité pour les deux types de sérum, à des concentrations voisines de 10^{-5} g de larve granulosée/ml (Pl.XIV, Fig.34 et 35). Néanmoins, en ce qui concerne les anticorps anti-virions, l'utilisation d'un lecteur à UV reste indispensable pour affirmer avec précision la positivité des réactions, quelles que soient les concentrations en antigènes déposés dans les puits.

Les différences observables entre ces deux types d'anticorps peuvent être imputées d'une part à une faible production d'anticorps anti-virions par le lapin immunisé. Les protéines des virions libres, parce que plus difficiles à purifier et à obtenir de façon importante, ont en effet été injectées en quantité plus réduite que les protéines des corps d'inclusion. Une antigénicité plus importante des protéines constitutives des virions aurait pu compenser ce phénomène, il semble qu'il n'en ait rien été.

D'autre part, le coating a été réalisé avec des suspensions de broyats de larves mortes. Il existe, au cours de cette étape, une compétition pour le dépôt sur les parois des puits entre les protéines

des corps d'inclusion, présentes en forte quantité à ce stade et les protéines des virions. Les réactions anticorps-antigènes se produisant avec les protéines des virions se trouvent de ce fait fortement diminuées.

La prise en compte des résultats précédemment énoncés, montre qu'il est préférable d'utiliser les sérums préparés à partir des virus entiers ou des protéines de leurs corps d'inclusion pour la mise en place d'un diagnostic immunologique rapide. Les anticorps anti-virions, bien qu'affichant une spécificité plus importante, ne permettent pas de déceler rapidement et avec certitude la présence d'un virus.

Le choix des immun-sérums est donc essentiel à la mise au point d'un test E.L.I.S.A. pour le diagnostic immunologique des infections à Baculovirus. La faible réactivité d'un sérum dirigé contre un virus donné, et produit à partir de ce même virus, peut être liée à la faible antigénicité des suspensions injectées au lapin, ou à une injection trop faible inhérente à la non disponibilité de matériel antigénique. De plus le pouvoir de discrimination d'un tel sérum peut fortement être affecté suite à la réaction de ses sérums sur les protéines constitutives de l'hôte.

La proche parenté des protéines des corps d'inclusion des Baculovirus apporte une solution à ces deux importants problèmes. En effet un sérum obtenu à partir d'un virus ayant des propriétés antigéniques voisines peut être utilisé avec succès pour la mise en évidence d'un autre virus.

Un screening d'une vingtaine de sérums, mis à notre disposition par G. Croizier et tous dirigés contre des Baculovirus, a été réalisé pour mettre en évidence ceux qui présentaient des potentialités intéressantes pour une utilisation dans le diagnostic de la polyédrose nucléaire de S. frugiperda par la technique E.L.I.S.A.. Tous les sérums ont été utilisés en dilution au 200^{ème}. Les antigènes choisis étaient des suspensions de granules et polyèdres purifiés et dissous après action du Na₂CO₃.

Seuls cinq sérums ont montré des réactions significativement supérieures aux témoins avec les antigènes de la polyédrose nucléaire.

Il s'agit des sérums 78, 109, 124, 135, 137. L'origine, ainsi que le mode d'obtention de ces 5 sérums, sont mentionnés dans le tableau H.

Tableau H - Origine et mode d'obtention des sérums présentant de fortes réactions positives avec la polyédrose nucléaire de S. frugiperda.

| N° du sérum | Hôte | Forme injectée |
|-------------|---|----------------|
| 78 | <u>Galleria mellonella</u> (Lépidoptère: <u>Pyralidae</u>) | Polyèdres |
| 109 | <u>Agrotis segetum</u> (Lépidoptère: <u>Noctuidae</u>) | Virions |
| 124 | <u>Lymantria dispar</u> (Lépidoptère: <u>Lymantriidae</u>) | Polyèdres |
| 135 | <u>Spodoptera littoralis</u> (Lépidoptère: <u>Noctuidae</u>) | Polyèdres |
| 137 | <u>Bombyx mori</u> (Lépidoptère: <u>Bombycidae</u>) | Polyèdres |

Exception faite du sérum 109, aucun sérum réagissant avec la polyédrose nucléaire sans réagir avec la granuloïse, n'a pu être trouvé (Pl.XV, Fig.36). Ce résultat confirme la plus grande spécificité affichée par les sérums obtenus après injection de virions. Cependant les réactions de ce sérum pour une concentration de l'antigène de 10^{-8} g/ml de polyèdres solubilisés restent faibles. L'emploi des sérums 124 et 135, moins spécifiques mais très réactifs vis à vis de la polyédrose nucléaire, peut en revanche être envisagé avec succès au cours d'un diagnostic basé sur la technique E.L.I.S.A. L'utilisation simultanée d'un sérum dirigé contre la granuloïse, et son absence de réactivité, peut en effet permettre de conclure à la présence de la polyédrose nucléaire seule.

2) Concentration des sérums employés

Dans un but d'économie il était important de savoir jusqu'à quel point il était possible de diminuer la concentration en sérum, tout en continuant à obtenir des résultats positifs. Un screening basé sur une technique de diagnostic immunologique nécessite en effet une quantité importante de sérum dont l'obtention est longue. De plus, les étalonnages réalisés pour un sérum donné diffèrent pour un autre sérum. En conséquence, il est important pour pouvoir comparer les résultats que ceux-ci soient obtenus avec le même sérum et donc d'en disposer d'une quantité suffisante.

Les résultats obtenus avec un sérum anti-granules totaux (n°247), et un coating réalisé à l'aide de suspensions de broyats de chenilles atteintes de granulose, montrent que la sensibilité de la méthode est peu affectée par une augmentation d'un facteur 2 et 4 de la dilution. Une dilution des sérums au 800^{ème} baisse sensiblement l'intensité des réactions colorées, mais celles-ci restent encore très facilement décelables (Pl.XVI, Fig.37). Une telle dilution pourrait donc être envisagée avec succès dans le type d'investigations souhaité.

3) Variations individuelles

L'ensemble des résultats énoncés jusqu'à présent ont été dressés à partir de moyennes, ou encore de suspensions de broyats de plusieurs larves infectées. La détermination de la présence d'un germe par diagnostic immunologique se heurte, comme on vient de le voir, à la concentration en antigène des suspensions coatées dans les puits des plaques de microtitration.

L'analyse séparée de trois larves, infectées au stade 1 et congelées vivantes 15 jours plus tard, met en évidence la variation individuelle de la concentration en virus pour une même valeur de la concentration en broyat total de larves.

Ce résultat confirme que la production de virus est variable d'une larve à l'autre. Néanmoins, les limites à l'appréciation qualitative de la présence d'un virus sont les mêmes pour les trois larves (10^{-2} en g/ml).

4) Absorption des sérums

La non absorption des sérums se traduit par l'apparition d'un "bruit de fond" important. Ce "bruit de fond" a pour conséquence de faire perdre un facteur de dilution voisin de 10 dans les diagnostics entrepris; en effet à la limite du domaine de fiabilité de la technique, il devient impossible de discerner de façon irréfutable la présence de l'antigène recherché.

Divers essais ont été réalisés pour déterminer l'effet de l'absorption sur la réaction avec des larves saines. Les sérums absorbés l'ont été toute une nuit à 4°C dans un volume réduit de larves broyées (10^{-2} El) en dilution au $20^{\text{ème}}$ ou au $40^{\text{ème}}$. Leur concentration finale a ensuite été ajustée à la valeur souhaitée. Ces essais montrent (Pl.XVI, Fig.38 et 39) que l'absorption réduit considérablement le bruit de fond. La dilution au $20^{\text{ème}}$ des sérums sur une suspension de larves saines broyées suffit à annuler la réaction avec les témoins indemnes de virose (bruit de fond inférieur à 0,1 DO). Lorsque cette dilution est portée au $40^{\text{ème}}$ le bruit de fond reste dans des limites acceptables (valeur voisine de 0,15 DO).

Diverses suspensions ont été utilisées pour l'absorption des sérums dirigés contre la granulose de S. frugiperda. L'absorption sur la suspension de larves de S. frugiperda comme nous venons de le voir donne de très bons résultats. Des résultats similaires ont été obtenus lorsque l'absorption est réalisée de façon identique sur une suspension de larves de S. littoralis. En revanche le bruit de fond reste très important lorsque l'absorption est réalisée sur une suspension de larves de Galleria mellonella. Ce résultat suggère que lorsqu'un doute existe concernant l'état sanitaire d'un élevage, l'absorption des sérums pourra cependant être réalisée en faisant appel à des larves d'une autre

espèce. L'absorption d'un sérum sur des larves déjà infectées aurait en effet pour conséquence de diminuer sa réactivité vis à vis du virus contre lequel il est dirigé.

L'emploi au cours de l'absorption des sérums, de suspensions de larves broyées, ou de poudres d'insectes obtenues après précipitation acétonique, s'est avéré fournir des résultats équivalents dans la diminution du bruit de fond. Les suspensions de larves broyées présentent l'inconvénient de prendre une place importante, et impliquent d'être conservées au congélateur. Ce n'est pas le cas des poudres dont le volume est réduit et qui peuvent simplement être conservées au réfrigérateur. Cependant, ces suspensions préalablement diluées sont prêtes à l'emploi, tandis que l'utilisation des poudres nécessite une mise en suspension préalable.

Outre son effet sur la diminution du bruit de fond, l'absorption des sérums augmente la sensibilité de la technique de manière importante. Les essais entrepris montrent que cette augmentation de la sensibilité semble décroître avec la diminution de la concentration en antigènes coatés (Pl.XVI, Fig.39). La valeur de cette augmentation passe ainsi, pour un coatage réalisé à l'aide d'une suspension de granules solubilisés, de 0,4 DO pour une concentration de 10^{-4} g/ml de l'antigène à 0,2 DO pour une concentration de l'antigène de 10^{-6} g/ml.

5) Importance de la composition des suspensions coatées

Une expérience réalisée avec une suspension de granules purifiés et une suspension de même titre mais préalablement attaquée en milieu alcalin (Na_2CO_3), montre qu'une suspension de granules purs provoque une réaction colorée très faible. En revanche les protéines solubilisées provoquent des réactions très importantes, et augmentent fortement la sensibilité de la technique. La présence du virus devient ainsi décelable à une concentration de 10^{-6} g/ml (Pl.XVII, Fig.40).

Ce résultat suggère que la purification des suspensions préparées à partir de larves broyées, en vue de la concentration des corps d'inclusion, n'est pas souhaitable. Une telle purification aurait en

effet pour conséquence de faire disparaître les protéines virales "réactives" des suspensions à coater.

En revanche l'augmentation très importante des réactions obtenues après dissolution des corps d'inclusion, suggère qu'un tel traitement devrait être appliqué aux suspensions de larves broyées, avant qu'elles ne soient déposées dans les puits des plaques de microtitration. Les protéines issues de la solubilisation des corps d'inclusion s'ajouteraient à celles déjà présentes dans les suspensions. La sensibilité de la méthode s'en trouverait donc améliorée.

6) Discussion

Les résultats qui viennent d'être énoncés montrent que la technique E.L.I.S.A. est un outil utilisable pour le diagnostic immunologique répété des infections à Baculovirus, à partir de suspensions de broyats de larves.

L'utilisation de ce test est particulièrement adaptée à la détection de virus dont la mise en évidence au microscope photonique, même s'ils sont présents en grande quantité, est difficile (granulose et virus non inclus). De même la sensibilité de la technique permet la détection des virus à des concentrations très faibles et permet d'envisager la détection d'infections sublétales (Chap.VI, C). Le principe adopté, qui consiste à comparer, quel que soit le poids des larves, les valeurs des concentrations exprimées en g de larve par ml (Equivalent larvaire: El), semble être acceptable pour l'évaluation qualitative de la présence d'un Baculovirus par la technique E.L.I.S.A.

Le choix d'immun-sérums réactifs absorbés et employés à une dilution suffisamment forte pour envisager un suivi régulier, est une condition essentielle au succès de l'utilisation de cette technique. L'amélioration de la sensibilité de la réaction sérum anti-virus totaux sur des suspensions de broyats de larves, semble être obtenue après attaque de ces jus en solution alcaline de Na_2CO_3 .

Toutefois, le problème de la mise en évidence d'infections mixtes n'est pas solvable, de façon simple et routinière, par ce test, sans réaliser un investissement important au niveau de la production des sérums. En effet, l'identité sérologique des protéines des corps d'inclusion des deux Baculovirus, granuloze et polyédrose nucléaire, nécessite de se préoccuper finement de l'obtention de sérums réellement spécifiques des deux maladies. Le recours à des sérums anti-virions, sélectifs mais moins sensibles, ou à des sérums de substitution, peut aussi être dans ce but envisagé.

L'emploi du test E.L.I.S.A., tel qu'il a été décrit, est donc envisageable pour un suivi épidémiologique plus précis que celui basé sur la simple observation de frottis de larves ou de tissus de larves. Il devrait permettre en particulier d'estimer l'impact réel d'une virose sur la population de son hôte, en fournissant une valeur plus exacte de sa prévalence.

CHAPITRE V

ECOPATHOLOGIE DES INFECTIONS VIRALES A BACULOVIRUS

| | |
|---|-----------|
| A. CONSIDERATIONS SUR LES TECHNIQUES D'ÉCHANTILLONNAGE DES POPULATIONS LARVAIRES DE <u>SPODOPTERA FRUGIPERDA</u>..... | 89 |
| 1) Comparaison des deux techniques employées..... | 89 |
| a) Comparaison quantitative des effectifs échantillonnés..... | 89 |
| b) Comparaison qualitative des effectifs échantillonnés..... | 90 |
| 2) Evolution qualitative des effectifs capturés au filet fauchoir au cours du temps: fiabilité de la technique..... | 91 |
| 3) Discussion..... | 92 |
| B. IMPACT NATUREL DES DEUX BACULOVIROSES DE <u>SPODOPTERA FRUGIPERDA</u> EN PRAIRIE A <u>DIGITARIA SWAZILANDENSIS</u>..... | 93 |
| 1) Evolution des populations larvaires de <u>Spodoptera frugiperda</u> | 94 |
| 2) Evolution du rôle joué par les deux baculoviroses dans la limitation des populations larvaires de <u>Spodoptera frugiperda</u> | 95 |
| a) Importance prise par les maladies virales à Baculovirus dans la mortalité larvaire..... | 96 |
| b) Répartition spatio-temporelle des infections à Baculovirus..... | 97 |
| 3) Discussion..... | 98 |

ECOPATHOLOGIE DES INFECTIONS VIRALES A BACULOVIRUS

A. CONSIDERATIONS SUR LES TECHNIQUES D'ECHANTILLONNAGE DES POPULATIONS LARVAIRES DE SPODOPTERA FRUGIPERDA

Les deux techniques qui ont été employées pour la collecte et le dénombrement des populations larvaires de S. frugiperda: le filet fauchoir et le lancer de cercle accompagné d'une recherche au sol, sont fréquemment utilisées en prairie graminéenne aux Etats-Unis (Alvarado et al., 1983; Hofmaster et Greenwood, 1949; Fuxa, 1982; Fuxa et Geaghan, 1983; Koehler et Short, 1979; Koehler et al., 1977; Sheets et al., 1982).

Aucune donnée n'existait concernant l'utilisation de ces deux techniques en prairie guyanaise à D. swazilandensis. Il convenait donc d'établir une comparaison entre les résultats obtenus à l'aide du filet fauchoir et du lancer de cercle afin de connaître les limites imposées par ces techniques, et de pouvoir ainsi juger de la validité des estimations de population sur lesquelles se base l'étude écopathologique entreprise.

1) Comparaison des deux techniques employées

a) Comparaison quantitative des effectifs échantillonnés

Des relevés effectués sur une période couvrant toute la durée du développement larvaire montrent que la moyenne des larves capturées par coup de filet fauchoir est de 2,07 alors qu'elle n'est que de 0,46 par

lancer de cercle (Tableau I). Le rendement obtenu avec le filet fauchoir est 4,5 fois supérieur à celui obtenu par utilisation du cercle.

Ce résultat explique en grande partie le succès remporté par la technique du filet fauchoir dans l'échantillonnage des populations larvaires de S. frugiperda.

Tableau I - Comparaison des effectifs collectés, sur une période de 20 jours, au filet fauchoir et à l'aide de la technique du lancer de cercle.

| Technique employée | Nombre de larves collectées | Nombre de relevés effectués | Nombre de parcelles échantillonnées | Nombre de coups par parcelle | Moyenne |
|--------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|------------------------------|---------|
| Filet fauch. | 1081 | 13 | 8 | 5 | 2,07 |
| Lancer cercle | 123 | 11 | 8 | 3 | 0,46 |

b) Comparaison qualitative des effectifs échantillonnés

Si on s'intéresse à la répartition, par stade, des effectifs échantillonnés au filet fauchoir et au lancer de cercle, on s'aperçoit que les deux techniques fournissent des résultats très différents (Pl.XVIII, Fig.41).

Les effectifs échantillonnés à l'aide du filet fauchoir sont caractérisés par un faible pourcentage de larves de 5^{ème} et 6^{ème} stade larvaire (respectivement 4,2% et 0,7%), alors que ces deux stades sont les plus couramment rencontrés au cours des collectes effectuées au sol.

Inversement, alors que les trois premiers stades larvaires sont les plus fréquemment prélevés au filet fauchoir (respectivement 22,4% 33,3% et 26,4% pour les stades 1, 2 et 3) ces trois stades sont peu représentés ou même absents des relevés réalisés en recherche au sol (respectivement 0% 0% et 7,3%). Seul le 4^{ème} stade larvaire semble, en proportion, être représenté de façon équivalente dans les deux types d'échantillonnage.

2) Evolution qualitative des effectifs capturés au filet fauchoir au cours du temps: fiabilité de la technique

L'analyse de l'évolution des proportions des différents stades larvaires échantillonnés au filet fauchoir, au cours du temps, montre que chaque stade passe par une succession de maxima (Pl.XVIII, Fig.42).

Trois générations larvaires (A, B, et C) se sont chevauchées au cours de l'observation réalisée sur une durée de 20 jours.

Le suivi des maxima de chaque stade pour une génération donnée montre que ceux-ci retracent d'une manière très précise le développement larvaire de S. frugiperda. En ce qui concerne la génération B, seule représentée de façon complète au cours de cette observation, l'intervalle de temps séparant le maximum de récolte du premier stade larvaire et celui du dernier stade larvaire est de 13 jours. La valeur de l'approximation de la température moyenne obtenue par le rapport $\text{Somme } (T_{\text{max}} + T_{\text{min}}) / 2 / (\text{durée de l'expérimentation en jours})$, où T_{max} et T_{min} représentent les températures maximales et minimales journalières, a été de 26,1°C pour la période de temps considérée. Au laboratoire, l'écart de temps moyen, séparant les stades larvaires 1 et 6, est de 13 jours, à la température de 26°C. D'une manière générale l'écart observé entre deux maxima successifs d'une même génération se trouve aussi correspondre exactement à l'écart théorique obtenu au laboratoire entre ces deux stades.

3) Discussion

De nombreux travaux montrent que les échantillonnages effectués au filet fauchoir, sont dépendants, entre autres facteurs, de la phase du cycle dans laquelle se trouvent les insectes présents. Sur cotonnier, Wilson et Gutierrez (1980) montrent que les adultes de prédateurs sont plus fréquemment échantillonnés, en champ de coton, que les stades larvaires immatures. La comparaison des résultats donnés par le filet fauchoir, avec les estimations de densité absolue, doit tenir compte de cet état de fait. Dans le cas de S. frugiperda, Linker et al. (1984) proposent, en échantillonnage réalisé sur arachide, de résoudre ce problème en créant trois classes d'âge, établies selon la taille des larves.

Dans le biotope prairie guyanaise à D. swazilandensis, l'utilisation du filet privilégie la capture des jeunes stades larvaires de S. frugiperda. Ce résultat s'explique par le comportement différent des chenilles selon leur âge. Les jeunes larves, qui manifestent un phototactisme bien marqué (Greene et Morill, 1970), sont présentes en forte proportion dans les parties hautes du couvert végétal. Les deux derniers stades larvaires manifestent quant à eux, un géotactisme positif (Peairs et Saunders, 1978). Le filet fauchoir s'avère cependant être une technique qualitative acceptable pour le suivi des populations larvaires de S. frugiperda dans l'écosystème prairie guyanaise, puisque permettant de suivre le développement des populations larvaires présentes dans le biotope échantillonné.

La technique du lancer de cercle privilégie quant à elle la récolte des derniers stades larvaires de l'insecte. Néanmoins, afin d'obtenir une image correcte de la densité larvaire par ce procédé, et eu égard à son rendement très faible, un nombre important de lancers est à réaliser. L'échantillonnage est de ce fait rendu fastidieux et long. De plus la présence de jeunes stades larvaires est très difficile à mettre en évidence dans le couvert végétal très dense de la prairie. Il y a donc une distorsion supplémentaire vers les stades larvaires plus âgés, qui s'ajoute à celle liée au comportement des larves dans l'évaluation de la population échantillonnée.

La nécessité de répéter, dans le temps et dans l'espace, les prélèvements en vue du suivi écopathologique des populations larvaires a donc privilégié l'utilisation du filet fauchoir.

Les résultats qui viennent d'être énoncés confirment la nécessité qu'il y a à attacher de l'importance à la compréhension des techniques d'échantillonnage utilisées. L'analyse réalisée révèle des insuffisances dans les deux procédés mis en place pour effectuer le suivi des populations larvaires de S. frugiperda. Dans le cas présent, la complémentarité des deux méthodes est un argument favorable à leur emploi simultané dans le biotope considéré.

B. IMPACT NATUREL DES DEUX BACULOVIROSES DE SPODOPTERA FRUGIPERDA EN PRAIRIE GUYANAISE A DIGITARIA SWAZILANDENSIS

L'impact naturel de la granulose et de la polyédrose nucléaire de S. frugiperda a été étudié durant trois années consécutives, sur le site de la ferme expérimentale de Matoury (Pl.XIX, Fig.43). Une partie des larves collectées au filet fauchoir a été ramenée au laboratoire et élevée individuellement, jusqu'au stade nymphal. Un frottis sur lame a été réalisé pour chacune des chenilles mortes afin d'affirmer un premier diagnostic visuel, basé sur l'aspect extérieur des larves. Après fixation, les lames ont été colorées selon la technique de Vago et Amargier (1963), adaptée au frottis (Chapitre III, D). L'observation des lames au microscope optique a permis de conclure à la présence des corps d'inclusion viraux, et de confirmer l'origine de la mortalité.

La première série de relevés a été réalisée de Juillet 1982 à Février 1983. Trois parcelles de l'exploitation, choisies au hasard, ont été échantillonnées lors de chaque prélèvement bihebdomadaire. Cent coups de filet fauchoir ont été donnés par parcelle. Une partie des larves échantillonnées a été mise en élevage individuel sur feuillage, et celui-ci a été renouvelé quotidiennement.

Les deux séries suivantes de relevés, ont tenu compte des résultats obtenus et des limites rencontrées au cours du premier suivi

écopathologique effectué. La prise en compte de l'ensemble des parcelles, telle qu'elle avait été réalisée avait, en effet, pour inconvénient majeur d'espacer irrégulièrement dans le temps l'échantillonnage des populations larvaires d'une même parcelle. La compréhension des phénomènes écologiques et de surcroît écopathologiques était de ce fait rendue très difficile. Deux parcelles ont donc été par la suite échantillonnées, bihebdomadairement en ce qui concerne la deuxième série de relevés, et trois fois par semaine au cours des derniers relevés effectués en 1985.

De plus, afin de s'affranchir d'une éventuelle introduction de virus pouvant survenir lors de l'alimentation des larves sur feuillage au laboratoire (bien que celui-ci ait toujours été prélevé dans des zones vides de populations larvaires), les élevages ont été réalisés, pour la dernière série de relevés, sur milieu artificiel.

1) Evolution des populations larvaires de *Spodoptera frugiperda*

La première constatation qui s'impose à la vue de l'ensemble des résultats obtenus (Pl.XX, XXI, XXII, XXIII; Fig.44, 45, 46, 47), est la présence cyclique des larves sur les parcelles échantillonnées. Des pics de populations larvaires, d'importances relatives, se succèdent au cours du temps, en alternance avec des périodes où aucune larve n'est capturée.

L'intervalle de temps existant entre ces pics, ainsi que la prise en compte du passage des bovins dans la prairie (Pl.XXIII, Fig.47), montre que cette périodicité ne correspond pas à la succession des générations de *S. frugiperda*, mais est une conséquence directe de la pâture des prairies par les bovins. En effet, chaque passage de ces animaux dans les parcelles est suivi de l'apparition des populations larvaires dans la semaine qui suit.

La comparaison des effectifs larvaires, collectés au filet fauchoir, et adultes, pris aux pièges sexuels, dans les parcelles B1 et D1, du 5/02/85 au 5/10 85, montre que le vol important qui s'est produit à la fin du mois d'Août a été suivi par une forte population de

chenilles dans les parcelles qui étaient en repousse (PL.XXIV, Fig.48). En revanche le pic de population adulte, d'importance équivalente, qui l'a précédé, n'a pas été suivi de l'apparition de populations larvaires dans les parcelles qui étaient à cette période pâturée.

Les pratiques culturales employées, après le passage des bovins, consistent en un gyrobroyage, suivi d'un épandage d'engrais. La première de ces techniques a pour but de couper l'ensemble des refus. Quant à la seconde, elle est pratiquée afin d'accélérer la croissance des graminées, et d'en favoriser le développement par rapport aux adventices.

2) Evolution du rôle joué par les deux baculoviroses dans la limitation des populations larvaires de Spodoptera frugiperda

La répartition des chenilles atteintes de granulose échantillonnées sur l'ensemble de l'exploitation de Juillet 1982 à Février 1983, est mentionnée planche XIX, figure 43.

Huit des dix-neuf parcelles prospectées contenaient des individus atteints de granulose. Les taux de mortalité les plus importants ont été enregistrés chez les populations larvaires échantillonnées dans les parcelles B1 et D2. La forte présence d'infections virales dans la parcelle B1 a justifié son choix lors des relevés suivants. La parcelle D1, qui présentait elle aussi, des effectifs échantillonnés importants, bien que plus faiblement virosés, a été choisie comme deuxième parcelle pour un suivi écopathologique précis.

Les deux parcelles B1 et D1 ont été suivies, au cours de deux séries continues de relevés, sur une période de deux années et demi. Pour la parcelle B1, ces relevés ont été effectués du 11/10/83 au 10/02/84 et du 5/02/85 au 25/10/85. En parcelle D1, ils l'ont été du 6/12/83 au 6/04/84 et du 5/02/85 au 25/10/85.

a) Importance prise par les maladies virales à Baculovirus dans la mortalité larvaire

Les taux de mortalité, engendrés par les deux baculoviroses confondues, n'ont jamais excédé la valeur de 32% dans les deux parcelles B1 et D1. Le taux maximal enregistré pour la polyédrose nucléaire au cours des trois années de suivis écopathologiques, a été de 31% contre 22% pour la granulose. Si séparément, les deux maladies sont capables de provoquer des taux de mortalité de 20 à 30%, la sommation de ces deux causes de mortalité n'a jamais été observée sur les deux parcelles étudiées.

La forte mortalité engendrée par les parasites est en partie responsable de cet état de fait. En effet, les parasites représentent dans le biotope étudié un facteur important de mortalité larvaire. Les taux de mortalité par parasitisme atteignent des valeurs très importantes, avoisinant fréquemment 50% (Pl.XXV, Fig.49). Il est clair, puisque les larves mourant de parasitose, même si elles étaient virosées, n'étaient pas prises en compte dans l'analyse telle qu'elle a été conçue, que l'augmentation des taux de parasitisme se traduit par la baisse des taux de mortalité par virose.

Parmi les autres facteurs de mortalité rencontrés il faut citer une polyédrose cytoplasmique, et une infection à protozoaires, probablement à Vairimorpha necatrix. La présence continue de ces pathogènes n'a pas été suffisante pour en justifier une représentation. Les champignons entomopathogènes n'ont été que très rarement rencontrés durant les trois années qu'ont duré les relevés effectués.

De nombreux cas d'infections mixtes granulose-polyédrose nucléaire ont été notés tout au long des échantillonnages réalisés. A ce sujet, Il convient de préciser que si la présence de polyèdres est décelable dans le cas de larves infectées par la granulose, il n'a pas été possible, compte tenu des moyens diagnostics mis en oeuvre, de déceler la présence de granules dans les larves où la concentration en polyèdres était élevée. Les cas d'infections mixtes signalées représentent donc des larves le plus souvent à majorité de granules, et où la présence en plus ou moins grande quantité de polyèdres a été

enregistrée. Cependant il était difficile d'attribuer en présence de ces infections mixtes la mortalité à l'une des deux viroses, même si l'une d'elle était la plus représentée. En conséquence les cas d'infections doubles ont été séparés des deux autres types de mortalité, directement attribuables à l'une des deux viroses.

b) Répartition spatio-temporelle des infections à Baculovirus

L'analyse des cas de baculoviroses dans la mortalité larvaire, parasitisme exclu, montre que les deux maladies sont présentes de façon équivalente sur l'ensemble des parcelles de l'exploitation (Pl.XXV, Fig.50). Il en est tout autrement lorsqu'on s'intéresse à la répartition des maladies dans une parcelle déterminée.

Ainsi, l'attention toute particulière portée aux deux parcelles B1 et D1 au cours des années 1984 et 1985, a permis de confirmer la présence importante de la granulose dans les populations larvaires échantillonnées en parcelle B1. En revanche, la faible présence de cette infection virale a été confirmée durant les deux années de suivi épidémiologique en parcelle D1.

Ces différences ne sont pas liées à la densité des populations larvaires, puisqu'en 1983 par exemple, deux pics d'égale importance ont été enregistrés dans chacune des deux parcelles.

En ce qui concerne la polyédrose nucléaire, la présence de larves atteintes de cette infection a surtout été enregistrée en parcelle D1 (Pl.XXII, Fig.46).

Dans la parcelle B1, la régulation des populations larvaires par les deux baculoviroses, s'est échelonnée au cours des explosions de population de 1983 et 1984 (Pl.XXI, Fig.45). Le premier pic de population a été accompagné du développement de la polyédrose, alors qu'une faible mortalité par cette maladie a été enregistrée au cours du dernier pic. La granulose était à cette époque la maladie virale la plus représentée.

En 1985, les 8 mois de suivi ont été caractérisés par de faibles populations larvaires échantillonnées. Une seule explosion de population a eu lieu dans les parcelles B1 et D1 (Pl.XXIII, Fig.47). Cette explosion de population a été suivie par l'apparition de la granulose après plus de sept mois d'absence, dans la seule parcelle B1, alors que durant toute cette période aucun cas de baculovirose n'était enregistré en parcelle D1.

3) Discussion

L'attraction marquée par les populations d'insectes ravageurs vis à vis de parcelles fertilisées, a été maintes fois observée. Byers et Jung (1979) montrent que les populations de criquets sont plus importantes dans des parcelles de graminées pérennes où un amendement azoté a été réalisé. En Guyane, comme aux Etats-Unis (Lynch 1984), les attaques de S. frugiperda se localisent généralement sur des prairies bien conduites et fertilisées. Ces faits suggèrent que le dépôt des oeufs par les adultes est orienté.

Pitre et al. (1983) montrent que l'oviposition des adultes de S. frugiperda est influencée par la plante hôte. Ainsi, le dépôt des ooplaques varie par ordre décroissant entre maïs, cotonnier et soja. Lorsqu'on s'intéresse à l'effet de ces trois plantes sur le développement de l'insecte, on s'aperçoit qu'en ce qui concerne le poids des nymphes l'ordre de classement est exactement le même que le précédent (Pitre et Hogg, 1982). Ces résultats tendent à prouver que les adultes de S. frugiperda sont capables de choisir la plante hôte la mieux adaptée au développement et à la survie de l'espèce.

Or, la fertilisation azotée influence de façon positive le développement de S. frugiperda. Le poids des larves, leur survie, ainsi que le poids des nymphes et la fertilité des adultes, sont augmentés dans les parcelles fertilisées (Lynch, 1984) .

L'ensemble de ces considérations trouve sa justification dans les observations réalisées en Guyane, et explique que les adultes déposent leurs oeufs préférentiellement sur les parcelles amendées en repousse.

Un schéma général de la stratégie d'attaque de S. frugiperda dans l'écosystème prairie guyanaise à D. swazilandensis peut être établi de la façon suivante: les populations larvaires se développent sur les parcelles en repousse (Fig.J). A l'éclosion, les adultes recherchent d'autres parcelles de ce type et y déposent à leur tour leurs oeufs. La succession des générations de S. frugiperda se produit sur l'ensemble de l'exploitation, d'une parcelle en repousse à une autre, ou d'un groupe de ces mêmes parcelles à l'autre. La présence systématique de pics de populations larvaires, après chacun des passages des bovins signifie, en l'absence de tout phénomène migratoire, que le vol des adultes est constant sur le site expérimental tout au long de l'année. La variation de l'intensité des attaques observées est conditionnée par le nombre d'adultes présents à proximité des parcelles, au moment où l'événement coupe-repousse de ces parcelles se produit. Le milieu étudié ne doit donc pas, du point de vue de la dynamique des populations du ravageur, être abordé comme une culture pérenne. Les pratiques culturales employées en prairie conditionnent le développement des populations de la noctuelle S. frugiperda de la même façon que l'implantation d'une culture passagère le ferait.

En ce qui concerne la dynamique des populations virales, les taux enregistrés pour la polyédrose nucléaire sont inférieurs à ceux obtenus sur le continent nord-américain. En 1979-1980, Fuxa (1982) observe en prairie de Louisiane, des taux moyens de mortalité par NPV de 50,8%, avec des pics de 68% pour certaines localités. Schwehr et Gardner (1982) enregistrent, sur culture de sorgho, des taux de mortalité de 38 et 50% au cours des années 1979 et 1980. En ce qui concerne les granuloses, s'il se confirme que les deux maladies sont différentes, aucune comparaison directe ne doit être entreprise entre le pathogène guyanais et l'américain. Il est cependant bon de signaler que la granulose décrite par les auteurs américains produit des taux de mortalité généralement faibles, en comparaison avec la polyédrose nucléaire. Ceci n'est pas le cas en ce qui concerne la granulose guyanaise. Cependant, il est important de signaler que la faiblesse des taux de mortalité enregistrés pour les deux maladies virales en guyane française pourrait être due en partie à la présence concurrentielle des parasites. Il est en effet probable de penser, compte tenu des résultats énoncés au

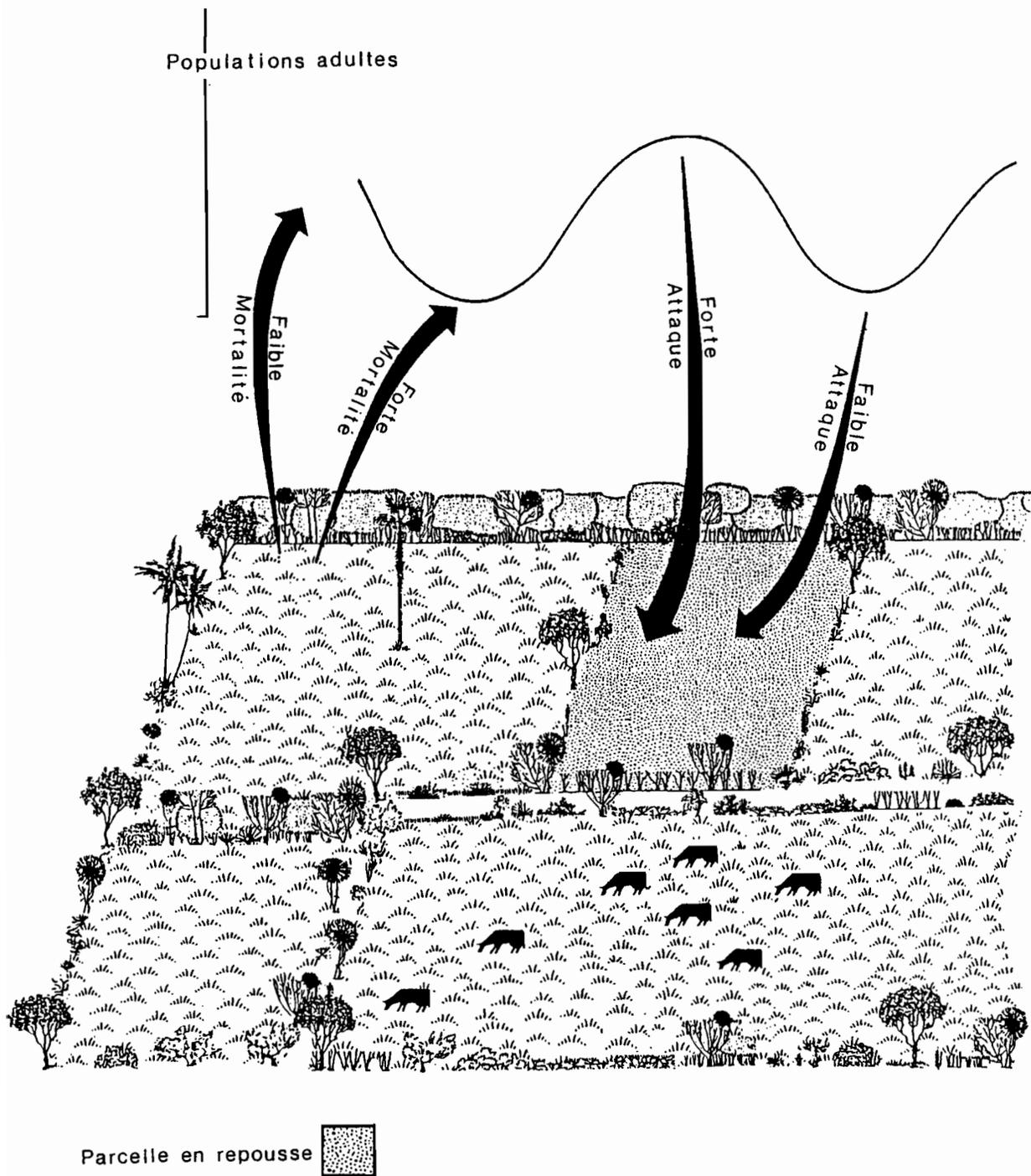


Fig. J - Schématisation des attaques de S. frugiperda dans l'écosystème prairie guyanaise à D. swazilandensis

chapitre VI (B, 4), que le taux de mortalité par baculovirose serait plus élevé en absence de tout parasitisme. Tout se passe comme si les deux viroses entretenaient une compétition pour réguler une part de la population larvaire qui ne dépasse pas la valeur de 30%.

A la vue des résultats différents obtenus dans les deux parcelles choisies pour réaliser cette étude, il semble qu'il y ait une localisation spatiale restreinte des germes, et que ceux-ci se maintiennent sur des parcelles où ils se sont précédemment développés. La dissémination naturelle des deux Baculovirus n'a pas été observée entre deux parcelles seulement éloignées d'une centaine de mètres.

L'absence d'observation de taux de mortalités de type épizootique est fort probablement à mettre en relation avec les fluctuations de populations larvaires enregistrées dans les prairies. La disparition totale de ces populations, due aux différents facteurs de mortalité, et au non maintien des populations de la génération suivante sur une même parcelle (suite à l'attraction exercée par les prairies en repousse sur les adultes), est en effet préjudiciable à l'établissement de taux élevés de mortalité par entomovirus. Les populations larvaires disparaissent avant que les maladies virales n'aient le temps d'atteindre la phase de paroxysme qu'est l'épidémie. Cette hypothèse est confortée par le fait que l'on observe les taux de mortalité les plus importants avec la maladie qui possède le développement le plus rapide, c'est à dire la polyédrose nucléaire.

La dispersion des germes semblant à la vue des résultats obtenus limitée, il est raisonnable de penser que la granulose se maintient sur la parcelle, probablement au niveau du sol. David et Gardiner (1967) montrent que la granulose de Pieris brassicae (Lépidoptère: Pieridae) persiste dans le sol durant plus de deux années. Dans le biotope prairie graminéenne guyanaise, la réapparition de la maladie au bout d'une période de 7 mois d'absence, suggère que les possibilités de persistance du germe au niveau du sol pourraient être au moins égales à cette durée.

Exception faite de l'observation d'un cas de polyédrose en 1985 en parcelle B1 (Pl.XXIII, Fig.47), la présence des deux maladies virales

n'a été enregistrée que lorsque les populations de l'hôte ont atteint des niveaux importants. Fuxa et Gheagan (1983) établissent qu'en prairie nord-américaine, la "prévalence" de la maladie n'est pas corrélée à la densité de population de l'hôte, mais est liée au maintien du virus dans le sol. Dans ce cas la contamination de l'environnement par le virus serait si importante que la densité de population de l'hôte n'en affecterait pas la "prévalence". Ce type de raisonnement ne semble pas être applicable à la Guyane, mais il semble en revanche, que dans le modèle guyanais étudié, le développement des maladies virales soit lié à la densité des populations larvaires de S. frugiperda.

CHAPITRE VI

ESSAI D'INTERVENTION DE L'HOMME SUR LES RELATIONS HOTE-PATHOGENES DANS LA PRAIRIE A DIGITARIA SWAZILANDENSIS

| | |
|--|------------|
| A. COMPORTEMENT LARVAIRE POUVANT INFLUER SUR L'ENDEMISME DES VIROSES.. | 105 |
| 1) .Préférence-non préférence feuillage sain-feuillage traité..... | 105 |
| 2) Influence de la localisation spatiale des larves sur le développement de la maladie..... | 111 |
| 3) Discussion..... | 111 |
| B. CONSEQUENCES DE L'INTRODUCTION ARTIFICIELLE DE VIRUS DANS L'ENVIRONNEMENT..... | 113 |
| 1) Conditions d'application des Baculovirus, protocole expérimental..... | 113 |
| a) Dispositif expérimental et traitement..... | 113 |
| b) Suivi des populations du ravageur..... | 114 |
| 2) Efficacité des Baculovirus..... | 115 |
| 3) Dissémination horizontale des virus..... | 117 |
| 4) Relations virus-parasites..... | 119 |
| 5) Discussion..... | 120 |
| C. PERSISTANCE DES VIRUS DANS L'ENVIRONNEMENT..... | 123 |
| 1) Protocole expérimental..... | 123 |

| | |
|--------------------|-----|
| 2) Résultats..... | 125 |
| a) Mortalité..... | 125 |
| b) Prévalence..... | 127 |
| 3) Discussion..... | 128 |

ESSAI D'INTERVENTION DE L'HOMME SUR LES RELATIONS
HOTE-PATHOGENES DANS LA PRAIRIE A DIGITARIA SWAZILANDENSIS

A. COMPORTEMENT LARVAIRE POUVANT INFLUER SUR L'ENDEMIQUE DES VIROSES

1) Préférence-non préférence feuillage sain-feuillage traité

Pour des raisons économiques, la lutte par entomovirus dans les pays en voie de développement s'oriente vers l'utilisation de produits faiblement purifiés. Teague et Phillips (1982) montrent que des suspensions de larves broyées ont une activité kairomonale sur le parasite Microplitis croceipes (Hyménoptère: Braconidae). Cette activité décroît lorsque le degré de purification du virus augmente. A priori, il n'est donc pas exclu que des suspensions virales plus ou moins purifiées n'aient pas non plus une action sur le ravageur visé. Il convenait donc de s'assurer que les larves de S. frugiperda n'affichaient aucun comportement de répulsion, vis à vis de zones traitées par un entomovirus.

Deux expériences ont été réalisées dans ce but. Dans les deux cas, le comportement de larves néonées vis à vis d'un feuillage traité ou sain, a été éprouvé. La matière active, un broyat de larves granulosées, filtré sur coton et titrant 0,19 g/ml, a été appliquée sur le feuillage par trempage. Au cours des deux expériences entreprises, la présence des larves sur le feuillage traité ou non, a été enregistrée respectivement 6 heures et 19 heures après le traitement. Afin d'éviter toute différence inhérente à la qualité du feuillage, une seule des deux

feuilles supérieures d'une même tige a été traitée, la seconde servant de témoin. Chacune des options, traitée et témoin, compte autant de feuilles terminales que l'autre, cette dernière feuille formée pouvant présenter un caractère attractif plus marqué.

Le premier essai a consisté en 15 répétitions de 4 feuilles, 2 traitées et 2 témoins, disposées parallèlement et de façon alternée, dans une boîte transparente de 9,5 x 6,5 x 2 cm³ (Fig.K). Afin d'éviter une éventuelle différence due à la position de la face du feuillage, l'un des deux couples de feuilles traité-témoin a été présenté face supérieure vers le couvercle de la boîte, le couple complémentaire étant lui, présenté face supérieure vers le fond de la boîte. Les 15 boîtes ont été positionnées face à une source de lumière, de telle sorte que l'axe des feuilles soit parallèle au rayonnement. Une dizaine de larves ont été disposées à l'opposé de la source lumineuse dans chaque boîte.

La répartition des larves sur l'ensemble des 60 feuilles s'établit de la façon suivante: 57 larves ont été retrouvées sur les feuilles témoins contre 52 sur les feuilles traitées (Tableau L). La comparaison des deux séries de données par un test t de Student établit un t calculé de 0,508 très inférieur à la valeur correspondant au seuil de probabilité de 1%. Une quelconque préférence pour un feuillage sain ou traité ne peut donc être mise en évidence.

Une deuxième expérience, réalisée cette fois à l'obscurité afin de s'affranchir de tout phénomène de phototactisme, a été conduite pour confirmer les résultats précédemment obtenus. Cet essai reproduit le protocole expérimental de Wiseman et al. (1982): deux traitements, feuillage sain et feuillage traité, ont été envisagés. 3 observations ont été réalisées par traitement et par répétition. 4 répétitions ont été faites simultanément. Les larves néonées ont été disposées au centre de la boîte qui a aussitôt été plongée dans l'obscurité totale par l'intermédiaire d'un papier épais (Fig.M).

Les résultats consignés dans le tableau N montrent que 84 larves sont retrouvées sur le feuillage témoin contre 74 sur le feuillage traité. Les données de l'analyse de la variance ne permettent pas, là

Source de lumière

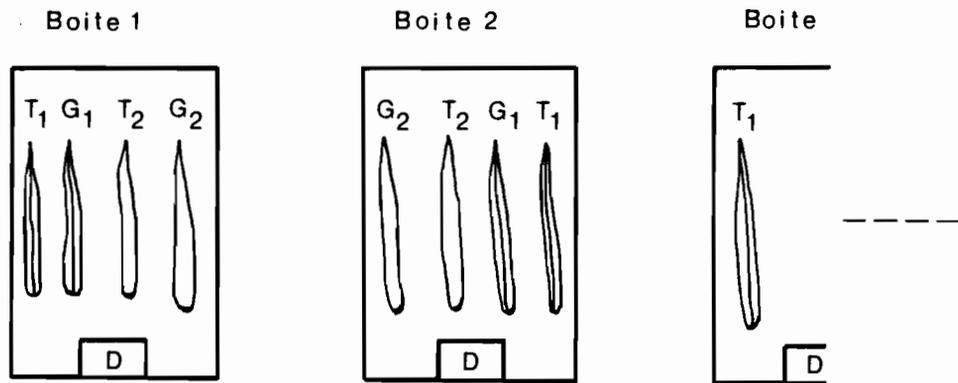


Figure K - Schéma du protocole de la première expérience de préférence-non préférence feuillage sain/feuillage traité.

- G feuilles traitées par trempage dans une solution de granulose
- T feuilles non traitées
- Indice 1: face supérieure du feuillage visible
- Indice 2: face inférieure du feuillage visible
- D: lieu de disposition des larves néonates

Tableau L - Répartition, 6 heures après leur dépôt, de larves néonées de S. frugiperda sur le feuillage témoin T (2 feuilles T₁ et T₂ par boîte), et granulose G (2 feuilles G₁ et G₂ par boîte).

| | Boîtes | | | | | | | | | | | | | | | Somme |
|----------------|--------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|-------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | |
| T ₁ | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 4 | 2 | 0 | 3 | 2 | |
| T ₂ | 5 | 3 | 5 | 0 | 1 | 0 | 1 | 3 | 5 | 2 | 2 | 1 | 6 | 2 | 2 | |
| T | 5 | 5 | 5 | 0 | 3 | 2 | 2 | 4 | 5 | 2 | 6 | 3 | 6 | 5 | 4 | 57 |
| G ₁ | 1 | 3 | 3 | 3 | 1 | 2 | 2 | 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 1 | 3 | 3 | |
| G ₂ | 3 | 3 | 2 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 5 | 2 | 0 | 0 | |
| G | 4 | 6 | 5 | 6 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 3 | 7 | 3 | 3 | 3 | 52 |

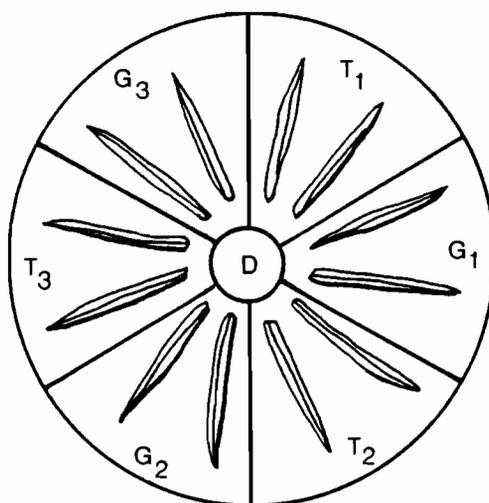


Figure 1 - Schéma du protocole de la deuxième expérience de préférence-non préférence feuillage sain/feuillage traité.

- G₁, G₂, G₃: Couples de feuilles traitées.
- T₁, T₂, T₃: Couples de feuilles témoins
- D: lieu de disposition des larves néonates

Tableau N - Répartition des larves néonates de S. frugiperda, 19 heures après leur dépôt, sur le feuillage traité et non traité avec la solution de granulose.

| | Réplifications | | | | |
|---|----------------|--------|--------|-------|-------|
| | ----- | | | | Somme |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | |
| | ----- | | | | |
| -Nombre de larves présentes sur les trois couples de feuilles non traitées..... | 5-10-11 | 11-4-7 | 9-1-4 | 6-7-9 | 84 |
| -Nombre de larves présentès sur les trois couples de feuilles traitées..... | 9-3-3 | 8-2-6 | 6-10-8 | 5-3-3 | 74 |

encore, de conclure à une quelconque différence de préférence de la part des larves entre les couples de feuilles témoins et les couples de feuilles traitées.

2) Influence de la localisation spatiale des larves sur le développement de la maladie

Le comportement des larves joue un rôle très important sur l'efficacité des traitements qui pourront être envisagés en plein champ. Leur biologie peut parfois aller jusqu'à compromettre cette efficacité (cas des insectes foreurs par exemple).

Comme le signalent Greene et Morill (1970), les jeunes larves de S. frugiperda sont retrouvées préférentiellement sur la partie supérieure des plants de maïs. Ce géotactisme négatif, ou phototactisme positif est aussi de règle en milieu herbacé, eu égard à l'aspect qualitatif des effectifs échantillonnés au filet fauchoir (Chapitre V, A).

Au cours des nombreuses observations entreprises sur milieu herbacé, il est apparu que la presque totalité des larves se localise sur la face du feuillage cachée de la lumière. La quantification de ce résultat a été réalisée au cours la première expérience de préférence-non préférence précédemment décrite. Seules deux larves sur 109 ont été retrouvées sur la face du feuillage exposé à la lumière.

3) Discussion

Il apparaît que l'utilisation de suspensions de granules peu purifiées peut être envisagée en plein champ sans craindre un effet de répulsion des chenilles vis à vis des zones traitées.

Ce résultat se trouve conforté par des observations effectuées au laboratoire, sur des larves de 6^{ème} stade, mises en présence par

couple avec des larves du même stade fortement infectées. Dans tous les cas, les larves infectées ont été entièrement consommées par les larves saines. Il est difficile de dire si un tel comportement a effectivement lieu en milieu naturel lorsque la possibilité de fuite est donnée aux larves infectées. Cependant il confirme que l'ingestion de matériel même fortement infecté ne rebute pas les larves de S. frugiperda.

Ces données sont d'une grande importance en ce qui concerne la compréhension des problèmes écopathologiques. Elles prouvent en effet, que la transmission naturelle des virus ne se trouve pas affectée par un éventuel comportement de répulsion vis à vis de cadavres ou de feuillage souillé par ces mêmes cadavres.

Les résultats obtenus sur la localisation spatiale des larves de S. frugiperda montrent que, si celles-ci sont vulnérables par leur position préférentielle sur la strate supérieure du milieu dans lequel elles se trouvent, leur présence sur les faces non exposées à la lumière pose des problèmes d'application lors du traitement. Ce dernier ne sera efficace que si la face inférieure du feuillage est correctement touchée par le produit insecticide. Gröner et Overbeck (1978) démontrent l'intérêt des pulvérisations dirigées vers le dessous du feuillage, dans l'utilisation d'un NPV contre Mamestra brassicae en culture de choux. Or, contrairement à cette culture, le traitement des parties inférieures du feuillage est, dans la prairie à D. swazilandensis, une opération très difficile. L'appareil de traitement employé devra donc créer une turbulence suffisante pour que l'insecticide puisse être déposé sur cette partie du feuillage. Ces considérations vont de pair avec la nécessité de protéger les insecticides viraux de l'agression des rayonnements ultraviolets (Chapitre VI, C).

B. CONSEQUENCES DE L'INTRODUCTION ARTIFICIELLE DE VIRUS DANS L'ENVIRONNEMENT

Les effets à court terme, d'un traitement réalisé en plein champ, à l'aide des deux Baculovirus SfNPV et SfGV sur les populations larvaires de S. frugiperda, ont été envisagés.

1) Conditions d'application des Baculovirus, protocole expérimental

Afin que l'étude de l'efficacité à court terme des Baculovirus puisse être entreprise dans les meilleures conditions, il était souhaitable que leur application soit effectuée sur de jeunes stades larvaires et en période de fortes populations, présentant pour la prairie un risque de dégâts importants.

Une parcelle présentant un risque élevé d'attaque a été suivie régulièrement au cours de l'année, afin de pouvoir mettre sur pied un traitement dans les conditions précédemment définies. La parcelle retenue a été choisie en fonction de l'historique des attaques observées sur le site de Suzini. Cette parcelle a, en effet, toujours présenté des taux d'attaques importants, et parfois très spectaculaires. Un relevé effectué au cours d'une attaque survenue en Janvier 1984, faisait apparaître une densité larvaire de 337 larves/m². Un relevé identique effectué en Février de la même année donnait une valeur de 304 larves/m².

a) Dispositif expérimental et traitement.

Quatre répétitions ont été faites pour chacune des deux variantes de l'expérimentation: témoin et traitement. Ces répétitions étaient réalisées sur des parcelles expérimentales d'une surface de 31 m², disposées selon la méthode des blocs et couvertes de façon homogène en D. swazilandensis.

Les virus ont été appliqués à la dose de $0,8.10^{13}$ polyèdres/ha (poudre INRA 190-83). Le titre en granules de la suspension de traitement n'a pas été déterminé.

Le traitement, effectué à l'aide d'un appareil de pulvérisation ULV manuel à piles, a eu lieu entre 18H et 18H30 le 17/7/84. Un adjuvant à base de condensat d'oxyde d'éthylène sur acides organiques (Adhésol/Procida), a été utilisé à la concentration de 0,3%, afin d'augmenter la mouillabilité et l'adhésivité de la suspension de traitement.

b) Suivi des populations du ravageur.

Les pontes de S. frugiperda ont été dénombrées sur les piquets qui délimitaient les parcelles expérimentales. Celles-ci n'ont pas été prélevées afin d'en contrôler l'éclosion. Compte tenu des observations réalisées par Thomson et All (1982), les piquets avaient tous été plantés de façon que leur sommet dépasse du sol de soixante centimètres.

Deux techniques de récolte complémentaires, le filet fauchoir et la recherche au sol, ont été employées pour suivre les populations larvaires du ravageur (Chapitre III, A). 5 coups de filet fauchoir (D = 31 cm) ont été donnés par parcelle. Un échantillonnage a eu lieu avant tout traitement afin de définir la structure initiale des populations larvaires. Deux filets fauchoirs différents ont été utilisés respectivement pour les parcelles témoins et traitées.

La recherche au sol a consisté en un dénombrement des larves contenues à l'intérieur d'une surface, délimitée par un cercle métallique de 31 cm de diamètre, lancé au hasard à trois reprises, dans chaque parcelle expérimentale. Ce type d'échantillonnage était effectué parallèlement aux prélèvements effectués au filet fauchoir, exception faite du premier.

Dans le but d'éviter les effets de bordure, seule une surface de 25 m², située au centre des parcelles précédemment définies, a fait l'objet d'observations. Les prélèvements ont tous été réalisés entre

7H30 et 9H am afin d'éliminer les variations journalières des effectifs capturés, observables chez cette espèce (Alvarado et al., 1983).

Le suivi journalier des populations adultes mâles a été réalisé au moyen de deux pièges à glu, type Scentry Wing Trap (Albany international), au centre desquels était disposée une phéromone de synthèse (Albany int. FAW). L'un des pièges était situé à proximité des parcelles expérimentales, l'autre en était distant de 500 m.

Une partie des larves récoltées selon les deux techniques précédemment décrites a été ramenée au laboratoire, et élevée individuellement, jusqu'à la mort ou la nymphose sur milieu artificiel. Les taux de mortalité larvaire ont été enregistrés quotidiennement.

La comparaison statistique des 2 traitements a été faite par utilisation du test F de Fisher-Snedecor.

2) Efficacité des Baculovirus

Compte tenu des résultats énoncés au chapitre V, B, la parcelle choisie a été particulièrement surveillée en période de repousse après pâture. En Juillet 1984, cette période a coïncidé avec un vol important d'adultes, comme l'attestent les captures de mâles enregistrées durant les quatre nuits qui ont précédé le traitement (Pl.XXVI, Fig.51). Ces données laissaient présager une attaque prochaine et importante de la parcelle, et l'essai traitement a donc été mis en place.

L'analyse des données recueillies au cours de cet essai montre que le traitement a bien été réalisé en début d'attaque de la parcelle. Un échantillonnage réalisé sur l'ensemble de la prairie le 16/07 donnait une moyenne de 0,28 larve par coup de filet. Le lendemain, au cours d'un échantillonnage pratiqué quelques heures avant le traitement, cette valeur passait à 1,88 larves par coup de filet. Par la suite, les effectifs collectés dans les parcelles témoins et traitées ont confirmé que la décision de traitement avait bien été prise durant la phase d'accroissement des populations (Pl.XXVII, Fig.54). De plus, l'évolution

du nombre d'ooplaques échantillonnées sur les piquets délimitant les parcelles expérimentales, prouve que le dépôt maximal des oeufs s'est produit durant les 5 premiers jours qui ont suivi le traitement (Pl.XXVI, Fig.52).

La mortalité par baculovirose, parmi les effectifs collectés au filet fauchoir, a été enregistrée, dans les quatre parcelles traitées, jusqu'au 11^{ème} jour post-traitement (Pl.XXVII, Fig.53). Passé ce délai, plus aucune larve collectée n'a extériorisé d'infection à Baculovirus.

Au cours de cette période, la mortalité par baculovirose a atteint la valeur maximale de 31,25%.

La polyédrose nucléaire a été responsable de la majorité des cas de mortalité par baculovirose répertoriés (65,4%). La part prise par la granulose seule, n'a cependant pas été négligeable (26,9%).

La mortalité moyenne, enregistrée pendant les dix jours suivants le traitement, a été de 19,11%, alors qu'elle ne dépasse pas la valeur de 4,42% pour les 4 parcelles témoins (Tableau 0). L'apparition de larves atteintes de polyédrose nucléaire chez les effectifs collectés au filet fauchoir, dans les parcelles témoins, dès le 5^{ème} jour après le traitement (Pl.XXVII, Fig.53), suscite un certain nombre de réflexions, développées ultérieurement.

Pour chacun des relevés effectués, la comparaison statistique des données brutes des larves collectées au filet fauchoir, ne fait apparaître aucune différence significative au seuil de 5% entre les parcelles témoins et traitées.

La comparaison de l'évolution des effectifs capturés au filet fauchoir, corrigés de la mortalité par baculovirose, entre les parcelles témoins et traitées (Pl.XXVII, Fig.54), montre cependant que l'augmentation observable pour les parcelles témoins ne s'est pas produite dans les parcelles traitées. Une baisse de ces effectifs corrigés a même été enregistrée, le 2^{ème} jour post-traitement dans les parcelles traitées. A deux reprises, les effectifs "sains" récoltés par coup de filet fauchoir dans les parcelles témoins ont dépassé le chiffre

de 6. Le maximum de larves saines collectées n'était quant à lui que de 4,42 dans les parcelles traitées.

Tableau 0 - Efficacité d'une suspension de NPV et GV (titre en polyèdres de $0,8.10^{13}$ CI/ha) appliquée au champ sur une population de S. frugiperda.

| Traitement | Mortalité larvaire % par baculovirose | Parasitisme % | Mortalité totale % |
|---------------|--|---------------|--------------------|
| SfNPV et SfGV | 19,11 | 13,23 | 32,35 |
| Témoin | 4,42 | 21,68 | 26,10 |

3) Dissémination horizontale des virus

L'hypothèse d'une contamination des parcelles témoins au cours du traitement est à exclure compte tenu de la précision de l'appareil de traitement employé, de l'absence de dérive due au vent, et de l'apparition des cas de mortalité décalés dans le temps. De même, la contamination au laboratoire des larves collectées n'est pas envisageable, eu égard aux conditions drastiques dans lesquelles les élevages et observations ont été réalisés. L'hypothèse d'une contamination des parcelles témoins par transport horizontal des virus à partir des parcelles traitées restait donc à envisager.

L'analyse qualitative des résultats de mortalité, sur les larves récoltées au sol et au filet fauchoir, fournit une preuve du rôle joué par ces larves dans la dissémination du virus et dans son passage d'une parcelle traitée à une parcelle témoin (Pl.XXVIII, Fig.55). Dès le lendemain du traitement, des stades larvaires contaminés ont été

échantillonnés au niveau du sol dans les parcelles témoins. Jusqu'au septième jour après traitement, seuls les trois derniers stades larvaires ont présenté des cas de mortalité par baculovirose dans les échantillonnages des populations des parcelles témoins effectués au sol et au filet fauchoir.

Les migrations horizontales des derniers stades larvaires de S. frugiperda sont facilement observables en prairie guyanaise. Il est fréquent de constater la progression d'un front d'attaque dans une parcelle. De même, des larves ont été observées traversant une route séparant une parcelle ravagée d'une parcelle encore intacte (Lefils comm. pers.).

Ces considérations attestent que les larves virosées, rencontrées dans les parcelles témoins durant les sept premiers jours qui ont suivi le traitement, proviennent des parcelles traitées qui ne leur étaient distantes que de quelques mètres.

A partir du septième jour post-traitement, de jeunes stades larvaires atteints de baculovirose sont échantillonnés à leur tour dans les parcelles témoins. Cette apparition différée de la mortalité chez les jeunes populations larvaires dans les parcelles témoins, peut être attribuée aux virus disséminés par les larves âgées venues libérer leurs particules infectieuses dans ces parcelles.

Ces résultats suggèrent que l'hôte lui-même jouerait un rôle important dans la dissémination des infections à Baculovirus (autodissémination).

De plus, il est probable que, puisque susceptibles de disséminer les deux baculoviroses (Chapitre VII, A), les prédateurs Nabidae et Vespidae aient contribué à l'extension de la zone d'action des deux maladies. Une activité intense de ces prédateurs a en effet été enregistrée au cours de l'expérimentation. De nombreux N. capsiformis ont été prélevés sur l'ensemble des parcelles expérimentales, au cours des relevés effectués au filet fauchoir (Pl. XXVIII, Fig. 56).

4) Relations virus-parasites

L'évolution du taux de parasitisme larvaire dans les parcelles traitées et témoins montre, que durant toute la durée de l'expérimentation les parasites étaient présents en nombre important (Pl.XXIX, Fig.S7).

Le parasite Cotesia marginiventris (Cresson) (Hyménoptère: Braconidae) était le parasite le plus représenté parmi les deux espèces d'hyménoptères Braconidae s'attaquant aux larves de S. frugiperda.

Les parcelles traitées ont été moins touchées que les témoins par ce parasitisme (Tableau 0). Ce phénomène a eu pour conséquence de faire baisser le taux de mortalité totale dans les parcelles traitées.

Compte tenu des résultats énoncés au chapitre V, B, l'étude de la présence de la polyédrose nucléaire a été entreprise chez les larves mortes de parasitisme. Pour ce faire les larves ont été analysées dès la sortie du parasite. Il est intéressant de constater que la sortie du parasite n'entraîne pas toujours la mort immédiate des larves, mais que celle-ci peut intervenir dans un délai 24 à 48 heures.

Seule la polyédrose nucléaire a été étudiée compte tenu de la sortie précoce des parasites considérés, la détection de la granulose étant de ce fait rendue très difficile. De plus, les larves de S. frugiperda présentaient très peu de tissus adipeux au moment de la sortie des parasites, ce qui rendait la multiplicité des diagnostics impossible.

Cette étude a fourni des résultats surprenants: de nombreuses larves parasitées présentaient de forts taux d'infections à polyédrose nucléaire, facilement diagnosticables malgré le peu de matériel utilisé pour les frottis. La comparaison des taux de présence de la polyédrose nucléaire entre les larves parasitées ou non, fait apparaître que les larves parasitées présentent plus d'infections à NPV que les autres (Pl.XXIX, Fig.S8).

5) Discussion

La faiblesse des taux de mortalité observés s'explique en partie par l'action différée des Baculovirus sur les populations larvaires de la noctuelle. Toute comparaison témoin-traitement antérieure au temps létal des maladies virales, devrait en effet, contrairement à un insecticide chimique, tenir compte des larves qui sont condamnées à mourir des suites du traitement.

Le réel impact de l'application des deux Baculovirus aurait donc du être observé après que la mortalité par polyédrose nucléaire se soit produite, soit au bout d'une période de 5 à 7 jours. Richter et Fuxa (1984) observent par exemple des réductions significatives dans les populations d'Anticarsia gemmatalis (Lépidoptère: Noctuidae) du 7^{ème} jour au 11^{ème} jour après l'application du AgNPV.

Or, au cours de l'expérience réalisée, le dépôt des pontes et l'attaque de la noctuelle se sont poursuivis après le traitement. L'apport de ces nouvelles populations a été un obstacle à l'observation de différences significatives entre parcelles témoins et traitées.

La discussion concernant l'efficacité de ces germes dans la régulation des populations du ravageur est rendue difficile par l'absence de données bibliographiques concernant l'utilisation des Baculovirus dans la lutte contre S. frugiperda dans le biotope prairies graminéennes.

Sur maïs, l'utilisation de la polyédrose nucléaire de S. frugiperda donne de bons résultats (Hamm et Young, 1971; Young et Hamm, 1966). Sur cette même culture, Hamm et Hare (1982) obtiennent, à la dose de $1,5 \cdot 10^{12}$ CI/ha, des taux de mortalité par polyédrose nucléaire, enregistrés 3 jours après application, de 32,7 et 38,9%. Ces mêmes auteurs montrent que le fractionnement d'une même dose, en deux ou trois applications, accroît l'efficacité du virus. Ils suggèrent alors, que l'augmentation de la mortalité est due à une meilleure couverture du feuillage, obtenue par une telle pratique.

La faiblesse des taux de mortalité observés en prairie pourrait aussi, dans ce type de biotope très dense et très fermé, être expliquée par une couverture insuffisante de la végétation par le virus.

Mais, comme cela a déjà été mentionné précédemment, l'attaque des parcelles s'est poursuivie durant les premiers jours post-traitement. De nombreuses larves de premiers stades ont alors été échantillonnées. Il est possible de penser que ces larves ont pu être prélevées avant de pouvoir établir un contact létal avec les virus, ce qui aurait eu pour conséquence de minimiser le taux de mortalité établi à partir des élevages du laboratoire, par rapport au taux de mortalité réel des parcelles traitées.

En outre, la perte d'activité très rapide des virus dans le milieu guyanais (Chapitre VI, C) pourrait aussi être une justification de la faiblesse des valeurs de mortalité obtenues: les virus appliqués en début de phase d'accroissement des effectifs larvaires étant dans cette hypothèse inactifs sur les populations déposées ultérieurement. Une application en fin de période d'accroissement des populations larvaires aurait semble-t-il été préférable pour toucher l'ensemble des chenilles présentes dans le milieu.

L'observation de taux de parasitisme plus faible dans les parcelles traitées, pourrait être due aux différences de peuplements, et par conséquent de dégâts, enregistrés entre ces parcelles et les parcelles témoins. En effet, Teakle et al. (1985) signalent, à la suite d'un traitement effectué à l'aide d'un NPV sur Heliiothis armigera, des taux de parasitisme plus élevés dans les parcelles non traitées. De plus, Rohlf et Mack (1984) montrent que le taux de parasitisme par l'espèce Ophion flavidus (Hyménoptère: Ichneumonidae) augmente lorsque la densité de l'hôte augmente. Loke et al. (1983) signalent que les dégâts occasionnés à la plante par S. frugiperda constituent un facteur d'attractivité du parasite C. marginiventris.

La présence plus importante de la polyédrose nucléaire dans les larves parasitées suggère un certain nombre de remarques.

Il est tout d'abord possible d'envisager que les parasites, présents en nombre important sur le site expérimental, aient contribué à

la distribution du germe. Le phénomène de contamination par oviposition a déjà été démontré pour l'espèce C. marginiventris, chez S. frugiperda (Hamm et al., 1985).

Les relations pathogènes-parasites sont généralement de type concurrentiel (Hamm et al., 1983; Wallner et al., 1983). La présence d'un parasite peut sensibiliser les larves à l'action d'autres facteurs létaux. Fix et Plapp (1983) montrent que la présence du parasite Cardiochiles nigripes (Hyménoptère: Braconidae) augmente la sensibilité de la noctuelle Heliothis virescens (Lépidoptère: Noctuidae) aux insecticides chimiques. Il est possible que cet état d'affaiblissement dans lequel se trouve la larve parasitée puisse aussi être favorable à l'établissement d'infections virales. Il est donc permis de penser, que la présence d'un parasite ait pu se traduire par une diminution de la dose infectante nécessaire au développement de la polyédrose nucléaire.

Enfin, il faut signaler que le comportement des larves parasitées de lépidoptères diffère souvent de celui des larves saines. Ces larves sont généralement plus mobiles, et par conséquent offrent aux virus une possibilité plus grande de rencontre avec son hôte. Il est donc possible que le traitement ait eu une efficacité différente entre les deux populations de larves parasitées et non parasitées.

L'expérimentation entreprise, ne permet toutefois pas de choisir, parmi les trois hypothèses précédemment formulées, celle qui expliquerait l'observation de la présence plus importante d'infections à NPV dans les larves parasitées.

C. PERSISTANCE DES VIRUS DANS L'ENVIRONNEMENT

L'étude de la persistance des deux Baculovirus dans l'environnement, a été entreprise afin d'expliquer les faibles taux de mortalité enregistrés lors de l'application des suspensions virales au champ (Chapitre VI, B).

1) Protocole expérimental

L'expérience entreprise a consisté en un traitement effectué au champ, suivi d'une récolte du feuillage, qui par la suite, a été fourni à des larves élevées au laboratoire, afin d'estimer l'effet insecticide du traitement.

Le feuillage a été échantillonné à deux niveaux différents dans la végétation dans le but de déceler une éventuelle sédimentation des virus dans le couvert végétal due à la pluie. Un tel déplacement se traduirait par une baisse d'activité insecticide du feuillage de surface qui s'ajouterait à celle due à l'inactivation du virus. Le double prélèvement pratiqué avait donc pour but, en cas de forte pluviométrie, de rendre possible la distinction entre les baisses d'activité dues au lessivage ou à l'inactivation des virus appliqués.

La poudre INRA 190-83 (Chapitre VI, B), a été employée, en dilution dans l'eau distillée, à la dose de $5 \cdot 10^{13}$ polyèdres/ha. Le titre en granules de cette suspension n'a pas été déterminé. Un mouillant (Adhésol: Procida) a été ajouté à la suspension virale, à la dose de 40 ml/hl. Le traitement a été réalisé à l'aide d'un appareil ULV manuel dont le débit a été réglé à 175 l/ha.

Un échantillonnage des populations larvaires présentes sur le site expérimental, a été réalisé afin de s'assurer de l'absence du ravageur.

Une surface en herbe homogène, de $10 \times 10 \text{ m}^2$, a été traitée en effectuant dix passages successifs couvrant chacun une largeur de 1 m.

La hauteur moyenne de l'herbe était, au moment de l'application de l'insecticide biologique, de 31 cm. Un chemin de 20 cm a été aménagé dans chacune des dix bandes, afin de pouvoir assurer le traitement et les différents relevés, sans perturber l'ensemble de la parcelle. L'heure du traitement a été fixée à 16H le 18/02/86.

L'échantillonnage du feuillage a été pratiqué à 7 reprises 0, 18, 42, 66, 90, 138, et 210 heures après le traitement. 80 feuilles de surface, et 80 feuilles situées à l'intérieur du couvert végétal, à 15 cm de la surface du sol, ont été prélevées au cours de chaque échantillonnage. Les feuilles ont été coupées à l'aide de pinces et immédiatement disposées, par paire, dans les boîtes d'élevage (4 x 1,9 x 1,4 cm³). Chaque couple de feuilles a été prélevé avec une pince différente, préalablement stérilisée dans une solution d'eau de javel, puis rincée à l'alcool à 90°.

Les deux bandes de 1 x 10 m² précédemment définies, et situées en bordure de la parcelle expérimentale, ont été exclues de l'échantillonnage, ainsi que le premier et le dernier mètre de chaque bande. 10 feuilles de surface et 10 feuilles de l'intérieur de la végétation ont été prélevées au hasard par bande. Afin d'éviter tout transfert du virus à l'intérieur de la végétation, dû aux différentes manipulations, chacune des bandes de 1 x 10 m² échantillonnée, a été séparée, longitudinalement, en deux. Les prélèvements de surface ont été réalisés dans la partie droite, les autres dans la partie gauche.

Quatre-vingt feuilles témoins ont été, au cours de chaque prélèvement, collectées dans la même prairie, en dehors de la parcelle traitée. Les 120 boîtes d'élevage, contenant les 3 fois 40 couples de feuilles échantillonnées ont été stockées à l'abri de la chaleur afin d'éviter l'inactivation des virus au cours du transport. De retour au laboratoire, une larve de 2^{ème} stade (48 heures de développement), élevée jusque là sur milieu artificiel, a été déposée par boîte. Les larves ont été laissées en contact 24 heures avec le feuillage, puis élevées, toujours en boîte individuelle, sur milieu artificiel.

L'observation des cas de mortalité par baculovirose a été enregistrée, à la suite d'un premier diagnostic externe, confirmé par l'examen des frottis des larves mortes.

Toutes les larves ont été élevées jusqu'à leur mort, ou leur nymphose. Les nymphes ont été stockées au congélateur dès leur formation, en vue d'une détermination ultérieure de la présence des deux virus à des doses sublétales. Cette détermination a été effectuée selon la technique E.L.I.S.A. décrite au chapitre III, H.

Les données météorologiques ont été fournies par la station de Cayenne-Suzini, distante du lieu d'expérimentation de 400 m. Les précipitations, et températures sous abri, qui y ont été enregistrées, ont donc été exactement celles de la parcelle expérimentale.

2) Résultats

a) Mortalité

Bien que les taux de mortalité initiale aient été faibles, environ 20%, un certain nombre d'observations intéressantes peuvent être tirées de cet essai.

Au cours du premier relevé, réalisé 18 heures seulement après le traitement, l'activité des virus sur le feuillage a chuté de 75% (Pl.XXX, Fig.59). Plus aucune activité insecticide n'a été enregistrée à partir du deuxième relevé, effectué 42 heures après le traitement.

L'analyse séparée de la mortalité provoquée par les deux viroses montre, que les activités de celles-ci évoluent de façon rigoureusement identique (Pl.XXX, Fig.60). La réduction de l'activité de la granulose et de la polyédrose nucléaire est en effet, dans les deux cas, de 75% en 18 heures.

Cette dernière constatation suggère que la décroissance de l'activité des deux viroses ne dépend pas de la valeur initiale de la

mortalité. Ce résultat permet d'obtenir, par extrapolation, une estimation de la période de temps nécessaire pour inactiver complètement des virus qui auraient provoqué une mortalité de 100% dès leur application. Ainsi, si la suspension utilisée avait provoqué une mortalité de 100% dès son application, son inactivation totale se serait produite en moins de 5 jours. Cette donnée n'est qu'une estimation grossière du temps d'inactivation. Le calcul réel de celui-ci nécessiterait par exemple, la prise en compte des durées d'ensoleillement. Il n'y a en effet aucune raison de penser que la baisse d'activité soit linéaire au cours d'une période de 24 heures. Ainsi, si dans l'essai entrepris la chute enregistrée pendant les 18 premières heures a été de 75%, il faut remarquer qu'une bonne partie de ce temps s'est déroulé durant la nuit (11 heures). Rien ne prouve que la baisse d'activité enregistrée au cours des 18 heures suivantes eût été la même (la qualité de l'ensoleillement étant variable, par exemple, au cours de la journée).

La perte d'activité, très importante, enregistrée pendant les 18 premières heures post-traitement, peut sans aucun doute, être mise en relation avec les conditions météorologiques particulières, qui ont caractérisé cette période. En effet, les journées du 18 et 19 ont coïncidé avec une période d'extrême beau temps.

L'absence totale de pluie, durant ces deux jours, prouve que la baisse d'activité enregistrée sur le feuillage récolté, est due à l'inactivation du virus, et non à sa migration verticale dans le couvert végétal (Pl.XXXI, Fig.61). Ce résultat est confirmé par l'absence d'apparition d'une mortalité différée chez les larves nourries avec le feuillage prélevé à l'intérieur de la végétation.

La température, très élevée durant les deux premiers jours qui ont suivi le traitement, figure parmi les causes envisageables de l'inactivation des virus. Celle-ci n'est en effet pas descendue en dessous de 25°C les 18, 19 et 20 février (Pl.XXXI, Fig.62). Le lendemain et surlendemain du traitement, les températures maximales ont dépassé les 29°C. Il est fort probable, à la lumière des connaissances sur

l'inactivation des virus par la chaleur (Chapitre I, B), que de telles conditions de température aient été néfastes aux germes épanchus. Cette constatation est renforcée par le fait que les températures prises en compte ici, ont été enregistrées sous abri. Or l'absence de pluie s'est traduite par une insolation importante (Pl.XXXI, Fig.63), par conséquent les températures enregistrées au niveau du feuillage auraient été considérablement plus élevées que celles mesurées sous abri.

En plus de son effet sur l'augmentation de la température au niveau du feuillage, une forte insolation se traduit par une augmentation du rayonnement UV atteignant le feuillage.

b) Prévalence

Si la prise en compte des seuls cas de mortalité est d'un intérêt important pour estimer l'efficacité d'un traitement, cette donnée n'est pas suffisante en écopathologie. L'effet réel d'un traitement ne peut être compris qu'à la connaissance de la prévalence de la maladie postérieurement à son application.

L'analyse sérologique entreprise sur les nymphes, a permis d'approcher la valeur de la prévalence des deux baculoviroses dans les populations larvaires traitées. La présence de virus à des doses sublétales a été décelée chez les nymphes des larves mises en élevage sur le feuillage récolté 0 heure et 18 heures après traitement (Tableau P).

Les résultats obtenus montrent que la présence de virus peut être enregistrée chez des animaux ayant échappé à la mortalité larvaire. Ce résultat est de première importance dans la compréhension des phénomènes écopathologiques. Au cours de l'essai entrepris, jusqu'à 10% des larves ont développé une infection à Baculovirus sans que celle-ci puisse en provoquer la mort.

La prévalence des infections à Baculovirus a donc été de 31,22%, chez les larves nourries avec le feuillage traité, récolté immédiatement après le traitement (Pl.XXXII, Fig.64). Cette valeur passe à 13,45%, 18 heures après le traitement. Les courbes de prévalence et de mortalité

chutent de la même façon au cours de cette période de 18 heures qui suit le traitement. 48 heures après l'application, la présence des virus n'est plus décelable chez les larves alimentées sur le feuillage traité.

Tableau P - Présence de virus (GV et NPV), déterminée selon la technique E.L.I.S.A., dans les nymphes issues des larves mises en élevage, au cours des trois premiers relevés de feuillage réalisés dans la parcelle traitée (feuillage de surface) et dans la parcelle témoin.

| Parcelle | Temps post-traitement en heures | | |
|----------|---------------------------------|------|----|
| | 0 | 18 | 42 |
| | Réaction sérologique positive % | | |
| Traitée | 10,71 | 8,33 | 0 |
| Témoin | 0 | 0 | 0 |

3) Discussion

La faible activité insecticide initiale de la suspension virale appliquée est difficile à expliquer. En effet, l'absence de virulence de la préparation utilisée peut être invoquée, de la même façon qu'il est possible d'envisager que le traitement n'ait pas touché l'ensemble du feuillage, et par conséquent qu'une partie des larves aient été nourries sur un feuillage sain. Enfin il est probable que le temps de contact de 24 heures entre le feuillage et les larves de 2^{ème} stade, n'ait pas été suffisant pour que celles-ci ingèrent une dose létale. Cette faible

activité initiale des virus a été un obstacle à l'étude de leur persistance dans le milieu.

La chute d'activité observée avec les virus de S. frugiperda n'est pas sans rappeler les observations de Yearian et Young (1974) sur le NPV d'Heliothis appliqué sur la partie haute du feuillage en culture de Coton aux Etats-Unis. Jacques (1967) observe pour une mortalité initiale de 68% provoquée par le NPV de T. ni (Lépidoptère: Noctuidae) sur choux, que la valeur du pourcentage de l'activité originale du virus tombe à 10% au bout de 24 heures. D'une façon générale la perte maximale d'activité est enregistrée dans les 24 heures qui suivent le traitement (Allen, 1968; Bullock, 1967; Young et Yearian, 1974).

A la vue des différentes données météorologiques précédemment évoquées, il s'avère que la période d'application des virus a correspondu avec des conditions particulièrement préjudiciables à leur persistance dans le milieu. Néanmoins ces conditions climatiques extrêmes sont fréquemment rencontrées en Guyane française. Ces résultats montrent combien l'application des virus entomopathogènes est rendue difficile dans ce type de milieu. Ici, plus qu'ailleurs, la nécessité de protection des virus lors de leur application est essentielle à la réussite d'un traitement.

L'absence de relevé de cas de mortalité à l'intérieur du couvert végétal le jour même du traitement, confirme que la méthode employée n'a atteint que la partie supérieure du feuillage. La totalité de la dose appliquée a donc été exposée directement aux agents inhibiteurs du milieu. Ce résultat montre que cette technique de traitement n'est pas adaptée aux conditions guyanaises. Il faut envisager comme cela a déjà été mentionné au chapitre VI, A, un traitement atteignant la partie du couvert végétal moins exposée aux rayonnements et aux conditions de températures extrêmes.

La mise en évidence sérologique de virus à des doses sublétales confirme les observations réalisées par différents auteurs. Chauffaux-Arnold (1983), mentionne en effet, chez Spodoptera littoralis, la présence de polyèdres dans l'hémolymphe de larves ayant échappé à la mort à la suite d'une infection par NPV. De même, Biever et Wilkinson

(1978) évoquent la possibilité de "guérison" de larves de Pieris rapae atteintes de GV.

L'ensemble des considérations qui viennent d'être évoquées montrent que le traitement par entomovirus se heurte à un problème crucial en prairie guyanaise à D. swazilandensis:

- l'application des virus doit être réalisée de façon que les larves l'ingèrent. Or les jeunes stades larvaires, préférentiellement visés par le traitement, se nourrissent sur les parties hautes du feuillage. En conséquence, tout traitement, pour être efficace, devrait donc viser la strate supérieure du feuillage.

- les conditions climatiques guyanaises sont un obstacle à l'efficacité des virus. Ceux-ci peuvent être en effet, soit lessivés par de fortes averses, soit, en l'absence de celles-ci, être inactivés très rapidement. Dans les deux cas, la strate supérieure du feuillage, visée par le traitement, ne présentera plus d'activité insecticide.

Ces considérations, alliées à l'observation d'une action régulatrice naturelle des deux Baculovirus (Chapitre V, B), suggèrent que leur utilisation doit être envisagée autrement que sous la forme de traitements ponctuels des populations larvaires présentes.

Leur introduction sur des parcelles où ces virus sont peu représentés, semble une voie préventive plus prometteuse, d'autant que l'attaque des prairies par S. frugiperda revêt fréquemment un caractère bénin.

CHAPITRE VII

ETUDE DE L'INTERACTION FAUNE AUXILIAIRE-PATHOGENES: CAS PARTICULIER DES PREDATEURS

| | |
|---|------------|
| A. ETUDE DU POUVOIR DE TRANSMISSION DES DEUX BACULOVIRUS PAR LES PREDATEURS <u>NABIS CAPSIFORMIS</u> GERMAR (HETEROPTERE: <u>NABIDAE</u>) ET <u>POLISTES SP.</u> (HYMENOPTERE: <u>VESPIDAE</u>)..... | 133 |
| 1) <u>Nabis capsiformis</u> Germar..... | 133 |
| a) Généralités..... | 133 |
| b) Mise en évidence du rôle prédateur de l'insecte..... | 134 |
| c) Transmission des germes..... | 135 |
| * Granulose..... | 135 |
| * Polyédrose nucléaire..... | 136 |
| 2) <u>Polistes sp.</u> | 137 |
| 3) Discussion..... | 138 |
| B. ETUDE DU POUVOIR DE DISSEMINATION DES VIRUS PAR LES <u>VESPIDAE</u> DU GENRE <u>POLISTES</u>..... | 139 |
| 1) Comportement favorisant la dissémination des Baculovirus..... | 139 |
| 2) Répartition spatiale du prédateur <u>Polistes sp.</u> | 140 |
| 3) Discussion..... | 142 |

ETUDE DES INTERACTIONS FAUNE AUXILIAIRE-PATHOGENES:
CAS PARTICULIER DES PREDATEURS

A. ETUDE DU POUVOIR DE TRANSMISSION DES DEUX BACULOVIRUS PAR LES
PREDATEURS NABIS CAPSIFORMIS GERMAR (HETEROPTERE: NABIDAE) ET POLISTES
SP. (HYMENOPTERE: VESPIDAE).

La transmission des Baculovirus par les prédateurs peut s'effectuer de deux façons différentes. Elle peut être réalisée par l'intermédiaire des fèces, après transit intestinal, ou encore par simple transport mécanique sur une quelconque partie de l'insecte, après que celui-ci soit entré en contact avec le virus. S'il est reconnu que ce dernier mode de transmission peut assurer l'initiation d'épizooties (Biever et al., 1982), la présence des corps d'inclusion est souvent très difficile à mettre en évidence sur le tégument des insectes. En conséquence, seule la transmission des deux viroses par l'intermédiaire des fèces des prédateurs a été envisagée.

1) Nabis capsiformis Germar

a) Généralités

La prédation de larves de lépidoptères par les hétéroptères est un phénomène fréquent (Bass et Shepard, 1974; Lawrence et Watson, 1979; Marston et al., 1978, 1979; Mukerji et Leroux, 1969). En ce qui concerne S. frugiperda, Hofmaster et Greenwood (1949) observent, en Virginie, la prédation des larves par l'espèce Nabis fesus (Hétéroptère: Nabidae). La prédation par le pentatomide Podisus

maculiventris est décrite depuis le début du siècle (Walton et Lunginbill 1917). Hormochan et al. (1976) montrent que l'espèce N. capsiformis s'alimente des larves de la noctuelle Heliothis zea.

b) Mise en évidence du rôle prédateur de l'insecte

L'hétéroptère Nabis capsiformis est un prédateur "généraliste" pouvant, entre autres insectes, s'attaquer aux larves de lépidoptères (Carayon, comm. pers.).

La forte présence de cet insecte, enregistrée au cours de pullulations de S. frugiperda sur le site de la ferme de Suzini, suggérait qu'il était capable de s'alimenter des larves de la noctuelle.

La confirmation de la prédation de S. frugiperda par N. capsiformis a été obtenue au laboratoire. L'ensemble des stades larvaires et adultes du prédateur s'est alimenté sans difficulté sur les oeufs et les larves de S. frugiperda (Pl. XXXIII, Fig. 65, 66 et 67). Gravena et Sterling (1983), mentionnaient déjà cette espèce comme prédatrice des oeufs de la noctuelle Alabama argillacea (Lépidoptère: Noctuidae). La totalité du cycle du prédateur a été obtenue en alimentant ces insectes uniquement à l'aide des larves de S. frugiperda.

Afin d'estimer la consommation de ces prédateurs, un essai a été réalisé avec trois couples de Nabidae venant d'être capturés. Des larves de fin de second stade (90 heures de développement à 25±1°C) leur ont été fournies en excès à trois reprises sur une durée de 72 heures.

Les résultats de cet essai montrent que les adultes de N. capsiformis sont capables de consommer, de façon continue, 1 à 2 larves de fin de deuxième stade par jour (Tableau Q). Ces résultats sont en accord avec les consommations enregistrées pour les espèces Nabis americanoferus Carayon, et Nabis roseipennis Reuter (Hétéroptères: Nabidae) se nourrissant de larves de la noctuelle Plathypena scabra (Lépidoptère: Noctuidae) (Sloderbeck et Yeargan, 1983). Il est probable que, comme dans le cas de l'espèce N. americanoferus, les femelles généralement plus grosses aient une consommation plus élevée que cette moyenne, établie sur les deux sexes simultanément (Propp, 1982).

Tableau Q - Consommation de larves de fin de second stade de S. frugiperda par les adultes de N. capsiformis

| Temps (en heures) | Nombre de larves consommées | Nombre de <u>Nabidae</u> | Nombre moyen de larves consommées/adulte |
|----------------------|--------------------------------|-----------------------------|---|
| 24 | 9 | 6 | 1,5 |
| 24 | 8 | 5 | 1,6 |
| 24 | 7 | 5 | 1,4 |

c) Transmission des germes

L'étude de la transmission des deux Baculovirus dans les fèces de N. capsiformis a été étudiée après alimentation des prédateurs sur des larves infectées.

* Granulose

En ce qui concerne la granulose, des larves de 5^{ème} stade fortement infectées ont été données à des Nabidae maintenus en groupe. Malgré la taille des larves, les punaises ont réussi à s'en nourrir sans problème. L'apathie des larves granulosées rend possible une prédation qui ne le serait pas avec des larves saines. En effet, ces dernières se défendent très activement vis à vis des attaques du prédateur, et des punaises dévorées ont été fréquemment retrouvées lors des essais de consommation effectués avec des larves des deux derniers stades.

Les fèces, très liquides, ont été récupérées, immédiatement après

leur émission, grâce à des morceaux de papier filtre. Ces derniers ont été disposés dans une solution de tampon phosphate (pH 7,4). Les corps d'inclusion absorbés sur les papiers ont été dispersés dans la solution par agitation.

Les essais d'infectivité des suspensions de fèces de Nabis capsiformis alimentés sur larves infectées, ont été réalisés par trempage de pontes de S. frugiperda. 96% des larves écloses et mises en élevage sont mortes de granulose, aucune mortalité n'étant obtenue chez les témoins. La courbe de mortalité cumulée au cours du temps, est typique de doses faibles de ce type d'infection, les cas de mortalité enregistrés s'échelonnant entre les 23^{ème} et 34^{ème} jours post éclosion (Pl.XXXIV, Fig.68).

* Polyédrose nucléaire

L'observation au microscope des excréta de Nabidae alimentés sur des larves infectées de polyédrose nucléaire, montre que ceux-ci contiennent des quantités importantes de corps d'inclusion viraux.

Aucun symptôme d'infection n'a pu être observé chez les nabides, adultes ou larves, alimentés sur larves virosées. Les coupes histologiques pratiquées sur ces mêmes insectes montrent que les polyèdres restent localisés au niveau de la lumière intestinale, où ils semblent peu dégradés.

L'infectivité des corps d'inclusion polyédriques a été démontrée par test biologique. Des larves de S. frugiperda infectées au stade oeuf par trempage dans une suspension virale (La Minière n° 190-83), ont été fournies à des adultes de Nabis capsiformis, 6 jours après leur éclosion. Au bout du 8^{ème} jour post éclosion, toutes les larves qui n'avaient pas été données aux punaises sont mortes avec des symptômes évidents de polyédrose nucléaire. Les excréta des Nabidae, récupérés comme décrit précédemment, ont été utilisés pour le traitement de pontes par trempage. Une deuxième suspension de traitement a été préparée directement à partir des cadavres de S. frugiperda. Les deux suspensions, ramenées au même titre, après comptage en cellule de Malassez des corps d'inclusion, ont été employées afin de comparer la

virulence des préparations obtenues à partir des excréta et des cadavres.

Dans les deux cas, deux pics de mortalité ont été obtenus (Pl.XXXV, Fig.69). Le premier de ces pics correspond aux cas de mortalité par polyédrose nucléaire. Le second pic correspond à une deuxième série de mortalité due à la granulose. Le développement de cette infection, bien qu'invisible au cours de la multiplication effectuée sur le lot de larves de S. frugiperda, s'explique par la présence de granules dans la poudre acétonique ayant servi au traitement des pontes. Bien que mortes d'une polyédrose typique avant huit jours, les larves avaient aussi développé une granulose.

La comparaison des taux de mortalité produits par les deux suspensions obtenues à partir des excréta et cadavres, semble cependant montrer que la virulence de la polyédrose soit diminuée plus de deux fois après transit dans l'intestin du prédateur (Pl.XXXV, Fig.70). La suspension provenant des cadavres provoque en effet une mortalité de 55,1% contre 19,56% pour celle provenant des excréta de N. capsiformis.

2) Polistes sp.

La mise en évidence des corps d'inclusion viraux de la polyédrose nucléaire dans les fèces des guêpes du genre Polistes a été réalisée à partir d'excréta récupérés sous leur nid.

La vérification de l'infectivité de ces corps d'inclusion a été obtenue par un essai biologique qualitatif. Le traitement a été réalisé par trempage des pontes. Une forte mortalité, survenant au cours des dix premiers jours, a été observée chez les larves traitées. La vérification des causes de mortalité par frottis et diagnostic au microscope photonique a permis de déceler de nombreux corps d'inclusion polyédriques viraux.

3) Discussion

Les essais entrepris ont permis de conclure au maintien de l'infectivité de la polyédrose nucléaire après passage dans l'intestin des polistes ou de leurs larves.

De la même façon les virus de la granulose et la polyédrose nucléaire conservent leur infectivité après passage dans l'intestin de N. capsiformis.

De nombreux auteurs signalent la présence de corps d'inclusion polyédriques non altérés, et par conséquent encore virulents, dans les excréta des hétéroptères prédateurs. Il semble que le pH intestinal de ces prédateurs ne soit pas assez alcalin pour dissoudre ces corps d'inclusion, et que ceux-ci peuvent transiter dans l'intestin sans subir de lyse (Andrade et Habib, 1982; Raharizonina, 1979).

La comparaison de deux suspensions virales, l'une provenant directement de cadavres de larves de S. frugiperda et l'autre d'excréta de Nabis capsiformis alimentés sur des larves infectées fait cependant apparaître des différences d'activité entre les deux options envisagées. Le nombre des corps d'inclusion qui présentaient un aspect identique, étant le même dans les deux suspensions, la baisse d'activité enregistrée pourrait être due à l'inactivation des virions libres contenus dans la suspension préparée à partir des excréta des nabides. La quantification du pouvoir infectieux des deux suspensions n'a en effet été réalisée que sur les corps d'inclusion, sans prendre en compte les virions libres non décelables au microscope optique.

B. ETUDE DU POUVOIR DE DISSEMINATION DES VIRUS PAR LES VESPIDAE DU GENRE POLISTES

Une activité prédatrice intense des guêpes a été notée, tout au long des diverses études entreprises sur le terrain. En cas de forte population larvaire, de nombreux polistes ont été observés volant vers leur nid, une larve entre leurs mandibules.

1) Comportement favorisant la dissémination des baculovirus

La recherche des proies est très active, aussi bien à l'extérieur qu'à l'intérieur de la végétation. La prédation des larves de S. frugiperda par les polistes suit une séquence comportementale bien précise, que l'élevage au laboratoire a permis de confirmer. La première étape de cette séquence est le repérage de la chenille (Pl.XXXVI, Fig.71). L'attaque proprement dite a ensuite lieu. Les larves de dernier stade se défendent activement face au prédateur (Pl.XXXVI, Fig.72), mais les guêpes parviennent facilement à les tuer à l'aide de leurs mandibules en les immobilisant entre leurs pattes (Pl.XXXVI, Fig.73). La dernière étape de cette séquence comportementale diffère selon le stade attaqué. D'une façon générale, les premiers stades larvaires sont ramenés entiers au nid, alors que les gros stades larvaires sont tout d'abord débarrassés de leurs intestins, puis roulés en boule avant d'être finalement rapportés au nid (Pl.XXXVI, Fig.74). Il est important de signaler que l'ouverture des larves n'a généralement pas lieu sur le site de capture lui même, mais que les guêpes recherchent bien souvent un autre site, plus propice au dépouillement de leurs proies. Dans le cas de proies virosées, le dépôt des intestins toujours très infestés, à des distances parfois importantes du lieu de capture, participe de façon importante à la dissémination des deux baculovirus. De plus, l'ouverture d'une larve virosée se traduit par la souillure des pattes et des mandibules du prédateur qui est ainsi susceptible, lors de ses déplacements ultérieurs, de disséminer les germes qu'il transporte passivement.

2) Répartition spatiale du prédateur Polistes sp.

Le rôle assuré par ce prédateur dans la dissémination des virus est certainement accentué par les mouvements incessants qu'il effectue entre les parcelles de l'exploitation et son nid. Cependant aucune donnée précise n'existait concernant les déplacements effectués par les polistes, et par conséquent sur leurs potentialités de dissémination des Baculovirus.

Une étude a donc été entreprise, afin de vérifier que leur territoire de chasse n'est pas limité à une seule parcelle, hypothèse selon laquelle leur pouvoir de dissémination des entomovirus serait fortement limité.

Le protocole expérimental retenu a consisté en un marquage, pratiqué sur le dessus de l'abdomen, des polistes sur leur territoire de chasse. Des bombes de peinture de couleurs différentes ont été pour ce faire utilisées. Les guêpes attrapées au filet ont été saisies à l'aide de gants, puis leur abdomen a été passé dans un trou pratiqué dans une feuille de papier cartonné. De cette façon le marquage n'a touché que la zone visée, sans porter préjudice à la vie de l'insecte. 6 couleurs différentes ont été utilisées pour chacune des 6 parcelles où ont eu lieu les observations.

Deux échantillonnages ont été réalisés au filet fauchoir, afin de déterminer le niveau des populations larvaires présentes sur les 6 parcelles étudiées. Les résultats de ces échantillonnages (Tableau A) montrent que l'expérience a été menée en période de très faible population larvaire. De plus les 6 parcelles avaient été choisies en fonction de leur répartition spatiale et de leur homogénéité sur le plan de la couverture végétale, la hauteur de l'herbe étant comprise entre 30 et 40 cm. Aucune parcelle ne présentait donc a priori d'attractivité supérieure par rapport à une autre vis à vis des polistes.

Tableau A - Résultats des deux échantillonnages effectués au filet fauchoir dans les six parcelles où les marquages des guêpes prédatrices ont été réalisés.

| | Parcelle | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|-----------------|----------------------|---|---|---|---|---|---|
| Relevé du 18/04 | <u>S. frugiperda</u> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | autres larves | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| Relevé du 25/04 | <u>S. frugiperda</u> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | autres larves | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Dix guêpes ont été capturées, et marquées par parcelle au cours de neufs observations réalisées sur une période de 16 jours. L'étude du pouvoir de dispersion des guêpes a été basée sur la recapture des individus colorés lors des observations antérieures.

Sur les 32 guêpes recapturées une seule fois au cours de l'ensemble des relevés, 14 l'ont été dans la parcelle où elles avaient été marquées (soit 43,75%). 13 l'ont été dans une parcelle différente (40,62%) (Pl.XXXVII, Fig.75).

La répartition des recaptures des guêpes marquées en fonction de 4 groupes de parcelles, établis selon la distance les séparant, montre que les guêpes sont plus fréquemment rencontrées sur les parcelles du groupe I. Ce groupe comprend les parcelles où le marquage a été effectué, et celles qui leurs sont voisines. La dispersion à des distances supérieures à 400 m (groupe III et IV) reste limitée (moins de 20% des recaptures) (Pl.XXXVIII, Fig.76).

Cependant, la recapture d'individus à plus de 600 m de la zone de marquage, montre que le pouvoir de dispersion de ces animaux est au moins égal à cette distance. Dans le cas qui nous intéresse, un même individu est donc susceptible de pouvoir aller chercher ses proies, sur l'ensemble des parcelles de l'exploitation.

Parallèlement à ces captures, l'observation des nids situés sur les bâtiments de l'exploitation a été réalisée, et a fourni des résultats intéressants. 5 des 6 couleurs utilisées, ont été retrouvées au niveau des bâtiments de la ferme, montrant que les prédateurs rayonnent sur l'ensemble de l'exploitation à partir d'une zone précise. L'observation, sur le même nid, de guêpes ayant été marquées dans les deux parcelles les plus éloignées les unes des autres, confirme la possibilité de dispersion de ces prédateurs sur l'ensemble de l'exploitation, à partir d'un même point de départ.

3) Discussion

Les prédateurs du genre Polistes sont, d'une façon générale, très actifs sur les populations larvaires de ravageurs lépidoptères. Kirkton (1971) mentionne pour les colonies les plus importantes d'une espèce de Polistes d'Arkansas, que ces insectes sont capables de rapporter de 10 à 13 larves ou morceaux de larves de S. frugiperda par heure. Gould et Jeanne (1984) obtiennent des réductions significatives du nombre de larves de Pieris rapae (Lépidoptère: Pieridae) en culture de choux après introduction du prédateur Polistes fuscatus (Hyménoptère: Vespidae).

Dès 1959 Smirnoff mettait en évidence le rôle d'un prédateur Vespidae dans la dissémination du NPV de Neodiprion sertifer. Akbaraly-Vally (1985) signale, en ce qui concerne Polistes hebraeus (Hyménoptère: Vespidae) et Chilo sacchariphagus (Lépidoptère: Pyralidae), que les guêpes prédatrices disséminent des corps d'inclusion capables de déclencher chez la pyrale une infection à CPV. Au Venezuela une autre espèce de polistes est capable de disséminer le NPV d'Alabama argillacea (Andrade et Habib, 1982). L'espèce étudiée en

Guyane française, présente de telles aptitudes disséminatrices (Chapitre VII, A).

L'étude réalisée sur le mouvement des guêpes sur l'ensemble d'une exploitation a permis de montrer que, d'une part le territoire de chasse des polistes n'est pas limité à une parcelle bien précise, et que d'autre part une même colonie peut rayonner sur l'ensemble de l'exploitation. L'importance et l'amplitude des déplacements de ces prédateurs montre que les guêpes prédatrices constituent un atout important dans la régulation des populations larvaires de la noctuelle S. frugiperda. En intervenant doublement, d'une façon directe par la consommation des larves et d'une façon indirecte par la possibilité de disséminer des entomopathogènes, les guêpes contribuent à la limitation des populations du ravageur, et constituent des auxiliaires précieux dans le biotope prairie guyanaise à D. swazilandensis.

CONCLUSION ET DISCUSSION

CONCLUSION ET DISCUSSION

Il découle de l'étude écopathologique réalisée sur la noctuelle S. frugiperda que deux viroses, une polyédrose nucléaire et une granulose sont les deux maladies du ravageur les plus répandues, dans l'écosystème prairie guyanaise à D. swazilandensis. Les agents causals de ces maladies sont deux virus inclus appartenant à la famille des Baculoviridae. La présence d'autres pathogènes de moindre importance, un protozoaire, probablement Vairimorpha necatrix et une polyédrose cytoplasmique, a été observée. Durant toute la durée de l'étude, les cas de mortalité par champignons entomopathogènes ont été rarissimes.

L'analyse, par les enzymes de restriction, du génome du virus de la polyédrose nucléaire (NPV) qui a été réalisée pour deux isolats géographiques, l'un guadeloupéen, l'autre guyanais fait apparaître que ce virus est le même, que celui précédemment décrit par les auteurs nord-américains.

En revanche les électrophorégrammes obtenus après digestion par l'enzyme de restriction Eco RI de l'ADN de la granulose (GV), diffèrent de celui présenté par Smith et Summers (1978). L'ADN de ce nouveau virus de S. frugiperda a un poids moléculaire d'environ 90.10^6 daltons. Il convient donc d'effectuer désormais une distinction terminologique entre cette nouvelle granulose et celle décrite aux Etats-Unis. Nous proposons d'adopter pour le nouveau virus guyanais le générique SFGVGuyane et pour le virus décrit par Smith et Summers (1978) SFGVUSA.

L'observation de nombreuses bandes sub-moléculaires dans les divers électrophorégrammes réalisés, ainsi que la variabilité relevée chez le même virus en des lieux et temps différents, mettent en

évidence l'hétérogénéité des populations naturelles des deux entomopathogènes.

Le suivi écopathologique réalisé durant quatre années consécutives a permis de dégager un certain nombre de caractéristiques des relations de l'hôte et de ses virus dans le biotope considéré.

La dynamique des populations virales suit intimement celle de la noctuelle. Les deux cycles sont rythmés par le passage des bovins dans les parcelles exploitées. Les dégâts systématiquement enregistrés dans les herbages venant d'être pâturées, ainsi que l'historique des attaques de la noctuelle en Guyane française, qui ont suivi l'implantation de nouvelles prairies, permettent de définir la stratégie de colonisation de cet écosystème par le ravageur: en absence de tout phénomène migratoire les successions de générations de S. frugiperda se font d'une parcelle en repousse à une autre. Ces parcelles, généralement fertilisées, constituent des zones de forte attractivité qui favorisent le dépôt des pontes par les adultes.

Un équilibre dynamique semble s'établir entre les deux maladies virales à Baculovirus affectant les populations larvaires de la noctuelle. La part prise par chacun des deux pathogènes dans la régulation de ces populations est fonction du temps et de l'espace. Des différences importantes ont été mises en évidence entre deux parcelles dont un suivi détaillé avait été réalisé. Cependant la mortalité engendrée par les deux viroses n'affecte pas plus de 32% de la population. Ce faible taux pourrait s'expliquer par la faible contamination du milieu, probablement liée à la périodicité de la présence des larves dans les parcelles, ainsi qu'à la faible persistance des virus dans cet écosystème équatorial où ils peuvent être exposés à des conditions climatiques particulièrement sévères. L'inactivation, mesurée par essai biologique, d'une suspension virale appliquée au champ provoquant une mortalité initiale de 20%, a été estimée à une durée inférieure à 48 heures.

Au cours du suivi écopathologique que nous avons entrepris, nous avons fait la distinction entre les larves mortes de parasitose et les larves mortes non parasitées. Seul le deuxième groupe de cadavre a fait

l'objet d'une recherche de germe dans le but d'expliquer la mortalité observée. Les parasites représentent en Guyane des éléments régulateurs importants des populations larvaires de la noctuelle, puisque le taux de parasitisme atteint fréquemment la valeur de 50%. Le parasite le plus fréquemment rencontré est l'hyménoptère Braconidae, Cotesia marginiventris, dont le développement larvaire est très rapide, la mort des chenilles survenant généralement au cours du troisième stade larvaire. Or, la prise en compte du taux d'endémie virale dans les populations parasitées et non parasitées, que nous avons effectuée suite à l'introduction d'un virus dans la prairie, montre que la présence du pathogène est enregistrée de manière plus importante chez les larves parasitées. Ce résultat suggère, sans qu'il puisse être expliqué clairement, qu'une proportion non quantifiable de ces chenilles aurait été susceptible de mourir de baculovirose. Compte tenu de la méthodologie employée ces larves n'ont pu être prise en compte dans le taux de mortalité par Baculovirus précédemment cité, qui se trouverait de ce fait sous-estimé.

Une telle constatation pose les limites d'un suivi écopathologique basé sur l'observation des seuls cas de mortalité; ce facteur étant, dans une première approche, attribué à l'agent mortel ayant le développement le plus rapide. Ceci nous a amené à envisager, pour les études écopathologiques futures, la prise en compte de la présence des virus plutôt que de leur manifestation extrême qui est la mort de l'insecte. La mise au point d'un diagnostic immunologique par l'emploi d'un test E.L.I.S.A. a été réalisée dans ce but. Les résultats obtenus montrent que l'utilisation de sérums appropriés peut fournir d'excellents résultats pour la mise en évidence des deux Baculovirus de S. frugiperda dans des suspensions brutes de larves infectées. Les sérums anti-virus totaux présentent de meilleures réactions que les sérums dirigés contre les virions libres mais sont cependant moins spécifiques. Une absorption préalable des anticorps anti-virus sur des suspensions de larves saines broyées permet d'augmenter la sensibilité de la technique et de diminuer les réactions parasites avec les chenilles non infectées.

L'utilisation d'un test E.L.I.S.A. a permis la détection de virus à des doses sublétales chez les nymphes de la noctuelle. Le diagnostic immunologique qui fait appel à cette technique, fournit une estimation de la prévalence des germes dans l'environnement, en autorisant la mise en évidence de la présence de virus ne s'exprimant pas létalement. Un tel résultat permet d'appréhender les relations virus-hôtes de façon plus fine que la seule prise en compte de la mortalité larvaire, et participe à la compréhension des phénomènes épizootiologiques et de déclenchement des infections virales.

L'introduction artificielle des deux Baculovirus a permis de définir le rôle joué par les larves dans leur dissémination horizontale (autodissémination). L'étude entreprise avec l'hétéroptère Nabis capsiformis et la guêpe Polistes sp. a montré que les polyèdres et granules conservent leur pouvoir infectieux après passage dans l'intestin de ces deux prédateurs. Le pouvoir de dissémination des polistes peut atteindre des distances voisines de 600 m. Le mouvement incessant, la répartition variée des parcelles prospectées, et le comportement alimentaire de ces guêpes en font des outils privilégiés dans la dissémination des entomovirus.

La découverte d'un nouveau Baculovirus isolé de S. frugiperda en Guyane française illustre à quel point il est nécessaire de continuer les prospections de souches d'entomopathogènes de par le monde. Cette considération trouve pleinement sa justification si on prend comme exemple le ravageur S. frugiperda. Les mentions de virus décrits sur cet insecte, qui est présent sur l'ensemble du continent, où il est considéré comme un des premiers ravageurs, sont encore extrêmement peu nombreuses. Un inventaire exhaustif couvrant l'ensemble de son aire de répartition devrait pouvoir permettre l'isolement de nouveaux pathogènes ou de nouvelles souches, présentant des potentialités agronomiques intéressantes.

Les résultats obtenus sur la dynamique des populations du ravageur S. frugiperda, et les stratégies d'attaque mises en oeuvre par l'insecte dans le biotope prairie guyanaise à D. swazilandensis, ne sont pas sans

rappeler certaines observations réalisées sur la luzerne (Medicago sativa) par de nombreux auteurs.

Les deux biotopes possèdent un grand nombre de particularités communes pouvant expliquer les similitudes existant entre les populations entomologiques qui y sont présentes. La première de ces particularités est la pérennité des deux milieux. Celle-ci est responsable de leur richesse entomologique, d'une façon générale plus importante que dans les cultures annuelles, dont les populations entomologiques sont moins stabilisées (Lawton, 1983). Aux Etats-Unis, Van den Bosch et Stern (1969) mentionnent environ 1000 espèces d'arthropodes associés avec l'agro-écosystème luzernière. De ce fait, le complexe parasites-prédateurs-pathogènes joue un rôle important dans les phénomènes naturels de régulation des populations d'insectes ravageurs (Barney et al., 1979; Beekman, 1980; Brieze-Stegeman, 1979; Hendrickson, 1978).

La situation temporelle durable dans laquelle se trouvent la prairie guyanaise à D. swazilandensis et la luzernière en font des milieux réservoirs pour des espèces inféodées à d'autres productions généralement préférées à ces deux milieux (Gutierrez et Pulido, 1980; Osman et Rasmy, 1980; Stoltz et McNeal, 1982; Summers, 1976). Une attention toute particulière doit donc être portée à ces biotopes d'autant plus que de nombreux insectes attaquant la luzerne sont considérés comme des ravageurs économiquement très importants sur de nombreuses cultures dans le monde: Agrotis ipsilon, A. segetum, Anticarsia gemmatalis, Autographa californica, Heliiothis armigera, H. zea, Spodoptera exigua, S. littoralis (Lépidoptères: Noctuidæ). Il est intéressant de constater que les deux milieux sont attaqués par la noctuelle S. frugiperda.

Le parallèle entre la prairie guyanaise et la luzernière peut être poursuivi en ce qui concerne les couvertures végétales de ces deux spéculations agronomiques qui sont, du point de vue architectural, très voisines. Il découle de cette constatation que la manière d'appréhender ces deux milieux par l'expérimentateur sera sur de nombreux points identiques. Le recours aux mêmes techniques d'échantillonnage, et en particulier à celle du filet fauchoir, en est une illustration (Cherry

et al., 1977; Cothran et al., 1975, Fleischer et Allen, 1982; Garbarczyk, 1980; Pruess et al., 1977; Simonet et al. 1979).

De plus, les deux biotopes comparés sont exploités de manière identique par l'homme, aux particularités de croissance des deux plantes près. Dans les deux cas, les interventions se limitent généralement à la simple pâture ou à la coupe. Ces événements sont, comme nous l'avons observé chez S. frugiperda en prairie guyanaise, d'une importance toute aussi capitale en luzernière (Andaloro et al., 1983; Bishop et al., 1980; Cameron et al., 1983; Crawford, 1984; Grimm, 1980; Miller, 1980; Neder de roman et Arce de hamity, 1982; Penman et al., 1979; Senst et Berberet, 1980; Shoemaker et Onstad, 1983; Simonet et Pienkowski, 1979). L'apport de fertilisant, qui suit dans certain cas la coupe de la parcelle, induit aussi en luzernière des phénomènes entomologiques particuliers (Dokudovskaya, 1980).

D'un point de vue strictement économique les deux spéculations, présentent, d'une manière générale, des seuils économiques relativement élevés. Ceci explique que les dégâts sont généralement admis par les éleveurs, sans qu'aucune intervention phytosanitaire ne soit entreprise.

Les considérations qui viennent d'être énoncées expliquent que l'on puisse envisager pour la prairie à D. swazilandensis guyanaise une stratégie de lutte telle qu'elle peut être définie en luzernière. En particulier, les techniques d'application des pesticides, qui comme nous l'avons vu sont essentielles à l'efficacité des traitements entrepris, pourraient s'inspirer des nombreux travaux menés sur ce sujet en luzernière. La mise au point d'une lutte intégrée contre S. frugiperda doit être réalisée en utilisant au mieux les trois composantes que sont la lutte chimique, culturale et biologique. La faible productivité du milieu pastoral guyanais incite cependant à favoriser les deux dernières méthodes de lutte sus-citées. Une attention toute particulière doit être portée sur la détermination des seuils d'intervention afin de définir la, ou les stratégies de lutte, à mettre en place.

En ce qui concerne l'utilisation des Baculovirus dans la lutte biologique contre la noctuelle, il convient de tenir compte d'un certain

nombre de résultats obtenus au cours des trois années durant lesquelles nous avons travaillé ce sujet.

L'équilibre dynamique qui a pu être observé dans les conditions naturelles entre les deux Baculovirus de S. frugiperda, ainsi qu'entre ces deux virus et d'autres facteurs biotiques régulateurs des populations du ravageur, montre qu'il y a lieu, avant toute introduction artificielle d'un virus, de tenir compte de la résistance du milieu considéré. Les études écopathologiques sont en ce sens essentielles à l'estimation de cette résistance. Toute introduction doit prendre en compte les potentialités des zoopathogènes autochtones. Il est de même fondamental de prendre en considération le polymorphisme génétique des deux Baculovirus étudiés. Une estimation de ce polymorphisme devrait permettre d'expliquer l'action sélective du milieu guyanais sur les populations virales et de justifier les différences de mortalité observables entre les populations virales de la polyédrose nucléaire nord-américaine et celles originaires de Guyane. De telles études devraient permettre en outre de définir les clones possédant les meilleures potentialités insecticides, et une meilleure persistance dans l'environnement guyanais.

Néanmoins, il est bon de signaler, à la lumière des observations réalisées en Guyane, que la détermination des souches pathogènes les mieux adaptées doit avoir pour but essentiel la compréhension et la mise en évidence de la pression de sélection du milieu. L'introduction d'une souche unique, éventuellement définie comme la mieux adaptée en un lieu et à un moment donné, ne nous semble cependant pas recommandable. La justification de ce point de vue est liée à l'observation du comportement des deux viroses, granulose et polyédrose nucléaire dans le milieu naturel pendant trois années consécutives. La succession dans le temps des deux viroses montre que, si considérées séparément leur impact sur les populations d'insecte est limité, ensemble elles sont responsables d'un taux d'enzootie constant intéressant. Ce qui a été observé pour les deux viroses étudiées est certainement généralisable à la population virale d'un seul des deux pathogènes. Si cette hypothèse se confirme, le maintien d'un certain polymorphisme dans les populations des virus introduits doit donc être, dans le but de l'efficacité d'un

traitement phytosanitaire, une nécessité absolue pour l'obtention de résultats positifs. Dans un premier temps, avant de comprendre comment le milieu ou l'hôte régulent les populations virales, une introduction simultanée des deux virus, polyédrose nucléaire et granulose semble dans le même ordre d'idée souhaitable.

L'intérêt théorique d'une utilisation conjointe de ces deux agents pathogènes est conforté par les différences existant entre ces deux maladies sur le plan de la rapidité d'action. A l'action immédiate de la polyédrose nucléaire s'ajouterait l'action différée de la granulose. Les polyédroses sont généralement préférées aux granuloses, parce qu'elles provoquent une mortalité rapide. Cependant la durée de développement plus lente des infections à granulose n'est plus un obstacle économique dans le biotope prairie guyanaise à graminées. De plus, l'allongement de la durée larvaire que cette maladie provoque, se traduit par la libération directe de particules infectieuses d'une génération larvaire à l'autre. Ce phénomène contribue certainement à protéger les virus de l'action inhibitrice du milieu et pourrait expliquer les taux de mortalité importants rencontrés dans certaines parcelles pour cette maladie.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

- Abbas, M. S. T., et D. G. Boucias. 1984.** Interaction between nuclear polyhedrosis virus-infected Anticarsia gemmatalis (Lepidoptera: Noctuidae) larvae and predator Podisus maculiventris (Say) (Heteroptera: Pentatomidae). Environ. Entomol. 13: 599-602.
- Adoté, K. P. 1982.** Recherches sur deux maladies endémiques dans une population de lépidoptères Tortricidae Cryptophlebia leucotreta Meyrick (1913) en Côte d'Ivoire. Thès. Univ. Montpellier: 142 p.
- Agriculture Canada. 1981.** Insect identification sheet 55: 2 p.
- Agudelo, F., M. Romano, H. Wæssink, et R. Cuello de uzcategui. 1983.** Una poliedrosis de Spodoptera frugiperda en Venezuela. Turrialba 33: 219-222.
- Aizawa, K. 1955.** Inactivation of the silkworm jaundice virus by the ultraviolet radiation. J. Sericulture Sc. Japan 24: 398-399.
- Akbaraly-Vally, N. 1985.** Etude d'une polyédrose cytoplasmique chez le foreur ponctué de la canne à sucre Chilo sacchariphagus Boj. à la réunion. Thès. Univ. Montpellier. 178 p.
- Allen, G. E. 1968.** Evaluation of the Heliothis nuclear polyhedrosis virus as a microbial insecticide. In "Proc. joint U.S.-Japan comm. sci. coop. panel 8. Foukouka" : 37-41.
- Allen, G. E., et T. L. Pate. 1966.** The potential role of a feeding stimulant used in combination with a nuclear polyhedrosis virus of Heliothis. J. Invertebr. Pathol. 8: 129-131.

Almeida, P. R., R. D. Cavalcante, et G. de Sordi. 1967. Novos resultados no controle da "lagarta dos milharais" Laphygma frugiperda. Biologico (Sao Paulo) 33: 126-128.

Altieri, M. A. 1980. Diversification of corn agroecosystem as a mean of regulating fall armyworm populations. Fla. Entomol. 63: 450-456.

Altieri, M. A., M. Lippmann, L. L. Schmidt, et I. Bubo. 1984. Antifeedant effects of nomilin on Spodoptera frugiperda (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) under laboratory and lathehouse conditions. Prot. Ecol. 6: 91-94.

Alvarado, E. A., J. R. Fuxa, et B. H. Wilson. 1983. Correlation of absolute population estimates of Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae) with sweep sampling and yield in bermudagrass. J. Econ. Entomol. 76: 792-796.

Andaloro, J. T., T. M. Peters, et A. J. Alicandro. 1983. Population dynamics of the alfalfa blotch leafminer, Agromyza frontella and its influence on alfalfa yields in Massachusetts. Environ. Entomol. 12: 510-514.

Anderson, D. L., et R. H. Cherry. 1983. Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) damage to fifteen varieties of sorghum. Fla. Entomol. 66: 506-510.

Andrade, C. F. S., et M. E. M. Habib. 1982. Ocorrencia e dispersao da poliedrose nuclear do curuquere do algodoeiro Alabama argillacea (Hübner, 1818) (Lep., Noctuidae). Rev. Agric. Piracicaba, Brazil 57: 233-246.

Andrews, G. L., F. A. Harris, P. P. Sikorowski, et R. E. McLaughlin. 1975. Evaluation of Heliothis nuclear polyhedrosis virus in a cottonseed oil bait for control of Heliothis virescens and H. zea on cotton. J. Econ. Entomol. 68: 87-90.

Andrews, K. L. 1980. The armyworm, Spodoptera frugiperda, in Central America and neighboring areas. Fla. Entomol. 63: 456-467.

Angulo, A. O., et S. Carmen Jana. 1982. La pupa de Spodoptera Guenée, 1852, en el norte de Chile (Lepidoptera: Noctuidae). Agric. Tec. (Chile) 42: 347-349.

Anonyme. 1970. Control del gusano cogollero del maíz. Notic. Agric. Serv., Shell Agric. 5: 3-4.

Aruga, H. 1963. Induction of virus infections. In "Insect pathology-an advanced treatise". E. A. Steinhaus Ed.: 499-530.

Atlas des départements d'outre-mer. 4. La Guyane. 1979. CNRS-ORSTOM Ed.: 36 Pl.

Balch, R. E., et F. T. Bird. 1944. A disease of the European spruce sawfly Gilpinia hercyniae (Htg.), and its place in natural control. Sc. Agric. 25: 65-80.

Barfield, C. S., J. W. Smith Jr., C. Carlisle, et E. R. Mitchell. 1980. Impact of peanut phenology on select population parameters of fall armyworm. Environ. Entomol. 9: 381-384.

Barney, R. J., S. J. Roberts, R. D. Pausch, et E. J. Armbrust. 1979. Impact of prey age and temperature on predation by the eastern flower thrips, Frankliniella tritici, on eggs of the alfalfa weevil. Environ. Entomol. 8: 814-815.

Bass, J. A., et M. Shepard. 1974. Predation by Sycanus indagator on larvae of Galleria mellonella and Spodoptera frugiperda. Entomol. Exp. Appl. 17: 143-148.

Bass, M. H. 1978. Fall armyworm: evaluation of insecticides for control. Alabama Agric. Exp. Sta. Leaf. 93: 7 p.

Beegle, C. C., et E. R. Oatman. 1975. Effect of nuclear polyhedrosis virus on the relation between Trichoplusia ni (Lepidoptera: Noctuidae) and the parasite Hypersoter exiguae (Hymenoptera: Ichneumonidae). J. Invertebr. Pathol. 25: 59-71.

Beekman, A. G. B. 1980. The infectivity of polyhedra of nuclear polyhedrosis virus (N.P.V.) after passage through gut of an insect-predator. Experientia 36: 858-859.

- Bell, M. R., et R. F. Kanavel. 1977. Field tests of a nuclear polyhedrosis virus in a bait formulation for control of pink bollworms and Heliothis spp. on cotton in Arizona. J. Econ. Entomol. 70: 625-629.
- Bell, M. R., et C. L. Romine. 1980. Tobacco budworm field evaluation of microbial control in cotton using Bacillus thuringiensis and a nuclear polyhedrosis virus with a feeding adjuvant. J. Econ. Entomol. 73: 427-430.
- Bergoin, M. 1966. Passage des corps d'inclusion de virus d'une polyédrie nucléaire dans le tube digestif d'un orthoptère détritivore, Acheta domesticus L. Entomophaga 11: 253-259.
- Bergold, G. H. 1958. Viruses of insects. In "Handbuch der virusforschung". C. Hallauer et K. F. Meyer Eds.: 60-142.
- Bergold, G. H. 1963. Fine structure of some insect viruses. J. Insect Pathol. 5: 111-128.
- Biever, K. D., et P. L. Andrews. 1984. Susceptibility of lepidopterous larvae to Plutella xylostella nuclear polyhedrosis virus. J. Invertebr. Pathol. 44: 117-119.
- Biever, K. D., P. L. Andrews, et P. A. Andrews. 1982. Use of a predator, Podisus maculiventris, to distribute virus and initiate epizootics. J. Econ. Entomol. 75: 150-152.
- Biever, K. D., et D. L. Hostetter. 1985. Field persistence of Trichoplusia ni (Lepidoptera: Noctuidae) single-embedded nuclear polyhedrosis virus on cabbage foliage. Environ. Entomol. 14: 579-581.
- Biever, K. D., et J. D. Wilkinson. 1978. A stress-induced granulosis virus of Pieris rapae. Environ. Entomol. 7: 572-573.
- Bird, F. T. 1955. Virus diseases of sawflies. Can. Entomol. 87: 121-127.
- Bishop, A. L., L. R. Greenup, et R. H. Holtkamp. 1980. Management of Acyrtosiphum kondoi Shinji, blue green aphid, and Therioaphis trifolii (Monell) f. maculata, spotted alfalfa aphid, by grazing, and cutting lucerne. Australian J. Exp. Agric. Animal Husbandry. 20: 710-716.

- Blancaneaux, P. 1981.** Essai sur le milieu naturel de la Guyane française. Travaux et Documents ORSTOM, Paris, 137: 126 p.
- Boucias, D. G., D. W. Johnson, et G. E. Allen. 1980.** Effects of host age, virus dosage, and temperature on the infectivity of a nucleopolyhedrosis virus against velvetbean caterpillar, Anticarsia gemmatalis, larvae. Environ. Entomol. 9: 59-61.
- Boucias, D. G., E. A. Schoborg, et G. E. Allen. 1982.** The relative susceptibility of six noctuid species to infection by Nomuraea rileyi isolated from Anticarsia gemmatalis. J. Invertebr. Pathol. 39: 238-240.
- Bournoville, R., et P. Cantot. 1980.** Variations d'effectifs des principaux insectes nuisibles à la luzerne selon le rang et la pousse et l'âge de la culture. Fourrages 84: 113-129.
- Bowling, C. C. 1978.** Simulated insect damage to rice: effects of leaf removal. J. Econ. Entomol. 71:377-378.
- Brenner, S., et R. W. Horne. 1959.** A negative staining method for high resolution electron microscopy of viruses. Biochem. Biophys. Acta 34: 103-110.
- Brett, C. H., et R. Bastida. 1963.** Resistance of sweet corn varieties to the fall armyworm, Laphygma frugiperda. J. Econ. Entomol. 56:162-167.
- Brieze-Stegeman, R. 1979.** Blue green aphid. J. Agric. Tasmania 50: 82-84.
- Brown, T. M., D. R. Johnson, A. R. Hopkins, J. A. Durant, et D. C. Montefiori. 1982.** Interactions of pyrethroid insecticides and toxaphene in cotton. J. Agric. Food Chem. 30: S42-S45.
- Bruner, L. 1900.** Report of the entomologist. Nebraska Agric. Sta. 13: 45-49.
- Bucher, G. E., et P. Harris. 1968.** Virus diseases and their interaction with food stress in Calophasia lunula. J. Invertebr. Pathol. 10: 235-244.
- Bulletin de statistiques agricoles. 1983.** DDA Guyane.

- Bullock, H. R. 1967.** Persistence of Heliothis nuclear polyhedrosis virus on cotton foliage. J. Invertebr. Pathol. 9: 434-436.
- Bullock, H. R., E. Martinez, et C. W. Stuermer Jr. 1970.** Cytoplasmic-polyhedrosis virus and the development and fecundity of the pink bollworm. J. Invertebr. Pathol. 15: 109-112.
- Burges, H. D., G. Croizier, et J. Huber. 1980.** A review of safety tests on baculoviruses. Entomophaga 25: 329-340.
- Burges, H. D., J. Huber, et G. Croizier. 1980.** Guidelines for safety tests on insect viruses. Entomophaga 25: 341-348.
- Burgess, S. 1977.** Molecular weights of lepidopteran Baculovirus DNAs: derivation by electron microscopy. J. Gen. Virology. 37: 501-510.
- Burton, G. W. 1975.** Breeding superior forages. Forage Res. 1: 23-30.
- Byers, R. A., et G. A. Jung. 1979.** Insect populations on forage grasses: effect of nitrogen fertilizer and insecticides. Environ. Entomol. 8: 11-18.
- Cameron, P. J., D. J. Allan, G. P. Walker, et J. A. Wightman. 1983.** Management experiments on aphids (Acyrtosiphon spp.) and beneficial insects in lucerne. New Zealand J. Exp. Agric. 11: 343-349.
- Candia, J. D. 1971.** Las plagas del algodón en Bolivia. Rev. Peruana Entomol. 14: 395-397.
- Capinera, J. L., et P. Barbosa. 1975.** Transmission of nuclear-polyhedrosis virus to gypsy moth larvae by Calosoma sycophanta. Ann. Entomol. Soc. Am. 68: 593-594.
- Carpenter, J. E., A. N. Sparks, et E. A. Harrell. 1981.** Effect of temperature on wingbeat frequency and sustained flight of certain lepidopteran insects. J. Georgia Entomol. Soc. 16: 451-457.
- Carpenter, J. E., J. R. Young, E. F. Knipling, et A. N. Sparks. 1983.** Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae): inheritance of gamma-induced deleterious effects and potential for pest control. J. Econ. Entomol. 76: 378-382.

- Carvalho, R. P. L.** 1969. Contribuicao para o estudo dos prejuizos, populacao e controle da Spodoptera frugiperda (Smith) em milho. Rev. Agric. Piracicaba 44: 10.
- Chapman, J. W., et R. W. Glaser.** 1915. A preliminary list of insects which have wilt, with a comparative study of their polyhedra. J. Econ. Entomol. 8: 140-149.
- Chaufaux-Arnold, J.** 1983. Contribution à l'étude de la variabilité de la sensibilité des lépidoptères ravageurs des cultures aux Baculovirus utilisés en lutte biologique. Thès. Univ. Paris-Sud, Orsay: 78 p.
- Cherry, R. H., K. A. Wood, et W. G. Ruesink.** 1977. Emergence trap and sweep net sampling for adults of the potato leafhopper from alfalfa. J. Econ. Entomol. 70: 279-282.
- Combs, R. L. Jr., et J. R. Valerio.** 1980. Biology of the fall armyworm on four varieties of bermudagrass when held at constant temperatures. Environ. Entomol. 9: 393-396.
- Commonwealth institute of entomology.** 1956. Distribution maps of insect pests. Série A, n°68: 2 p.
- Cothran, W. R., C. G. Summers, et C. E. Franti.** 1975. Sampling for the egyptian alfalfa weevil: a comparison of two standard sweep-net techniques. J. Econ. Entomol. 68: 563-564.
- Cox, H. C., J. R. Young, et M. C. Bowman.** 1967 Persistence of tepa in fall armyworm moths. J. Econ. Entomol. 60: 1111-1115.
- Crawford, A. M., et J. Kalmakoff.** 1977. A host-virus interaction in a pasture habitat. Wiseana spp. (Lepidoptera: Hepialidae) and its Baculoviruses. J. Invertebr. Pathol. 29: 81-87.
- Crawford, D. N.** 1984. Insect communities of lucerne Medicago sativa L. in the australian capital territory. J. Australian Entomol. Soc. 23: 132.
- Creighton, C. S., T. L. McFadden, et J. V. Bell.** 1970. Pathogens and chemicals tested against caterpillars on cabbage. USDA Prod. Res. Dept. 114: 1-10.

- Croizier, G., et L. Croizier. 1977.** Evaluation du poids moléculaire de la protéine des corps d'inclusion de divers Baculovirus d'insectes. Arch. Virology 55: 247-250.
- Croizier, G., L. Croizier, G. Biache, et J. Chaufaux. 1985.** Evolution de la composition génétique et du pouvoir infectieux du baculovirus de Mamestra brassicae L. au cours de 25 multiplications successives sur des larves de la noctuelle du chou. Entomophaga 30: 365-374.
- Croizier, G., et G. Meynadier. 1973a.** Les protéines des corps d'inclusion des Baculovirus. II.- Etude comparée de six granuloses. Entomophaga 18: 259-269.
- Croizier, G., et G. Meynadier. 1973b.** Les protéines des corps d'inclusion des Baculovirus. III. Etude comparée de la granulose de Pieris brassicae et de la polyédrose de Bombyx mori. Entomophaga 18: 431-437.
- Croizier, G., et G. Meynadier. 1975.** Les protéines des corps d'inclusion des Baculovirus. IV.- Etude de sept polyédroses de lépidoptères. Entomophaga 20: 421-432.
- Croizier, G., et J. M. Quiot. 1981.** Obtention and analysis of two genetic recombinants of Baculoviruses of Lepidoptera, Autographa californica Speyer and Galleria mellonella L. Ann. Virologie 132: 3-10.
- Crook, N. E., et C. Payne. 1980.** Comparison of three methods of ELISA for Baculoviruses. J. Gen. Virology. 46: 29-37.
- Cruz, I., et F. T. Turpin. 1980.** Efeito da infestação de milho pela lagarta do cartucho, Spodoptera frugiperda, em diferentes estagios da cultura. In "Reuniao Brasileira de Milho e Sorgo, 13, Londrina, 1980". Coletanea de resumos. Londrina, IAPAR: 141.
- Dajoz, R. 1975.** Précis d'écologie. Gauthier-Villars Eds.: 549 p.
- Dauthuille, D. 1983.** Etude des pathogènes de Spodoptera frugiperda en Guyane. ORSTOM Rapp. Int.: 58 p.

Dauthuille, D., et J. F. Silvain. Le contrôle des insectes déprédateurs des graminées fourragères en Guyane française. 2: utilisation des insecticides chimiques dans la lutte contre Spodoptera frugiperda (J. E. Smith 1797). In Press.

Dauthuille, D., et J. F. Silvain. 1984. Etude préliminaire à l'utilisation de deux Baculovirus dans la lutte contre Spodoptera frugiperda en prairie guyanaise à Digitaria swazilandensis. In "Proc. 20th annual meeting CFCS" : 88-92.

David, W. A. L. 1969. The effect of ultraviolet radiation of known wavenlengths on a granulosis virus of Pieris brassicae. J. Invertebr. Pathol. 14: 336-342.

David, W. A. L. 1975. The status of viruses pathogenic for insects and mites. In "Viruses pathogenic to insects". Ann. Rev. Entomol. 20: 97-117.

David, W. A. L., et B. D. C. Gardiner. 1965. The incidence of granulosis deaths in susceptible and resistant Pieris brassicae (L.) larvae following changes of population density, food and temperature. J. Invertebr. Pathol. 7: 347-355.

David, W. A. L., et B. D. C. Gardiner. 1967. The persistence of a granulosis virus of Pieris brassicae in soil and in sand. J. Invertebr. Pathol. 9: 342-347.

David, W. A. L., B. D. C. Gardiner, et S. E. Clothier. 1968. Laboratory breeding of Pieris brassicae transmitting a granulosis virus. J. Invertebr. Pathol. 12: 238-244.

Day, M. F., I. F. B. Common, J. L. Farrant, et C. Potter. 1953. A polyhedral virus disease of a pasture caterpillar, Pterolocera amplicornis Walker (Anthelidae). Australian J. Biol. Sc. 6: 574-579.

Dokudovskaya, N. A. 1980. Protection of seed lucerne. Zashchita Rastenii. 9: 29.

Edelson, J. V., L. L. Hyché. 1980. Insects associated with injury to deciduous tree seedlings growing in forest tree nurseries in Alabama. J. Econ. Entomol. 73: 698-701.

- Elmore, J. C., et A. F. Howland. 1964. Natural versus artificial dissemination of nuclear-polyhedrosis virus by contaminated adult cabbage loopers. *J. Insect Pathol.* 6: 430-438.
- Entwistle, P. F. 1977. The development of an epizootic of a nuclear polyhedrosis virus disease of the european spruce sawfly, Gilpinia hercyniae. International colloquium on invertebrate pathology. IXth annual meeting of the Soc. for Invertebr. Pathol., Kingston, Ontario, Canada 1976: 184-188.
- Esmenjaud, D. 1984. Les Noctuelles (Lépidoptères Noctuidae) des Antilles françaises. Données biologiques pour la conception d'une protection intégrée du maïs contre Spodoptera frugiperda (J. E. Smith) et Heliothis zea (Boddie) en Guadeloupe. Thès. Univ. Montpellier: 194 p.
- Evans, H. F., J. M. Bishop, et E. A. Page. 1980. Methods for the quantitative assessment of nuclear-polyhedrosis virus in soil. *J. Invertebr. Pathol.* 35: 1-8.
- Falanghe, O. 1958. O combate as pragas do trigo pro porcione meliores hêitas. *Biologico (Sao Paulo)* 24: 42-45.
- FAO/OMS. 1973. Utilisation des virus dans la lutte contre les insectes nuisibles et vecteurs de maladie. OMS Sér. Rapp. Techn. n° 531: 50 p.
- Faust, R. M., G. M. Hallam, et R. S. Travers. 1973. Spectrographic elemental analysis of the parasporal crystals produced by Bacillus thuringiensis var. dendrolimus and the polyhedral inclusion bodies of the nucleopolyhedrosis virus of the fall armyworm, Spodoptera frugiperda. *J. Invertebr. Pathol.* 22: 478-480.
- Federici, B. A. 1978. Baculovirus epizootic in a larval population of the clover cutworm, Scotogramma trifolii, in southern California. *Environ. Entomol.* 7: 423-427.
- Ferron, P., G. Biache, et J. Aspirot. 1983. Synergisme entre Baculovirus à polyèdres nucléaires de Lépidoptères Noctuidae et doses réduites de pyrèthrinoïdes photostables. *C. R. Acad. Sc. Paris* 296: 511-514.

- Fife, L. C. 1939.** Insects and a mite found on cotton in Puerto Rico, with notes on their economic importance and natural enemies. Bull. Puerto Rico Exp. Sta. (Mayaguez) 39: 14 p.
- Fine, P. E. M. 1975.** Vectors and vertical transmission: an epidemiologic perspective. Ann. New York Ac. Sc. 266: 173-194.
- Fix, L. A., et F. W. Plapp, Jr. 1983.** Effect of parasitism on the susceptibility of the tobacco budworm (*Lepidoptera: Noctuidae*) to methyl parathion and permethrin. Environ. Entomol. 12: 976-978.
- Fleischer, S. J., et W. A. Allen. 1982.** Field counting efficiency of sweep-net samples of adult potato leafhoppers (*Homoptera: Cicadellidae*) in alfalfa. J. Econ. Entomol. 75: 837-840.
- Foot, W. H., et P. R. Timmins. 1982.** Injury to grain corn by the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (*Lepidoptera: Noctuidae*), in southwestern Ontario, 1977 to 1981. Proc. Entomol. Soc. Ontario. 113: 17-20.
- Frank, J. H., et F. D. Bennett. 1970.** List of sugar cane arthropods of Jamaica. Tech. Bull. Sugar Res. Dept. 1: 1-24.
- Franz, J., A. Krieg, et R. Langenbuch. 1955.** Untersuchungen über den einfluss der passage durch den darm von raubeninsekten und vogeln auf die infeksiositat insektenpathogener viren. Z. Pflanzenkr. Pflanzenpathol. Pflanzenschutz. Sonderh. 62: 721-726.
- Fuxa, J. R. 1981.** Susceptibility of lepidopterous pests to two types of mortality caused by the microsporidium *Vairimorpha necatrix*. J. Econ. Entomol. 74: 99-102.
- Fuxa, J. R. 1982.** Prevalence of viral infections in populations of fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* in southeastern Louisiana. Environ. Entomol. 11: 239-242.
- Fuxa, J. R., et J. P. Geaghan. 1983.** Multiple-regression analysis of factors affecting prevalence of nuclear polyhedrosis virus in *Spodoptera frugiperda* (*Lepidoptera: Noctuidae*) populations. Environ. Entomol. 12: 311-316.

Garbarczyk, H. 1980. Ocena przydatności metody aspirometrycznej i czerpakowej do określania zagęszczenia dominujących grup entomofauny na uprawach lucerny- Medicago sativa L. w Polsce. Polskie Pismo Entomol. 48: 279-283.

Garcia, M. A., C. F. S. Andrade, J. Lauritis, et M. E. M. Habib. 1984. Pathogenicity and histopathological studies on the nuclear polyhedrosis virus of the fall armyworm, Spodoptera frugiperda (Abbot et Smith, 1797) (Lepidoptera, Noctuidae). Rev. Agric. Brazil 59: 71-82.

Gardner, W. A., et R. Duncan. 1982. Influence of soil pH on fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) damage to whorl-stage sorghum. Environ. Entomol. 11: 908-912.

Gardner, W. A., et R. Duncan. 1983. Effects of planting date and ratoon cropping on the natural incidence of selected insect pests of grain sorghum in central Georgia. J. Georgia Entomol. Soc. 18: 327-335.

Gardner, W. A., et J. R. Fuxa. 1980. Pathogens for the suppression of the fall armyworm. Fla. Entomol. 63: 439-447.

Gardner, W. A., P. B. Martin, et R. D. Schwehr. 1982. Efficacy of selected chemical and microbial insecticides in controlling fall armyworm in whorl-stage grain sorghum. J. Georgia Entomol. Soc. 17: 518-524.

Gardner, W. A., R. M. Sutton, et R. Noblet. 1977. Persistence of Beauveria bassiana, Nomuraea rileyi, and Nosema necatrix on soybean foliage. Environ. Entomol. 6: 616-618.

Garner, J. W., et R. E. Lynch. 1981. Fall armyworm leaf consumption and development on florunner peanuts. J. Econ. Entomol. 74: 191-193.

Gould, W. A., et R. L. Jeanne. 1984. Polistes wasps (Hymenoptera: Vespidae) as control agents for lepidopterous cabbage pests. Environ. Entomol. 13: 150-156.

Gourreau, J. M., C. Kaiser, M. Lahellec, L. Chevrier, et P. Monsarrat. 1979. Etude de l'action pathogène éventuelle du Baculovirus d'Oryctes pour le porc. Entomophaga 24: 213-219.

- Granados, R. A. 1980.** Infectivity and mode of action of Baculoviruses. In "Biotechnology and bioengineering XXII". J. Wiley and sons Eds.: 1377-1405.
- Gravena, S., et W. L. Sterling. 1983.** Natural predation on the cotton leafworm (Lepidoptera: Noctuidae). J. Econ. Entomol. 76: 779-784.
- Greene, G. L., et W. L. Morill. 1970.** Behavioral responses of newly hatched cabbage looper and fall armyworm larvae to light and gravity. J. Econ. Entomol. 63: 1984-1986.
- Griego, V. M., M. E. Martignoni, et A. E. Claycomb. 1985.** Inactivation of nuclear polyhedrosis virus (Baculovirus subgroup A) by monochromatic UV radiation. Appl. Environ. Microbiol. 49: 709-710.
- Grimm, M. 1980.** Learning to live with the spotted alfalfa aphid. J. Agric. Western Australia 20: 82-84.
- Gröner, A., et G. Döller. 1982.** Passage of infectious nuclear polyhedrosis virus by mice and chickens. Entomophaga 27: 155-157.
- Gröner, A., et H. Overbeck. 1978.** Freilandversuche zur bekämpfung der kohleule (Mamestra brassicae, Lep.: Noctuidae) mit einem kernpolyedervirus. Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd. 30: 7-12.
- Guelpa, B., M. Bergoin, et G. Croizier. 1977.** La protéine d'inclusion et les protéines du virion du Baculovirus du diptère Tipula paludosa (Meigen). C. R. Acad. Sc. Paris 284: 779-782.
- Gutierrez, B. De, et F. J. Pulido. 1980.** Ciclo de vida y hábitos de Anticarsia gemmatalis plaga de la soya en el valle del cauca. Rev. Colombiana Entomol. 4: 3-9.
- Hamm, J. J. 1966.** A modified azan staining technique for inclusion body viruses. J. Invertebr. Pathol. 8: 125-126.
- Hamm, J. J. 1968.** Comparative histopathology of a granulosis and a nuclear polyhedrosis of Spodoptera frugiperda. J. Invertebr. Pathol. 10: 320-326.
- Hamm, J. J. 1980.** Epizootics of Entomophthora aulicae in lepidopterous pests of sorghum. J. Invertebr. Entomol. 36: 60-63.

Hamm, J. J. 1982. Relative susceptibility of several noctuid species to a nuclear polyhedrosis virus from Heliothis armiger. J. Invertebr. Pathol. 39: 255-256.

Hamm, J. J., et W. W. Hare. 1982. Application of entomopathogens in irrigation water for control of fall armyworms and corn earworms (Lepidoptera: Noctuidae) on corn. J. Econ. Entomol. 75: 1074-1079.

Hamm, J. J., et R. E. Lynch. 1982. Comparative susceptibility of the granulate cutworm, fall armyworm, and corn earworm to some entomopathogens. J. Georgia Entomol. Soc. 17: 363-369.

Hamm, J. J., D. A. Nordlund, et O. G. Marti. 1985. Effects of a nonoccluded virus of Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae) on the development of a parasitoid, Cotesia marginiventris (Hymenoptera: Braconidae). Environ. Entomol. 14: 258-361.

Hamm, J. J., D. A. Nordlund, et B. G. Mullinix, JR. 1983. Interaction of the microsporidium Vairimorpha sp. with Microplitis croceipes (Cresson) and Cotesia marginiventris (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae), two parasitoids of Heliothis zea (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae). Environ. Entomol. 12: 1547-1550.

Hamm, J. J., et J. R. Young. 1971. Value of presilk treatment for cornearworm and fall armyworm control on sweet corn. J. Econ. Entomol. 64: 144-146.

Hamm, J. J., et J. R. Young. 1974. Mode of transmission of nuclear-polyhedrosis virus to progeny of adult Heliothis zea. J. Invertebr. Pathol. 24: 70-81.

Hampson, G. 1909. Laphygma frugiperda. Catalogue of the Lepidoptera Phalaenae in the British museum. Vol. 8 Taylor et Francis London: 583 p.

Harrap, K. A., et C. C. Payne. 1979. The structural properties and identification of insect viruses. In "Advances in virus research", vol. 25: 273-355.

Harrap, K. A., C. C. Payne, et J. S. Robertson. 1977. The properties of three baculoviruses from closely related hosts. Virology 79: 14-31.

- Harvey, J., et Y. Tanada. 1985. Characterization of the DNAs of five baculoviruses pathogenic for the armyworm, Pseudaletia unipuncta. J. Invertebr. Pathol. 46: 174-179.
- Henderson, C. F., H. G. Kinzer, et E. G. Thompson. 1966. Growth and yield of grain sorghum infested in the whorl with fall armyworm. J. Econ. Entomol. 59: 1001-1003.
- Hendrickson, R. M. Jr. 1978. Establishment of Dacnusa dryas (Nixon) (Hymenoptera: Braconidae) and Chrysocharis punctifacies Delucchi (Hymenoptera: Eulophidae) parasites of Agromyza frontella (Rondani) (Diptera: Agromyzidae) in Delaware. J. New York Entomol. Soc. 86: 274-330.
- Henry, J. E. 1981. Natural and applied control of insects by protozoa. Ann. Rev. Entomol. 26: 49-73.
- Herzog, G. A., W. R. Lambert III, S. E. Law, W. E. Seigler, et D. K. Giles. 1983. Evaluation of an electrostatic spray application system for control of insect pests in cotton. J. Econ. Entomol. 76: 637-640.
- Hofmaster, R. N., et D. E. Greenwood. 1949. Fall armyworm control on forage and truck crops. J. Econ. Entomol. 42: 502-506.
- Hopkins, A. R., et T. W. Culp. 1984. Influence of planting date and cultivar on late-season insects and yield of cotton. J. Georgia Entomol. Soc. 19: 61-67.
- Hormchan, P., M. F. Schuster, et L. W. Hepner. 1976. Biology of Tropiconabis capsiformis. Ann. Entomol. Soc. America 69: 1016-1018.
- Horovitz, S. 1960. Trabajos em marcha sobre resistencia a insectos en el maiz. Agron. Tropical 10: 107-114.
- Hostetter, D. L., et K. D. Biever. 1970. The recovery of virulent nuclear-polyhedrosis virus of the cabbage looper, Trichoplusia ni, from the feces of birds. J. Invertebr. Pathol. 15: 173-176.
- Hostetter, D. L., D. B. Smith, R. E. Pinnell, C. M. Ignoffo, et G. H. McKibben. 1982. Laboratory evaluation of adjuvants for use with Baculovirus Heliothis virus. J. Econ. Entomol. 75: 1114-1119.

Hukuhara, T. 1972. Demonstration of polyhedra and capsules in soil with scanning electron microscope. J. Invertebr. Pathol. 20: 375-376.

Hukuhara, T., et H. Namura. 1972. Distribution of a nuclear-polyhedrosis virus of the fall webworm, Hyphantria cunea, in soil. J. Invertebr. Pathol. 19: 308-316.

Hukuhara, T., et H. Wada. 1972. Adsorption of polyhedra of a cytoplasmic-polyhedrosis virus by soil particles. J. Invertebr. Pathol. 20: 309-316.

Ignoffo, C. M. 1973. Development of a viral insecticide: concept to commercialization. Expl. Parasit. 33: 380-406.

Ignoffo, C. M., et O. F. Batzer. 1971. Microencapsulation and ultraviolet protectants to increase sunlight stability of an insect virus. J. Econ. Entomol. 64: 850-853.

Ignoffo, C. M., et T. L. Couch. 1981. The nucleopolyhedrosis virus of Heliothis species as a microbial insecticide. In "Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980". H. D. Burgess Ed.: 329-362.

Ignoffo, C. M., D. L. Hostetter, C. Garcia, K. D. Biever, et G. D. Thomas. 1978. Autodissemination of entomopathogens: release of living virus-infected larvae. In "Microbial control of insect pests: future strategies in pest management systems". G. E. Allen, C. M. Ignoffo, et R. P. Jaques Eds.: 69-71.

Ignoffo, C. M., N. L. Marston, B. Puttler, D. L. Hostetter, G. D. Thomas, K. D. Biever, et W. A. Dickerson. 1976. Natural biotic agents controlling insect pests of Missouri soybeans. In "World Soybean Research": 561-578.

Ingram, J. W. 1927. Insects injurious to rice crops. USDA farmer's Bull. 1543: 10.

Iragabon, T. A., et W. M. Brooks. 1974. Interaction of Campoletis sonorensis and a nuclear polyhedrosis virus in larvae of Heliothis virescens. J. Econ. Entomol. 67: 229-231.

- Janes, M. J. 1973.** Corn earworm and fall armyworm occurrence and control on sweet corn ears in south Florida. *J. Econ. Entomol.* 66: 973-974.
- Janes, M. J., et G. L. Greene. 1969.** Control of fall armyworms and corn earworms on sweet corn ears in central and south Florida. *J. Econ. Entomol.* 62: 1031-1033.
- Jaques, R. P. 1964.** The persistence of a nuclear polyhedrosis virus in soil. *J. Invertebr. Pathol.* 6: 251-254.
- Jaques, R. P. 1967.** The persistence of a nuclear polyhedrosis virus in the habitat of the host insect, Trichoplusia ni I. Polyedra deposited on foliage. *Can. Entomol.* 99: 785-794.
- Jaques, R. P. 1969.** Leaching of the nuclear-polyhedrosis virus of Trichoplusia ni from soil. *J. Invertebr. Pathol.* 13: 256-263.
- Jaques, R. P. 1977.** Stability of entomopathogenic viruses. *Misc. Publ. Entomol. Soc. Am.* 10: 99-116.
- Jaques, R. P., et D. G. Harcourt. 1971.** Viruses of Trichoplusia ni (Lepidoptera: Noctuidae) and Pieris rapae (Lepidoptera: Pieridae) in soil in fields of crucifers in southern Ontario. *Can. Entomol.* 104: 1285-1290.
- Johnson, D. W., D. B. Boucias, C. S. Barfield, et G. E. Allen. 1982.** A temperature-dependent model for a nucleopolyhedrosis virus of the velvetbean caterpillar, Anticarsia gemmatalis (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Invertebr. Pathol.* 40: 292-298.
- Kawase, S. 1983.** Microbial control of insect pests. *Korean J. Plant Protection* 22: 67-73.
- Kelleher, J. S. 1976.** *Can. Agric. Insect Pest Rev.* 54: 56 p.
- Kellen, W. R., et D. F. Hoffmann. 1983.** Longevity and fecundity of adult Amyelois transitella (Lepidoptera: Pyralidae) infected by two small RNA viruses. *Environ. Entomol.* 12: 1542-1546.

Kelly, D. C. 1977. The DNA contained by nuclear polyhedrosis viruses isolated from four Spodoptera sp. (Lepidoptera: Noctuidae): genome size and homology assessed by DNA reassociation kinetics. *Virology* 76: 468-471.

Kelly, D. C., M. L. Edwards, H. F. Evans, et J. S. Robertson. 1978. The use of enzyme-linked immunosorbent assay to detect a nuclear polyhedrosis virus in Heliothis armigera larvae. *J. Gen. Virology* 40: 465-469.

Kelly, D. C., M. L. Edwards, et J. S. Robertson. 1978. The use of enzyme-linked immunosorbent assay to detect, and discriminate between, small iridescent viruses. *Ann. Appl. Biol.* 90: 369-374.

Kennard, C. P. 1965. Pests and diseases of rice in British Guiana and their control. *FAO Plant Protection Bull.* 13: 73-78.

Kirkton, R. M. 1971. Habitat management and its effects on populations of Polistes and Iridomyrmex. *Habitat management*: 243-246.

Kleczkowski, A. 1968. Methods of inactivation by ultraviolet radiation. In "Methods in virology". Ac. Press N.Y., K. Maramoros et H. Koprowski Ed. 4: 93-138.

Knell J. D., et M. Summers. 1981. Investigation on genetic heterogeneity in wild isolates of Spodoptera frugiperda nuclear polyhedrosis virus by restriction endonuclease analysis of plaque-purified variants. *Virology* 112: 190-197.

Knipling, E. F. 1980. Regional management of the fall armyworm a realistic approach ? *Fla. Entomol.* 63: 468-481.

Knudson, D. L. 1975. Replication of nuclear polyhedrosis viruses in cell cultures. Ph.D. Thes. Univ. Oxford.

Koehler, P. G., et D. E. Short. 1979. Fall armyworm in Florida pasturegrass: 1977. *Fla. Entomol.* 62: 154-155.

Koehler, P. G., R. J. Gouger, et D. E. Short. 1977. Control of striped grass loopers and armyworms in pasture: 1976. *Fla. Entomol.* 60: 103-104.

- Krieg, A., A. Groner, J. Huber, et M. Matter. 1980.** Über die Wirkung von mittel- und langwelligen ultravioletten Strahlen (UV-B und UV-A) auf insekten-pathogene Bakterien und Viren und deren Beeinflussung durch UV-Schutzstoffe. *Nachrichtenbl. Dtsch. Pflanzenschutzdienstes* 32: 100-106.
- Kunimi, Y. 1982.** Transovum transmission of a nuclear polyhedrosis virus of the fall webworm, Hyphantria cunea Drury (Lepidoptera: Arctiidae). *Appl. Entomol. Zool.* 17: 410-417.
- Kuno, G. 1979.** A nuclear-polyhedrosis virus of Spodoptera frugiperda isolated in Puerto Rico. *J. Agric. Univ. Puerto Rico* 63: 162-169.
- Labrador, J. R. 1967.** Estudios de biología y combate del gusano cogollero del maíz Laphygma frugiperda (S. & A.). Universidad del Zulia. Maracaibo-Venezuela: 83 p.
- Landazabal, J., F. Fernandez, et A. Figueroa. 1973.** Control biológico de Spodoptera frugiperda (J. E. Smith), con el nematodo: Neoaplectana crapocapsae en maíz (Zea mays). *Acta Agron. (Colombia)* 23: 41-70.
- Langridge, W. H. R., R. R. Granados, et J. F. Greenberg. 1981.** Detection of Autographa californica and Heliothis zea Baculovirus proteins by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *J. Invertebr. Pathol.* 38: 242-250.
- Lautenschlager, R. A., et J. D. Podgwaite. 1977.** Passage of infectious nuclear polyhedrosis virus through the alimentary tracts of two small predators of the gypsy moth, Lymantria dispar. *Environ. Entomol.* 6: 737-738.
- Lautenschlager, R. A., J. D. Podgwaite, et D. E. Watson. 1980.** Natural occurrence of the gypsy moth, Lymantria dispar, (Lep.: Lymantriidae) in wild birds and mammals. *Entomophaga* 25: 261-267.
- Lawrence, R. K., et T. F. Watson. 1979.** Predator-prey relationship of Geocoris punctipes and Heliothis virescens. *Environ. Entomol.* 8: 245-248.
- Lawton, J. H. 1983.** Plant architecture and the diversity of phytophagous insects. *Ann. Rev. Entomol.* 28: 23-39.

- Leiderman, L., et H. F. G. Sauer. 1954. Acao de alguns insecticidas organicos sobre Laphygma frugiperda (Smith e Abbot, 1797) atacando milho (Lepidoptera: Noctuidae). Arquivos Inst. Biol. (Sao Paulo) 21: 111-119.
- Leonard, D. E. 1974. Recent developments in ecology and control of the gypsy moth. Annu. Rev. Entomol. 19: 197-229.
- Leppa, N. C., E. W. Hamilton, R. H. Guy, et F. L. Lee. 1979. Circadian rythms of locomotion in six noctuid species. Ann. Entomol. Soc. Am. 72: 209-215.
- Leuck, D. B. 1970. The role of resistance in pearl millet in control of the fall armyworm. J. Econ. Entomol. 63: 1679-1681.
- Leuck, D. B. 1972. Induced fall armyworm resistance in pearl millet. J. Econ. Entomol. 65: 1608-1611.
- Leuck, D. B., et R. O. Hammons. 1974. Nutrients and growth media: influence on expression of resistance to the fall armyworm. J. Econ. Entomol. 67: 564.
- Leuck, D. B., C. M. Taliaferro, R. L. Burton, G. W. Burton, et M. C. Bowman. 1968. Fall armyworm resistance in pearl millet. J. Econ. Entomol. 61: 693-695.
- Leuck, D. B., B. R. Wiseman, et W. W. McMillian. 1974. Nutritional plant sprays: effect on fall armyworm feeding preferences. J. Econ. Entomol. 67: 58-60.
- Levin, D. B., J. E. Laing, R. P. Jaques, et J. E. Corrigan. 1979. Transmission of granulosis virus by Apanteles glomeratus (L.) to its host, Pieris rapae (L.). J. Invertebr. Pathol. 34: 317-318.
- Levin, D. B., J. E. Laing, R. P. Jaques, et J. E. Corrigan. 1981. Interactions between Apanteles glomeratus (L.) (Hymenoptera: Braconidae) and granulosis virus in Pieris rapae (L.) (Lepidoptera: Pieridae). Environ. Entomol. 10: 65-68.

- Levin, D. B., J. E. Laing, R. P. Jaques, et J. E. Corrigan. 1983. Transmission of the granulosis virus of Pieris rapae (Lepidoptera: Pieridae) by the parasitoid Apanteles glomeratus (Hymenoptera: Braconidae). Environ. Entomol. 12: 166-170.
- Lima, A. Da Costa. 1968. Quarto catalogo dos insetos que vivem nas plantas do Brazil seus parasitos e predadores. Parte II, 1° Tomo: Noctuidae. Min. Agric. Esc. Nat. Agron. Rio de Janeiro.
- Linker, H. M., F. A. Johnson, J. L. Stimac, et S. L. Poe. 1984. Analysis of sampling procedures for corn earworm and fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) in peanuts. Environ. Entomol. 13: 75-78.
- Loh, L. C., J. J. Hamm, et E. S. Huang. 1981. Spodoptera frugiperda nuclear polyhedrosis virus genome: physical maps for restriction endonucleases Bam HI and Hind III. J. Virology 38: 922-931.
- Loke, W. H., T. R. Ashley, et R. I. Sailer. 1983. Influence of fall armyworm, Spodoptera frugiperda, (Lepidoptera: Noctuidae) larvae and corn plant damage on host finding in Apanteles marginiventris (Hymenoptera: Braconidae). Environ. Entomol. 12: 911-915.
- Longworth, J. F., et G. P. Carey. 1980. The use of an indirect enzyme-linked immunosorbent assay to detect Baculovirus in larvae and adults of Oryctes rhinoceros from Tonga. J. Gen. Virology 47: 431-438.
- Lunginbill, P. 1928. The fall armyworm. USDA Tech. Bull. 34: 91 p.
- Lynch, R. E. 1984. Effects of "coastal" bermudagrass fertilization levels and age of regrowth on fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae): larval biology and adult fecundity. J. Econ. Entomol. 77: 948-953.
- Lynch, R. E., P. B. Martin, et J. W. Garner. 1980. Cultural manipulation of coastal bermudagrass to avoid losses from the fall armyworm. Fla. Entomol. 63: 411-419.
- Ma, M., J. K. Burkholder, R. E. Webb, et H. T. Hsu. 1984. Plastic-bead ELISA: an inexpensive epidemiological tool for detecting gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) nuclear polyhedrosis virus. J. Econ. Entomol. 537-540.

- McClanahan, R. J. 1978.** Toxicity of insecticides to larvae of the fall armyworm, Spodoptera frugiperda. Proc. Entomol. Soc. Ontario 109: 61-63.
- McLaughlin, R. E., G. Andrews, et M. R. Bell. 1971.** Field tests for control of Heliothis spp. with a nuclear polyhedrosis virus included in a boll weevil bait. J. Invertebr. Pathol. 18: 304-305.
- McMillian, W. W., M. C. Bowman, R. L. Burton, K. J. Starks, et B. R. Wiseman. 1969.** Extract of chinaberry leaf as a feeding deterrent and growth retardant for larvae of the corn earworm and fall armyworm. J. Econ. Entomol. 62: 708-710.
- McMillian, W. W., et K. J. Starks. 1966.** Feeding response of some noctuid larvae (Lepidoptera) to plant extracts. An. Entomol. Soc. America 59: 516- 519.
- McMillian, W. W., et K. J. Starks. 1967.** Greenhouse and laboratory screening of sorghum lines for resistance to fall armyworm larvae. J. Econ. Entomol. 60: 1462-1463.
- McMillian, W. W., K. J. Starks, et M. C. Bowman. 1966.** Use of plant parts as food by larvae of the corn earworm and fall armyworm. An. Entomol. Soc. America 59: 863-864.
- Mahadeo, C. R. 1977.** Trinidad- Mocis latipes and Spodoptera frugiperda on sugarcane. FAO Plant Protection Bull. 25: 211-212.
- Marston, N. L., G. T. Schmidt, K. D. Biever, et W. A. Dickerson. 1978.** Reaction of five species of soybean caterpillars to attack by the predator, Podisus maculiventris. Environ. Entomol. 7: 53-56.
- Marston, N. L., G. D. Thomas, C. M. Ignoffo, M. R. Gebhardt, D. L. Hostetter, et W. A. Dickerson. 1979.** Seasonal cycles of soybean arthropods in Missouri: effect of pesticidal and cultural practices. Environ. Entomol. 8: 165-173.
- Martignoni, M. E. 1964.** Progressive nucleopolyhedrosis in adults of Peridroma saucia (Hübner). J. Insect Pathol. 6: 368-372.

- Martignoni, M. E., et M. J. Iwai. 1977.** Thermal inactivation characteristics of two strains of nuclear polyhedrosis virus (Baculovirus subgroup A) pathogenic for Orgyia pseudotsugata. J. Invertebr. Pathol. 30: 255-262.
- Martignoni, M. E., et M. J. Iwai. 1981.** A catalogue of viral diseases of insects, mites and ticks. In "Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980". Ac. Press, H. D. Burgess Ed.: 897-911.
- Martignoni, M. E., et M. J. Iwai. 1985.** Laboratory evaluation of new ultraviolet absorbers for protection of douglas-fir tussock moth (Lepidoptera: Lymantriidae) Baculovirus. J. Econ. Entomol. 78: 982-987.
- Maruniak, J. E., S. E. Brown, et D. L. Knudson. 1984.** Physical maps of SfMNPV Baculovirus DNA and its genomic variants. Virology 136: 221-234.
- Matthews, R. E. F. 1982.** Classification and nomenclature of viruses. Fourth report of the international comitee on taxonomy of viruses. Intervirology 17: 199 p.
- Merdan, A., L. Croizier, J. C. Veyrunes, et G. Croizier. 1977.** Etude comparée des protéines des polyèdres et des virions de trois isolats de Baculovirus de Spodoptera littoralis. Entomophaga 22: 413-420.
- Metcalf, C. L., et W. P. Flint. 1939.** Destructive and useful insects. McGrawhill Ed. N.Y.: 981 p.
- Miller, J. C. 1980.** Niche relationships among parasitic insects occurring in a temporary habitat. Ecology 61: 270-275.
- Mitchell, E. R. 1979.** Preface to the fall armyworm symposium. Fla. Entomol. 62: 81.
- Mitchell, E. R., A. H. Baumhover, et M. Jacobson. 1976.** Reduction of mating potential of male Heliothis spp. and Spodoptera frugiperda in field plots treated with disruptants. Environ. Entomol. 5: 484-486.
- Mitchell, E. R., W. W. Copeland, et A. N. Sparks. 1974.** Fall armyworm: nocturnal activity of adult males as indexed by attraction to virgin females. J. Georgia Entomol. Soc. 9: 145-146.

- Mitchell, E. R., W. W. Copeland, A. N. Sparks, et A. A. Sekul. 1974.** Fall armyworm: disruption of pheromone communication with synthetic acetates. *Environ. Entomol.* 3: 778-780.
- Monsarrat, P. 1978.** Contribution à l'étude du virus d'Oryctes rhinoceros L. et de son impact écologique. Thès. Univ. Montpellier: 209 p.
- Montaya, E. L., C. M. Ignoffo, et R. L. McGarr. 1966.** A feeding stimulant to increase effectiveness of, and a field test with, a nuclear polyhedrosis virus of Heliothis. *J. Invertebr. Pathol.* 8: 320-324.
- Moore, N. F., J. C. Moore, et D. C. Kelly. 1984.** Lipids of nuclear polyhedrosis viruses. *Microbiologia* 7: 267-272.
- Mukerji, M. K., et E. J. Leroux. 1969.** A quantitative study of food consumption and growth of Podisus maculiventris (Hemiptera: Pentatomidae). *Can. Entomol.* 101: 387-403.
- NASA. 1978.** Reports from workshop groups: Pest management. In "Radar, insect population ecology, and pest management". Nasa conference publication 2070: 199-203.
- Navas, D. 1971.** Efectos de las infestaciones de campo de Spodoptera frugiperda (J. E. Smith) en los rendimientos del arroz. *Progresos Labores Invest. Agropecu. 1970. Fac. Agron. Univ. Panama:* 131-143.
- Neder de roman, L. E., et M. G. Arce de hamity. 1982.** Factores que incidem en las fluctuaciones poblacionales de Acyrtosiphum pisum (Harris) en zonas de la Quebrada de Humahuaca (Jujuy) (Homoptera: Aphididae). *Neotropica* 28: 75-82.
- Neelgund, Y. F., et S. B. Mathad. 1978.** Transmission of nuclear polyhedrosis virus in laboratory population of the armyworm, Mythimna (Pseudaletia) separata. *J. Invertebr. Pathol.* 31: 143-147.
- Onodera, K., T. Komano, M. Himeno, et F. Sakai. 1965.** The nucleic acid of nuclear polyhedrosis virus of the silkworm. *J. Mol. Biol.* 13: 532-539.
- Ortega, A. 1974.** Maize insects and diseases. In "Proceedings World Wild Maize Improvements in the 70's and the Role for CIMMYT", Chap. 7: 41 p.

- Osman, A. A., et A. H. Rasmy. 1980.** The role of alfalfa in dispersing tetranychid mites to other crops. *Bull. Entomol. Soc. Egypt.* 60: 279-283.
- Osorio, A. F. 1951.** Las principales plagas del maiz encontradas en los campos experimentales de la Comission del Maiz durante 1950. *Foll. Misc. Sec. Agric. Mex.* 4: 30-34.
- Painter, R. H. 1955.** Insects on corn and teosinte in Guatemala. *J. Econ. Entomol.* 48: 36-42.
- Patel, P. N., et M. E. M. Habib. 1979.** Ocorrencia natural de Aspergillus parasiticus em populações de Spodoptera frugiperda (Abbot et Smith, 1797) (Lepidoptera, Noctuidae) e sua transmissao por insetos parasitos. *Rev. Agric., Piracicaba, Brazil* 57: 223-232.
- Pawar, V. M., U. M. Waghmare, et G. G. Bilapate. 1981.** Studies on nuclear polyhedrosis virus infections in Heliothis armigera (Hübner) and Trichoplusia ni (Fabricius). *J. Entomol. Res.* 5: 147-151.
- Payment, P., D. J. S. Arora, et S. Belloncik. 1982.** An enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of cytoplasmic polyhedrosis virus. *J. Invertebr. Pathol.* 40: 55-60.
- Pears, F. B., et J. L. Saunders. 1978.** The fall armyworm, Spodoptera frugiperda (J. E. Smith): a review. *Ceiba* 25: 93-113.
- Pencoe, N. L., et P. B. Martin. 1981.** Development and reproduction of fall armyworm on several wild grasses. *Environ. Entomol.* 10: 999-1002.
- Penman, D. R., B. H. Rohitha, J. G. H. White, et B. M. Smallfield. 1979.** Control of Bluegreen lucerne aphid by grazing management. In "Proceedings of the thirty-second New Zealand weed and pest control conference". Dunedin 1979. 336 p.
- Pereira, H. L. 1971.** A lagarta Spodoptera frugiperda (Smith e Abbot, 1797) nos algodoais do Parana. *Arquivos. Biol. Tecnol. (Sao Paulo)* 14: 6-7.
- Pesson, P. 1973.** La circulation des polluants dans l'atmosphère. *Econ. Méd. An.* 14: 3-10.

- Pimentel, D., et M. Shapiro. 1962. The influence of environment on a virus-host relationship. J. Insect Pathol. 4: 77-87.
- Pitre, H. N. 1979. Fall armyworm on sorghum: other hosts. Miss. Agric. For. Exp. Sta. Bull. 876: 12 p.
- Pitre, H. N., et D. B. Hogg. 1982. Development of the fall armyworm on cotton, soybean and corn. J. Georgia Entomol. Soc. 18: 182-187.
- Pitre, H. N., J. E. Mulrooney, et D. B. Hogg. 1983. Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) oviposition: crop preferences and egg distribution on plants. J. Econ. Entomol. 76: 463-466.
- Plan régional de développement économique, social et culturel IX^{ème} plan 1984-1988. 1984. Conseil régional de la Guyane Ed.: 87 p.
- Podgwaite, J. D., K. S. Shields, R. T. Zerillo, et R. B. Bruen. 1979. Environmental persistence of the nucleopolyhedrosis virus of the gypsy moth, Lymantria dispar. Environ. Entomol. 8: 528-536.
- Poinar, G. O. Jr, et G. M. Thomas. 1978. Diagnostic manual for the identification of insect pathogens. Plenum Press Ed. 218 p.
- Poitout, H. S., et R. Bues. 1974. Elevage de plusieurs espèces de lépidoptères Noctuidae sur milieu artificiel riche et sur milieu artificiel simplifié. Ann. Zool. Ecol. Anim. 2: 79-91.
- Ponsen, M. B., S. Henstra, et C. Van Der Scheer. 1965. Electron microscope observations on the structure of membranes from nuclear polyhedral viruses. Neth. J. Plant Pathol. 70: 101-104.
- Propp, G. D. 1982. Functional response of Nabis americanoferus to two of its prey, Spodoptera exigua and Lygus hesperus. Environ. Entomol. 11: 670-674.
- Pruess, K. P.; K. M. L. Saxena, et S. Koinsan. 1977. Quantitative estimation of alfalfa insect populations by removal sweeping. Environ. Entomol. 6: 705-708.
- Raharizonina, P. E. 1979. Recherches sur la biologie et la pathologie d'Europtera punctillata Saalmuller, Lepidoptera, Lasiocampidae ravageur endémique du pin à Madagascar. Thès. Univ. Montpellier: 202 p.

Rai, B. K. 1973. Spodoptera frugiperda: chemical control in paddy by using ultra-low-volume drift spraying. J. Econ. Entomol. 66: 1287-1289.

Raimo, B., R. C. Reardon, et J. D. Podgwaite. 1977. Vectoring gypsy moth nuclear polyhedrosis virus by Apanteles melanoscelus (Hym: Braconidae). Entomophaga 22: 207-215.

Ranjakason. 1985. Contribution à l'étude de la potentialisation du pouvoir pathogène du Baculovirus de Spodoptera littoralis Boisd. (Lépidoptère: Noctuidae) par des pyréthrinoïdes photostables utilisés à doses réduites. Thès. Univ. Paris VI: 139 p.

Reichelderfer, C. F., et C. V. Benton. 1973. The effect of 3-methylcholanthrene treatment on the virulence of a nuclear polyhedrosis virus of Spodoptera frugiperda. J. Invertebr. Pathol. 22: 38-41.

Reimann, A., et H. G. Miltenburger. 1982. Cytogenetic studies in mammalian cells after treatment with insect pathogenic viruses (Baculoviridae). I. In vivo studies with rodents. Entomophaga 27: 267-276.

Reimann, A., et H. G. Miltenburger. 1983. Cytogenetic studies in mammalian cells after treatment with insect pathogenic viruses (Baculoviridae). II. In vitro studies with mammalian cell lines. Entomophaga 28: 33-44.

Remillet M., J. F. Silvain, et G. Tavakilian. 1982. L'entomofaune des graminées fourragères en Guyane française. In "Proc. XVIII^{ème} congrès CFCS 1982": 9 p.

Résultats du recensement de la population des départements d'outre-mer. 1983. INSEE Ed.: 264 p.

Richter, A. R., et J. R. Fuxa. 1984. Timing, formulation, and persistence of a nuclear polyhedrosis virus and a microsporidium for control of the velvetbean caterpillar (Lepidoptera: Noctuidae) in soybeans. J. Econ. Entomol. 77: 1299-1306.

Roberts, J. E. 1965. The effects of larval diet on the biology and susceptibility of the fall armyworm Laphygma frugiperda (J. E. Smith) to insecticides. Ga. Agric. Exp. Sta. Tech. Bull. 44: 22 p.

Roberts, S. J., E. J. Armbrust, et D. K. Sell. 1972. Supercooling points of several species of Lepidoptera found on soybeans. Environ. Entomol. 1: 671-672.

Rohlf's III, W. A., et T. P. Mack. 1984. Functionnal response of Ophion flavidus Brulle (Hymenoptera: Ichneumonidae) females to various densities of fall armyworm (Spodoptera frugiperda J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Environ. Entomol. 13: 708-711.

Rose, A. H., R. H. Silversides, et O. H. Lindquist. 1975. Migration flight by an aphid, Ropalosiphum maidis (Hemiptera: Aphididae), and a noctuid, Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae). Can. Entomol. 107: 567-576.

Rud, E. W., et S. Belloncik. 1984. Efficacity of combinations of polyhedrosis viruses and permethrin against the white cutworm, Euxoa scandens (Riley) (Lepidoptera: Noctuidae). J. Econ. Entomol. 77: 989-994.

Ruppel, R. F., G. Benavides, Marcial, et A. Saldarriaga. 1957. Chemical control of the fall armyworm, Laphygma frugiperda (S.), in maize in Colombia. FAO Plant Protection Bull. 5: 69-74.

Ryder, W. D. 1968. Spodoptera frugiperda (J. E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae) en el maiz en Cuba: su potencialidad nociva y la eficacia de distintos tiempos de aplicacion de DDT para su control. Rev. Cub. Cienc. Agric. 2: 137-146.

Sales, F. J. M. 1981. Interferancia da lagarta da folha do milho na producao de milho, nota previa. Fitossanidade, Fortaleza 5: 57-58.

Salvadori, J. R., et M. Rumiatto. 1982. Observacoes sobre a biologia de Spodoptera frugiperda (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera-Noctuidae) em trigo. Embrapa, Comunicado tecnico 8: 1-6.

Santiago-Blay, J. A. 1983. Plumeria rubra: a new host plant record of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) in Puerto Rico. Fla. Entomol. 66: 359.

Saugstad, E. S., R. A. Bram, et W. E. Nyquist. 1967. Factors influencing sweep-net sampling on alfalfa. J. Econ. Entomol. 60: 421-425.

Schwehr, R. D., et W. A. Gardner. 1982. Disease incidence in fall armyworm and corn earworm populations attacking grain sorghum. J. Georgia Entomol. Soc. 17: 38-46.

Senst, K. M., et R. C. Berberet. 1980. Effects of winter grazing on dormant alfalfa stands on populations of Hypera postica (Gyllenhal) (Coleoptera: Curculionidae) and its parasite Blathyplectes curculionis (Thomson) (Hymenoptera, Ichneumonidae). J. Kansas Entomol. Soc. 53: 230-324.

Severini, M. 1985. Contribution à l'étude de la multiplication de baculovirus de Spodoptera frugiperda (Smith) (Lepidoptère: Noctuidae). Memoire DESS: 50 p.

Shapiro, M., P. P. Agin, et R. A. Bell. 1983. Ultraviolet protectants of the gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) nucleopolyhedrosis virus. Environ. Entomol. 12: 982-985.

Shapiro, M., et R. A. Bell. 1982. Enhanced effectiveness of Lymantria dispar (Lepidoptera: Lymantriidae) nucleopolyhedrosis virus formulated with boric acid. Ann. Entomol. Soc. Am. 75: 346-349.

Shapiro, M., et R. A. Bell. 1984. Selection of UV-tolerant strain of the gypsy moth, Lymantria dispar (L.) (Lepidoptera: Lymantriidae), nucleopolyhedrosis virus. Environ. Entomol. 13: 1522-1526.

Sheets, T. J., W. V. Campbell, et R. B. Leidy. 1982. Fall armyworm control and residues of methomyl on coastal bermudagrass. J. Agric. Food Chem. 30: 532-536.

Shenk, M., et J. L. Saunders. 1984. Vegetation management systems and insect responses in the humid tropics of Costa Rica. Trop. Pest Manage. 30: 186-193.

- Sherman, F., et R. W. Leiby. 1918. The fall armyworm. North Carolina Agric. Exp. Sta. Cir. 79: 4 p.
- Shoemaker, C. A., et D. W. Onstad. 1983. Optimization analysis of the integration of biological, cultural, and chemical control of alfalfa weevil (Coleoptera: Curculionidae). Environ. Entomol. 12: 286-295.
- Sikorowski, P. P., J. R. Broome, et G. L. Andrews. 1971. Simple methods for detection of cytoplasmic polyhedrosis virus in Heliothis virescens. J. Invertebr. Pathol. 17: 451-452.
- Silvain, J. F., et J. Ti A Hing. 1985. Prediction of larval infestation in pasture grasses by Spodoptera frugiperda from estimates of adult abundance. In Press.
- Silviera Neto, S., F. M. Lara, T. Igue, et C. A. B. Carrao. 1977. Periodicidade de voo de alguns noctuideos pragas determinada com armadilha luminosa automatica. Anais Soc. Entomol. Brazil 4: 3-11.
- Simmons, C. L., et P. Sikorowski. 1973. A laboratory study of the effect of cytoplasmic polyhedrosis virus on Heliothis virescens (Lepidoptera: Noctuidae). J. Invertebr. Pathol. 22: 369-371.
- Simonet, D. E., et R. L. Pienkowski. 1979. Impact of alfalfa harvest on potato leafhopper populations with emphasis on nymphal survival. J. Econ. Entomol. 72: 428-431.
- Simonet, D. E., R. L. Pienkowski, D. G. Martinez, et R. D. Blakeslee. 1979. Evaluation of sampling techniques and development of a sampling program for potato leafhopper adults on alfalfa. Environ. Entomol. 8: 397-399.
- Sloderbeck, P. E., et K. V. Yeargan. 1983. Comparison of Nabis americanoferus and Nabis roseipennis (Hemiptera: Nabidae) as predators of the green cloverworm (Lepidoptera: Noctuidae). Environ. Entomol. 12: 161-165.
- Smirnoff, W. A. 1959. Predators of Neodiprion swainei Midd. (Hymenoptera: Tenthredinidae) larval vectors of virus diseases. Can. Entomol. 91: 246-248.

Smirnoff, W. A. 1962. Transovum transmission of virus of Neodiprion swainei Middleton (Hymenoptera: Tenthrenidae). J. Insect Pathol. 4: 192-200.

Smirnoff, W. A. 1967. A method for detecting viral infection in populations of Neodiprion swainei by examination of pupae and adults. Can. Entomol. 99: 214-216.

Smith, D. B., D. L. Hostetter, R. E. Pinnell, et C. M. Ignoffo. 1982. Laboratory studies of viral adjuvants: formulation development. J. Econ. Entomol. 75: 16-20.

Smith, G. E., et M. D. Summers. 1978. Analysis of Baculovirus genomes with restriction endonucleases. Virology 89: 517-527.

Smith, K. M. 1976. Virus-Insect relationships. Longman Ed.: 291 p.

Smith, R. C. 1927. Alfalfa production in Kansas. Kansas Agric. Exp. Sta. Bull. 242: 36-40.

Snow, J. W., et W. W. Copeland. 1969. Fall armyworm: use of virgin female traps to detect males and to determine seasonal distribution. USDA Prod. Res. Rep. 110: 9 p.

Snow, J. W., J. R. Young, et R. L. Jones. 1970. Competitiveness of sperm in female fall armyworms mating with normal and chemosterilized males. J. Econ. Entomol. 63: 1799-1802.

Snow, J. W., J. R. Young, W. J. Lewis, et R. L. Jones. 1972. Sterilization of adult fall armyworms by gamma irradiation and its effect on competitiveness. J. Econ. Entomol. 65: 1431-1433.

Sparks, A. N. 1979. A review of the biology of the fall armyworm. Fla. Entomol. 62: 82-87.

Stacey, A. L., W. C. Yearian, et S. Y. Young. 1977. Evaluation of Baculovirus heliothis with feeding stimulants for control of Heliothis larvae on cotton. J. Econ. Entomol. 70: 779-784.

Stairs, G. R. 1972. Pathogenic microorganisms in the regulation of forest insect populations. Annu. Rev. Entomol. 17: 355-372.

Stairs, G. R. 1978. Effects of temperature on the rate of development of Galleria mellonella and its specific Baculovirus. Environ. Entomol. 7: 297-299.

Stairs, G. R., et S. E. Milligan. 1979. Effects of heat on nonoccluded nuclear polyhedrosis virus (Baculovirus) from Galleria mellonella larvae. Environ. Entomol. 8: 756-759.

Starrat, A. N., et D. G. R. McLeod. 1982. Monitoring fall armyworm, Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae), moth populations in southwestern Ontario with sex pheromon traps. Can. Entomol. 114: 545-549.

Steinhaus, E. A. 1957. New records of insect-virus diseases. Hilgardia 26: 417-430.

Steinhaus, E. A., et J. P. Dineen. 1960. Observations on the role of stress in a granulosis of the variegated cutworm. J. Insect Pathol. 2: 55-65.

Stelzer, M. J., J. Neisess, J. C. Cunningham, et J. R. McPhee. 1977. Field evaluation of baculovirus stocks against douglas-fir tussock moth in British colombia. J. Econ. Entomol. 70: 243-246.

Stelzer, M. J., J. Neisess, et C. G. Thompson. 1975. Aerial application of a nuclear polyhedrosis virus and Bacillus thuringiensis against the douglas-fir tussock moth. J. Econ. Entomol. 68: 269-272.

Stoltz, R. L., et C. D. McNeal Jr. 1982. Assessments of insect emigration from alfalfa hay to bean fields. Environ. Entomol. 11: 578-580.

Summers, C. G. 1976. Population fluctuations of selected arthropods in alfalfa: influence of two harvesting practices. Environ. Entomol. 5: 103-110.

Summers, M. D., et D. L. Anderson. 1972. Characterisation of deoxyribonucleic acid isolated from the granulosis viruses of the cabbage looper, Trichoplusia ni and the fall armyworm, Spodoptera frugiperda. Virology 50: 459-471.

- Summers, M. D., et D. L. Anderson. 1973. Characterisation of nuclear polyhedrosis virus DNAs. *J. Virology* 12: 1336-1346.
- Summers, M. D., et G. E. Smith. 1975. Trichoplusia ni granulosis virus granulin: a phenol soluble, phosphorylated protein. *J. Virology* 16: 1108-1116.
- Summers, M. D., et G. E. Smith. 1976. Comparative studies of Baculovirus granulins and polyhedrins. *Intervirology* 6: 168-180.
- Szalay-Marzo, L., et C. Vago. 1975. Transmission of Baculovirus by mites. Study of granulosis virus of codling moth (Laspeyresia pomonella L.). *Acta Phytopatol. Acad. Sc. Hungaricae*. 10: 113-122.
- Tanada, Y. 1965. Factors affecting the susceptibility of insects to viruses. *Entomophaga* 10: 139-150.
- Tanada, Y., et R. T. Hess. 1984. The cythopathology of Baculovirus infections in insects. In "Insect ultrastructure 2". R. C. King et H. Akai Eds.: 517-556.
- Tanada, Y., et E. M. Omi. 1974. Persistence of insect viruses in field populations of alfafa insects. *J. Invertebr. Pathol.* 23: 360-365.
- Tanada, Y., et A. N. Tanabe. 1965. Resistance of Galleria mellonella (Linnaeus) to tipula iridescent virus at high temperatures. *J. Invertebr. Pathol.* 7: 184-188.
- Tarche, M. 1985. L'agriculture guyanaise. Bilan et perspectives. In "Les dossiers de l'outre-mer: Guyane" 81: 8-13.
- Tatchell, G. M. 1981. The transmission of a granulosis virus following the contamination of Pieris brassicae adult. *J. Invertebr. Pathol.* 37: 210-213.
- Teague, T. G., et J. R. Phillips. 1982. Kairomonal activity of Elcar and its effect upon host searching of Microplitis croceipes (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae). *Environ. Entomol.* 11: 1151-1153.
- Teakle, R. E., J. M. Jensen, et J. C. Mulder. 1985. Susceptibility of Heliothis armiger (Lepidoptera: Noctuidae) on sorghum to nuclear polyhedrosis virus. *J. Econ. Entomol.* 78: 1373-1378.

- Thompson, C. G. 1959. Thermal inhibition of certain polyhedrosis virus diseases. J. Insect Pathol. 1: 189-192.
- Thompson, C. G., D. W. Scott, et B. E. Wickman. 1981. Long-term persistence of the nuclear polyhedrosis virus of the douglas-fir-tussock moth, Orgyia pseudotsugata (Lepidoptera: Lymantriidae), in forest soil. Environ. Entomol. 10: 254-255.
- Thomson, M. S., et J. N. All. 1979. A flag sampling method for fall armyworm oviposition. Proc. S. E. Entomol. Soc. Amer. 53: 10.
- Thomson, M. S., et J. N. All. 1982. Oviposition by the fall armyworm onto stake flags and the influence of flag color and height. J. Georgia Entomol. Soc. 17: 206-210.
- Thomson, M. S., et J. N. All. 1984. The use of oviposition on artificial substrates as a survey tool for the fall armyworm. Fla. Entomol. 67: 349-357.
- Timans, V. U. 1982. Zur wirkung von UV-strahlen auf das kernpolyedervirus des schwammspinners, Lymantria dispar L. (Lep., Lymantriidae). Sonderdruck aus Bd. 94, H.4, S: 382-401.
- Tingle, F. C., et E. R. Mitchell. 1975. Capture of Spodoptera frugiperda and Spodoptera exigua in pheromon traps. J. Econ. Entomol. 68: 613-615.
- Tinsley, T. W. 1978. Use of insect pathogenic viruses as pesticidal agents. In "Perspectives in virology vol. 10". M. Pollard Ed.: 199-210.
- Todd, E. L., et R. W. Poole. 1980. Keys and illustrations for the armyworm moths of the noctuid genus Spodoptera Guenée from the western hemisphere. Ann. Entomol. Soc. Am. 73: 722-738.
- Todd, J. W., et E. F. Suber. 1980. Summary of economic losses due to insect damage and costs of control in Georgia, 1977. Univ. Ga. Coll. Agric. Exp. Sta. Spec. Publ. 8: 49 p.
- Tweeten, K. A., L. A. Bulla, Jr., et R. A. Consigli. 1980. Characterization of an extremely basic protein derived from granulosis virus nucleocapsid. J. Virology 33: 866-876.

Urich, F. W. 1915. Insects affecting the sugarcane in Trinidad and Tobago. Bull. Dept. Agric. Trinidad et Tobago 14: 156-161.

Vago, C. 1963. Predispositions and interrelations in insect diseases. In "Insect pathology-an advanced treatise". E. A. Steinhaus Ed.: 339-379.

Vago, C., et A. Amargier. 1963. Coloration histologique pour la différenciation des corps d'inclusion polyédriques des virus d'insectes. Ann. Epiphyt. 14: 269-274.

Vago, C., J. Fosset, et M. Bergoin. 1966. Dissémination des virus de polyédries par les éphippigères prédateurs d'insectes. Entomophaga 11: 177-182.

Vago, C., J. M. Quiot, D. Vinckier, J. L. Duthoit, G. Meynadier, et M. Injac. 1970. Etude des corps d'inclusion polyédriques des viroses d'invertébrés en microscopie électronique à balayage. C. R. Acad. Sc. 271: 1053-1055.

Vail, P. V., et D. Gough. 1970. Effects of cytoplasmic-polyhedrosis virus on adult cabbage loopers and their progeny. J. Invertebr. Pathol. 15: 397-400.

Vail, P. V., et I. M. Hall. 1969. The influence of infections of nuclear-polyhedrosis virus on adult cabbage loopers and their progeny. J. Invertebr. Pathol. 13: 358-370.

Van den Bosch, R., et V. M. Stern. 1969. The effect of harvesting practices on insect populations in alfalfa. Proc. Tall Timbers Conf. Ecol. Anim. Cont. by Habitat Managem. 1: 47-51.

Van Dinther, J. B. M. 1955. Laphygma frugiperda S.& A., et Mocis repanda F. in Suriname. Entomol. Berichten 15: 107-111.

Van Dinther, J. B. M. 1956. Soybean insects. Entomol. Berichten 16: 104-109.

Van Huis, A. 1981. Integrated pest management in the small farmer's maize crop in Nicaragua. H. Veenman et B. V. Zonen Eds. Wageningen: 222 p.

- Van Waddill, H., et W. H. Whitcomb. 1982.** Release of Telenomus remus (Hym. Scelionidae) against Spodoptera frugiperda (Lep. Noctuidae) in Florida, U.S.A. Entomophaga 27: 159-162.
- Velez, C. M., et A. J. A. Sifuentes. 1967.** El guzano cogollero del maiz: su combate con insecticidas granulados en el valle Apatzingan, Mich. Agric. Tec. Mex. 2: 315-317.
- Versoi, P. L., et W. G. Yendol. 1982.** Discrimination by the parasite, Apanteles melanoscelus between healthy and virus-infected gypsy moth larvae. Environ. Entomol. 11: 42-45.
- Vickery, R.A. 1929.** Studies on the fall armyworm in the gulf coast district of Texas. USDA Tech. Bull. 138: 64 p.
- Vivier, M., et O. Coppry. 1984.** Les productions fourragères en Guyane française. In "Les Colloques de l'INRA n°24": 167-185.
- Volkman, L. E., et L. A. Falcon. 1982.** Use of monoclonal antibody in an enzyme-linked immunosorbent assay to detect the presence of Trichoplusia ni (Lepidoptera: Noctuidae) s nuclear polyhedrosis virus polyhedrin in T. ni larvae. J. Econ. Entomol. 75: 868-871.
- Walker, S., C. Y. Kawanishi, et J. J. Hamm. 1982.** Cellular pathology of a granulosis virus infection. J. Ultrastructure Res. 80: 163-177.
- Wallner, W. E., N. R. Dubois, et P. S. Grinberg. 1983.** Alteration of parasitism by Rogas lymantriae (Hymenoptera: Braconidae) in Bacillus thuringiensis-stressed gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) hosts. J. Econ. Entomol. 76: 275-277.
- Walton, W. R., et P. Lunginbill. 1917.** Farmer's bull. 252 USDA: 16 p.
- Watanabe, S. 1951.** Studies on the grasserie virus of the silkworm Bombyx mori : physical and chemical effects upon the virus. Japanese J. Exp. Med. 21: 299-313.
- Wilson, L. T., et A. P. Gutierrez. 1980.** Within-plant distribution of predators on cotton: comments on sampling and predator efficiencies. Hilgardia 48: 3-11.

- Wilson, R. L., et R. L. Burton. 1980.** Feeding and oviposition of selected insect pests on proso millet cultivars. *J. Econ. Entomol.* 73: 817-819.
- Wiseman, B. R., et F. M. Davis. 1979.** Plant resistance to the fall armyworm. *Fla. Entomol.* 62: 123-130.
- Wiseman, B. R., F. M. Davis, et W. P. Williams. 1983.** Fall armyworm: larval density and movement as an indication of nonpreference in resistant corn. *Prot. Ecol.* 5: 135-141.
- Wiseman, B. R., et L. Gourley. 1982.** Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae): infestation procedures and sorghum resistance evaluations. *J. Econ. Entomol.* 75: 1048-1051.
- Wiseman, B. R., R. C. Gueldner, et R. E. Lynch. 1982.** Resistance in common centipede grass to the fall armyworm. *J. Econ. Entomol.* 75: 245-247.
- Wiseman, B. R., C. E. Wassom, et R. H. Painter. 1967.** An unusual habit to measure differences in damage to 81 latin-american lines of corn by the fall armyworm, Spodoptera frugiperda (J. E. Smith). *Agron. J.* 59: 279-281.
- Wolcott, G. N. 1948.** The insects of Puerto-Rico. Lepidoptera: Noctuidae. *J. Agric. Univ. Puerto-Rico* 32: 581-624.
- Wolfenbarger, D. A., E. Cantu, P. D. Lingren, et A. A. Guerra. 1974.** Activity of chlordimeform-HCl and chlordimeform against arthropods attacking cotton. *J. Econ. Entomol.* 67: 445-446.
- Xande A., et M. Vivier. 1984.** Valeur alimentaire des fourrages cultivés en Guyane. In "Les Colloques de l'INRA n°24": 187-201.
- Yamafuji, K., F. Hashinaga, et T. Fujo. 1966.** Isolation et identification of polyhedral previral DNA from healthy silkworms cell. *Enzymol.* 31: 92-104.

Yaseen, M. F. D. Bennett, et R. M. Barrow. 1981. Introduction of exotic parasites for control of Spodoptera frugiperda in Trinidad, the Eastern Caribbean and Latin America. In "Urgent plant pest and disease problems in the caribbean" C. W. D. Brathwaite et G. V. Pollard Eds.: 161-171.

Yearian, W. C., et S. Y. Young. 1974. Persistence of Heliothis polyhedrosis virus on cotton plant parts. Environ. Entomol. 3: 1035-1036.

Young, J. R. 1979a. Fall armyworm: control with insecticides. Fla. Entomol. 62: 130-133.

Young, J. R. 1979b. Assessing the movement of the fall armyworm (Spodoptera frugiperda) using insecticide resistance and wind patterns. In "Movement of highly mobile insects: concept and methodology in research". R. L. Rabb et G. G. Kennedy Eds: 344-353.

Young, J. R., et H. C. Cox. 1965. Evaluation of apholate and tepa as chemosterililants for the fall armyworm. J. Econ. Entomol. 58: 883-888.

Young, J. R., et J. J. Hamm. 1966. Nuclear-polyhedrosis viruses in control of corn earworm and fall armyworm in sweet corn. J. Econ. Entomol. 59: 382-384.

Young, J. R., et W. W. McMillian. 1979. Differential feeding by two strains of fall armyworm larvae on carbaryl treated surfaces. J. Econ. Entomol. 72: 202-203.

Young, J. R., J. W. Snow, et A. N. Sparks. 1968. Mating of untreated and tepa-chemosterilized fall armyworm moths. J. Econ. Entomol. 61:657-661.

Young, S. Y., et W. C. Yearian. 1974. Persistence of Heliothis NPV on foliage of cotton, soybean, and tomato. Environ. Entomol. 3: 253-255.

Zalkow, L. H., M. M. Gordon, et N. Lanir. 1979. Antifeedants from rayless goldenrod and oil of pennyroyal: toxic effects for the fall armyworm. J. Econ. Entomol. 72: 812-815.

Zimmerman, E. C. 1958. Insects of Hawaii. 7: Macrolepidoptera. Univ. Hawaii Press, Honolulu: 542 p.

LISTE DES NOMS DES INSECTES CITES DANS L'OUVRAGE

(avec la synonymie utile)

LISTE DES NOMS DES INSECTES CITES DANS L'OUVRAGE

(avec la synonymie utile)

| GENRE | ESPECE | NOM D'AUTEUR | ORDRE | FAMILLE |
|---------------------|-----------------------|-----------------------------|-------------|---------------------|
| <u>Aedes</u> | <u>aegypti</u> | (Linnaeus) | Diptère | <u>Culicidae</u> |
| <u>Agrotis</u> | <u>ipsilon</u> | (Hufnagel) | Lépidoptère | <u>Noctuidae</u> |
| <u>Agrotis</u> | <u>segetum</u> | (Denis et Shiffermüller) | Lépidoptère | <u>Noctuidae</u> |
| <u>Alabama</u> | <u>argillacea</u> | (Hübner) | Lépidoptère | <u>Noctuidae</u> |
| <u>Anticarsia</u> | <u>gemmatalis</u> | Hübner | Lépidoptère | <u>Noctuidae</u> |
| <u>Autographa</u> | <u>californica</u> | (Speyer) | Lépidoptère | <u>Noctuidae</u> |
| <u>Bombyx</u> | <u>mori</u> | (Linnaeus) | Lépidoptère | <u>Bombycidae</u> |
| <u>Cardiochiles</u> | <u>nigripes</u> | Viereck | Hyménoptère | <u>Braconidae</u> |
| <u>Chilo</u> | <u>sacchariphagus</u> | (Bojer) | Lépidoptère | <u>Pyralidae</u> |
| <u>Cotesia</u> | <u>marginiventris</u> | (Cresson) | Hyménoptère | <u>Braconidae</u> |
| <u>Culex</u> | <u>pipiens</u> | Linnaeus | Diptère | <u>Culicidae</u> |
| <u>Dendrolimus</u> | <u>spectabilis</u> | (Butler) | Lépidoptère | <u>Lymantriidae</u> |
| <u>Galleria</u> | <u>mellonella</u> | (Linnaeus) | Lépidoptère | <u>Pyralidae</u> |
| <u>Heliothis</u> | <u>armigera</u> | (Hübner) | Lépidoptère | <u>Noctuidae</u> |
| <u>Heliothis</u> | <u>virescens</u> | (Fabricius) | Lépidoptère | <u>Noctuidae</u> |
| <u>Heliothis</u> | <u>zea</u> | (Boddie) | Lépidoptère | <u>Noctuidae</u> |
| <u>Lymantria</u> | <u>disper</u> | (Linnaeus) | Lépidoptère | <u>Lymantriidae</u> |
| <u>Mamestra</u> | <u>brassicae</u> | (Linnaeus) | Lépidoptère | <u>Noctuidae</u> |

| GENRE | ESPECE | NOM D'AUTEUR | ORDRE | FAMILLE |
|--------------------|-------------------------|--------------|-------------|----------------------|
| <u>Microplitis</u> | <u>croceipes</u> | (Cresson) | Hyménoptère | <u>Braconidae</u> |
| <u>Mythimna</u> | <u>unipuncta</u> | (Haworth) | Lépidoptère | <u>Noctuidae</u> |
| <u>Nabis</u> | <u>americoferus</u> | Carayon | Hétéroptère | <u>Nabidae</u> |
| <u>Nabis</u> | <u>capsiformis</u> | Germar | Hétéroptère | <u>Nabidae</u> |
| <u>Nabis</u> | <u>ferus</u> | (Linnaeus) | Hétéroptère | <u>Nabidae</u> |
| <u>Nabis</u> | <u>roseipennis</u> | Reuter | Hétéroptère | <u>Nabidae</u> |
| <u>Neodiprion</u> | <u>sertifer</u> | (Geoffroy) | Hyménoptère | <u>Diprionidae</u> |
| <u>Ophion</u> | <u>flavidus</u> | Brulle | Hyménoptère | <u>Ichneumonidae</u> |
| <u>Orgya</u> | <u>pseudotsugata</u> | (McDunnough) | Lépidoptère | <u>Lymantriidae</u> |
| <u>Pieris</u> | <u>brassicae</u> | (Linnaeus) | Lépidoptère | <u>Pieridae</u> |
| <u>Pieris</u> | <u>rapae</u> | (Linnaeus) | Lépidoptère | <u>Pieridae</u> |
| <u>Plathypena</u> | <u>scabra</u> | (Fabricius) | Lépidoptère | <u>Noctuidae</u> |
| <u>Plutella</u> | <u>xylostella</u> | (Linnaeus) | Lépidoptère | <u>Yponomeutidae</u> |
| <u>Podisus</u> | <u>maculiventris</u> | (Say) | Hétéroptère | <u>Pentatomidae</u> |
| <u>Polistes</u> | <u>fuscatus</u> | (Fabricius) | Hyménoptère | <u>Vespidae</u> |
| <u>Polistes</u> | <u>hebraeus</u> | (Fabricius) | Hyménoptère | <u>Vespidae</u> |
| <u>Polistes</u> | <u>sp.</u> | | Hyménoptère | <u>Vespidae</u> |
| <u>Pseudaletia</u> | <u>unipuncta</u> | | | |
| | (voir <u>Mythimna</u>) | | | |
| <u>Pterocera</u> | <u>amplicornis</u> | Walker | Lépidoptère | <u>Anthelidae</u> |
| <u>Spodoptera</u> | <u>eridiana</u> | (Cramer) | Lépidoptère | <u>Noctuidae</u> |
| <u>Spodoptera</u> | <u>exigua</u> | (Hübner) | Lépidoptère | <u>Noctuidae</u> |

| GENRE | ESPECE | NOM D'AUTEUR | ORDRE | FAMILLE |
|-------|------------------------------|---------------|-------------|------------------|
| | <u>Spodoptera frugiperda</u> | (J. E. Smith) | Lépidoptère | <u>Noctuidae</u> |
| | <u>Spodoptera littoralis</u> | (Boisduval) | Lépidoptère | <u>Noctuidae</u> |
| | <u>Spodoptera ochrea</u> | (Hampson) | Lépidoptère | <u>Noctuidae</u> |
| | <u>Spodoptera sunia</u> | (Gueneé) | Lépidoptère | <u>Noctuidae</u> |
| | <u>Trichoplusia ni</u> | (Hübner) | Lépidoptère | <u>Noctuidae</u> |

PLANCHES HORS-TEXTE

PLANCHE I

PRESENTATION DU BIOTOPE ETUDIE

Fig. 1 - Aspect général de la prairie à D. swazilandensis.

Fig. 2 - Présentation de la graminée stolonante
D. swazilandensis.

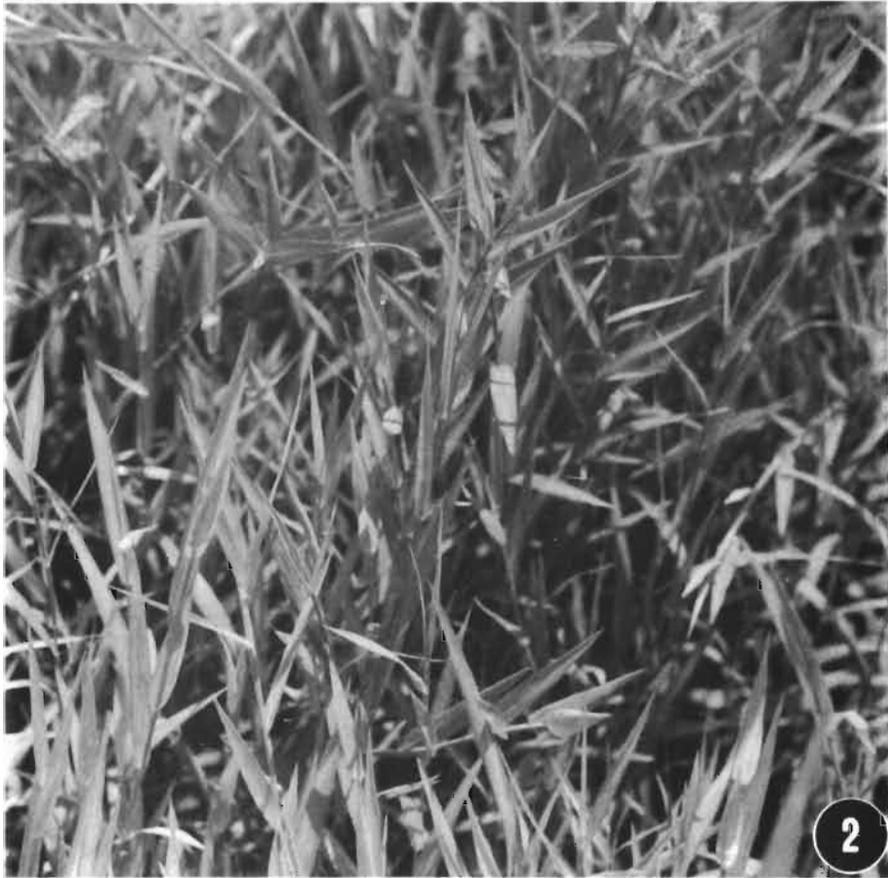
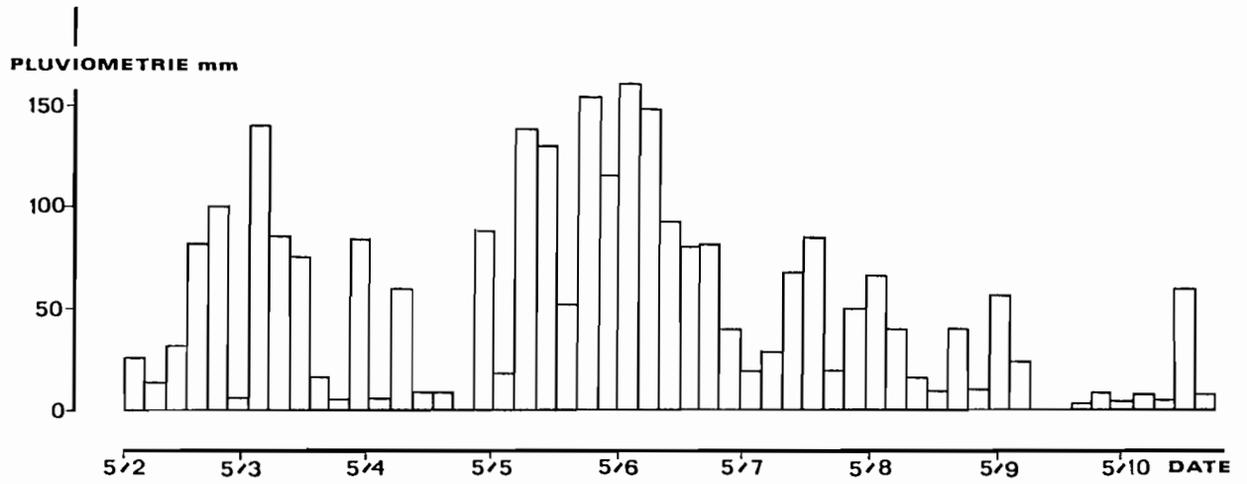


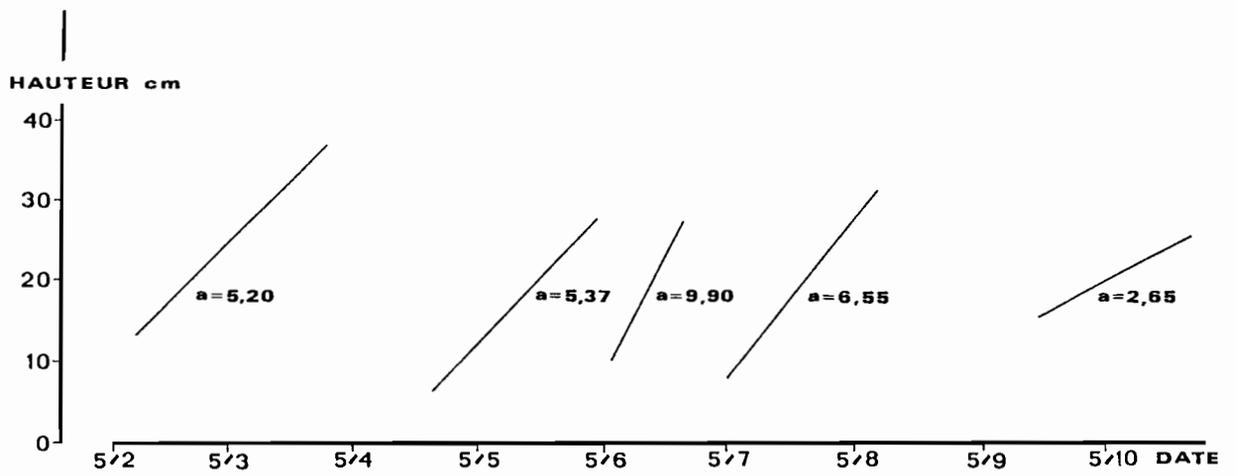
PLANCHE II

Fig. 3 - Evolution de la pluviométrie au cours du temps sur le site expérimental de Matoury du 5/02/85 au 31/10/85.

Fig. 4 - Evolution, au cours de 5 cycles successifs de repousse après pâture de la croissance de la graminée D. swazilandensis. Le coefficient (a) représente la pente de la droite de régression linéaire calculée à partir des valeurs relevées, et correspond à la croissance journalière exprimée en mm.



3



4

PLANCHE III

LES DIFFERENTS STADES DE DEVELOPPEMENT DE SPODOPTERA FRUGIPERDA

Fig. 5 - Les oeufs.

Fig. 6 - Larves de 1^{er} stade.

Fig. 7 - Larve de 4^{eme} stade.

Fig. 8 - Larve de 6^{eme} stade.

Fig. 9 - Imago mâle.

Fig. 10 - Imago femelle.

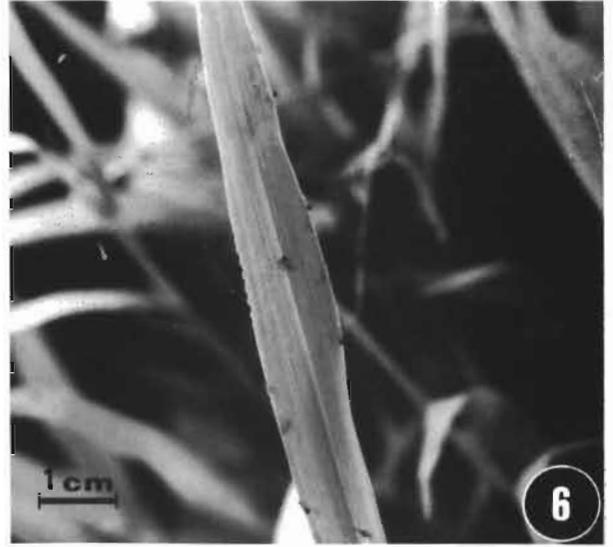


PLANCHE IV

Fig. 11 - Imagos de S. frugiperda: femelle (gauche) et mâle (droite).

Fig. 12 - Les différentes phases de la nymphose.

à l'extrême gauche: larve pré-nymphe

au centre: nymphes en phase de mélanisation et de tannage de la cuticule.

à l'extrême droite: nymphe présentant son aspect définitif

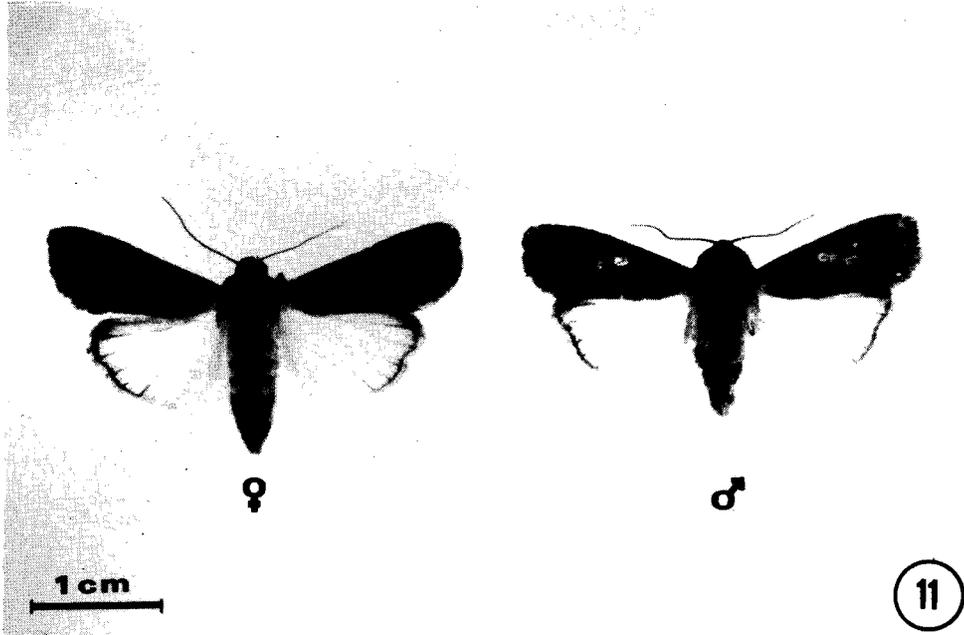


PLANCHE V

DEGATS CAUSES PAR S. FRUGIPERDA SUR D. SWAZILANDENSIS

Fig. 13 - Défoliation superficielle due à des larves de 2^{ème} stade.

Fig. 14 - Dégats occasionnés par une larve de 6^{ème} stade.

Fig. 15 - Aspect d'une parcelle, consécutivement à une attaque massive du ravageur S. frugiperda.



PLANCHE VI

ASPECT DES LARVES ATTEINTES DE BACULOVIROSE

Fig. 16 - Larve saine de 6^{ème} stade.

Fig. 17 - Larve de 6^{ème} stade morte de polyédrose nucléaire

et: éclatement du tégument, libérant les particules infectieuses au moment de la mort de la larve.

Fig. 18 - Larve de 6^{ème} stade atteinte de granulose.

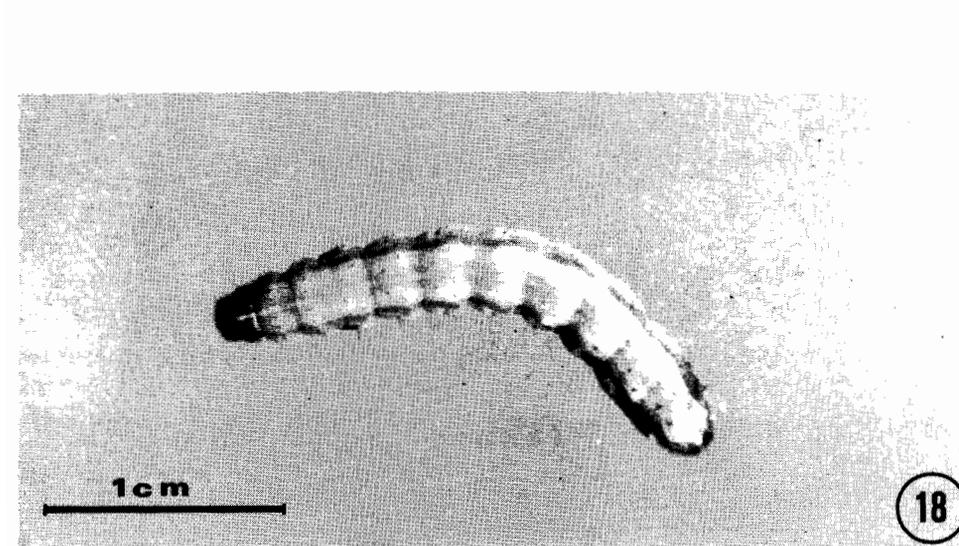
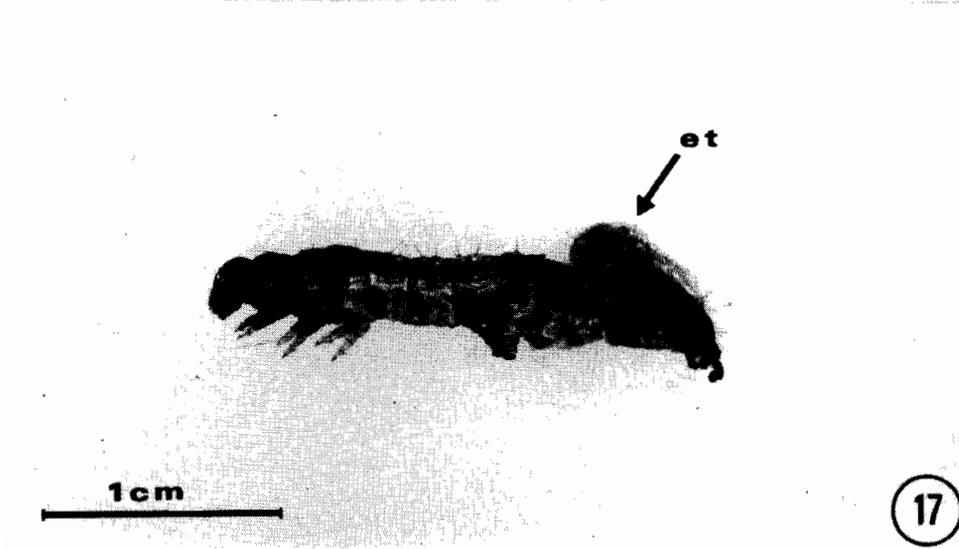
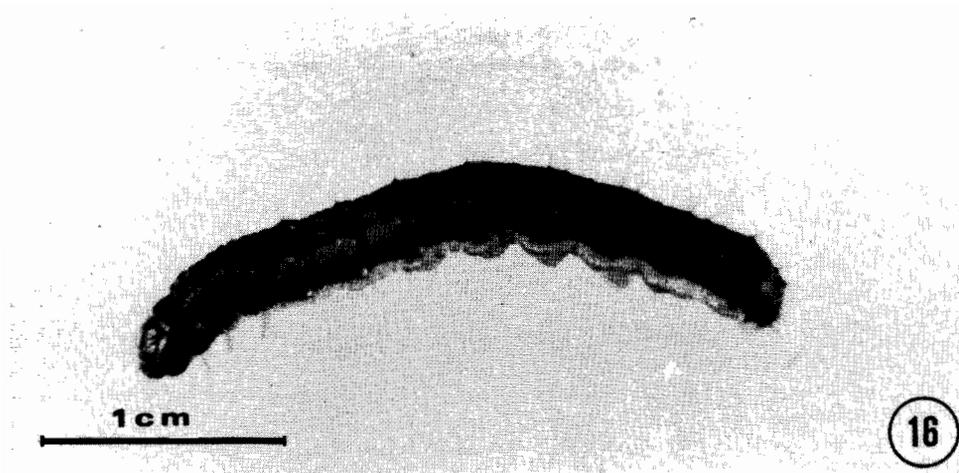


PLANCHE VII

Fig. 19 - Technique du filet fauchoir utilisée pour l'échantillonnage des larves.

Fig. 20 - Piège à phéromone utilisé pour le suivi des populations imaginale mâles.

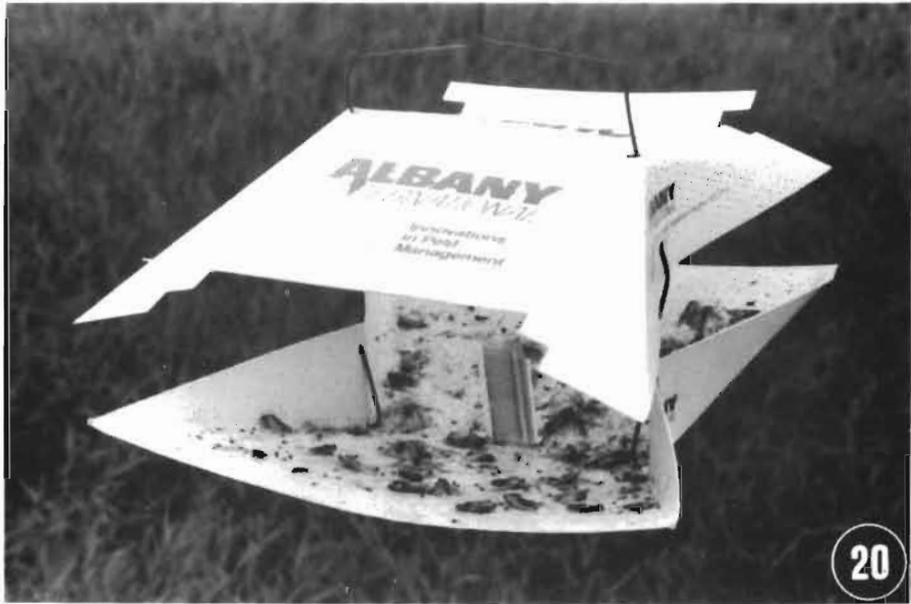


PLANCHE VIII

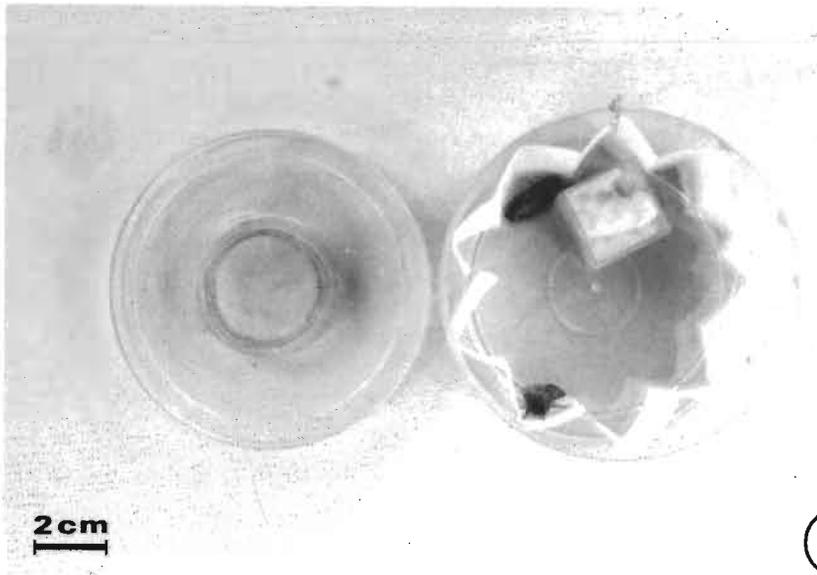
Fig. 21 - Dispositif utilisé pour l'élevage des adultes de S. frugiperda.

Fig. 22 - Dispositif d'élevage des larves de S. frugiperda.

Fig. 23 - Dispositif d'élevage de l'hétéroptère N. capsiformis:

ma: milieu artificiel mis à la disposition des proies.

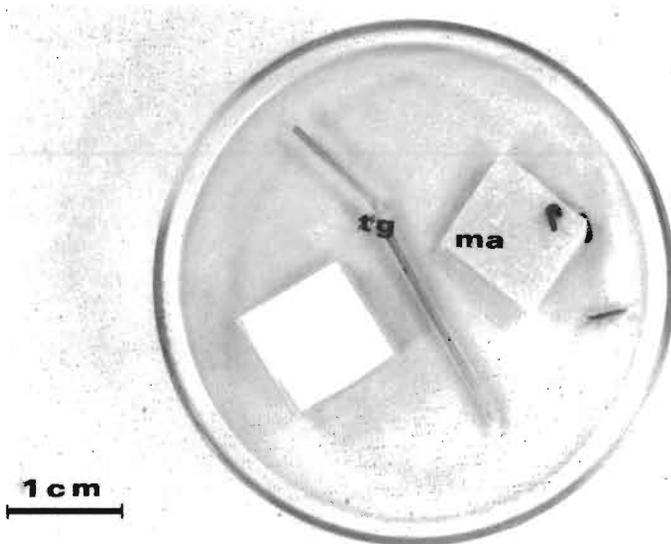
tg: tige graminéenne utilisée comme support de ponte.



21



22



23

PLANCHE IX

Fig. 24 - Adultes de Polistes sp. au nid.

Fig. 25 - Dispositif d'élevage de Polistes sp. au laboratoire.
Le nid est disposé dans la grande boîte. L'alimentation
est fournie dans la petite boîte annexe reliée à la grande
par un sas.

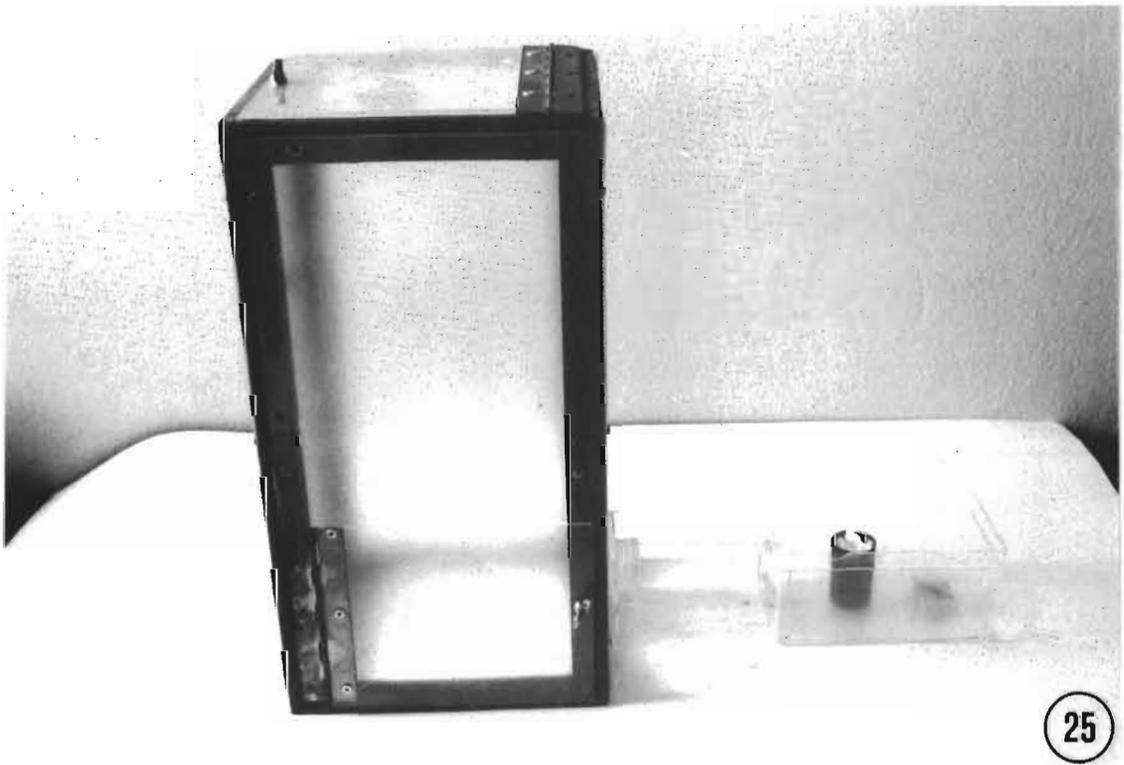
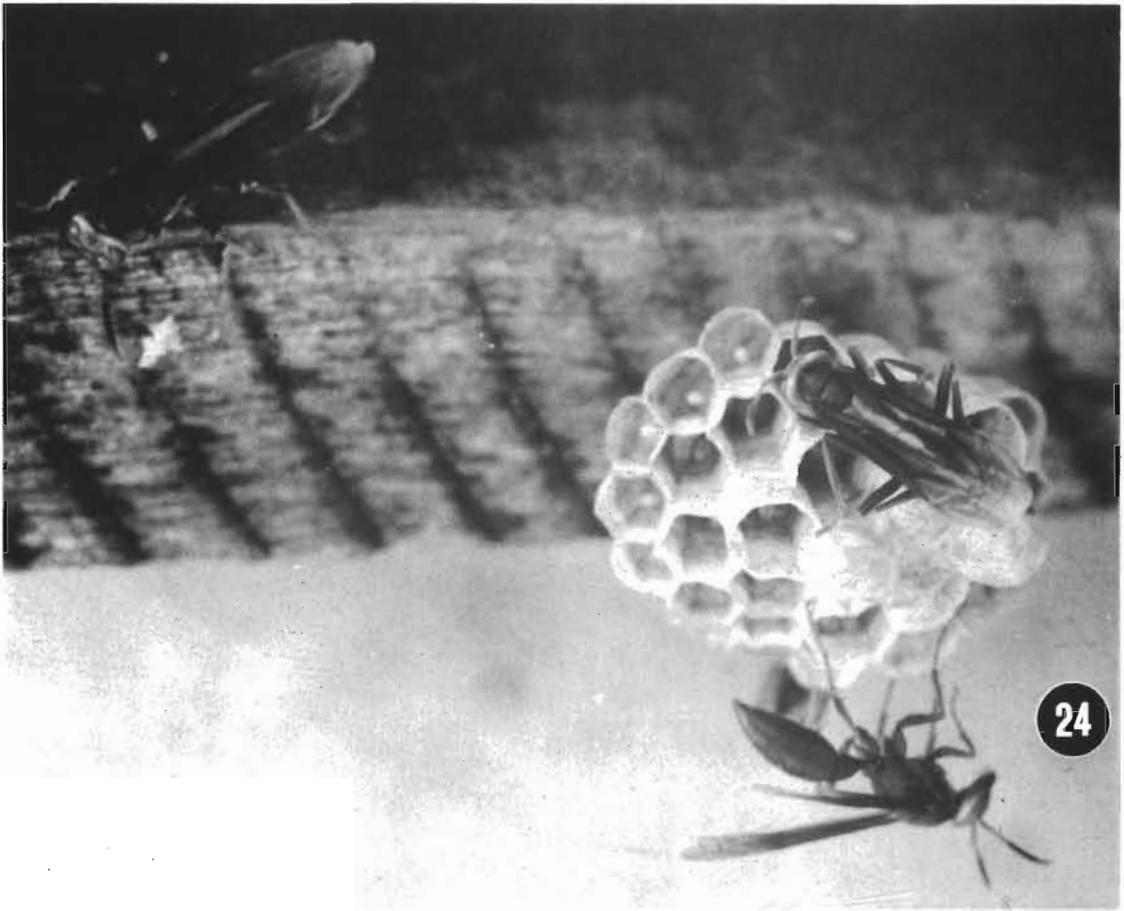
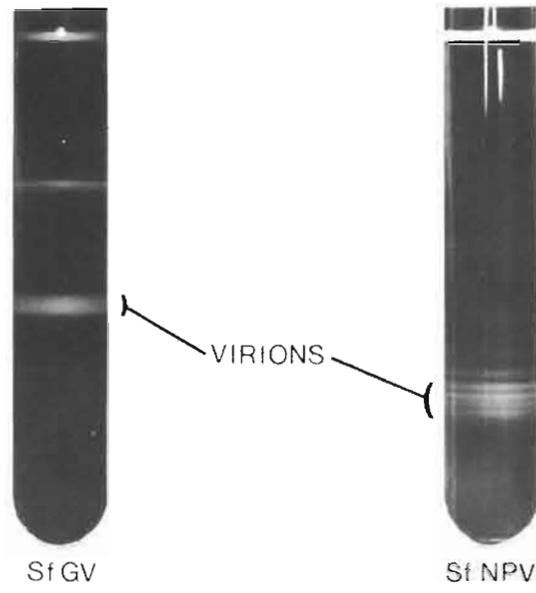
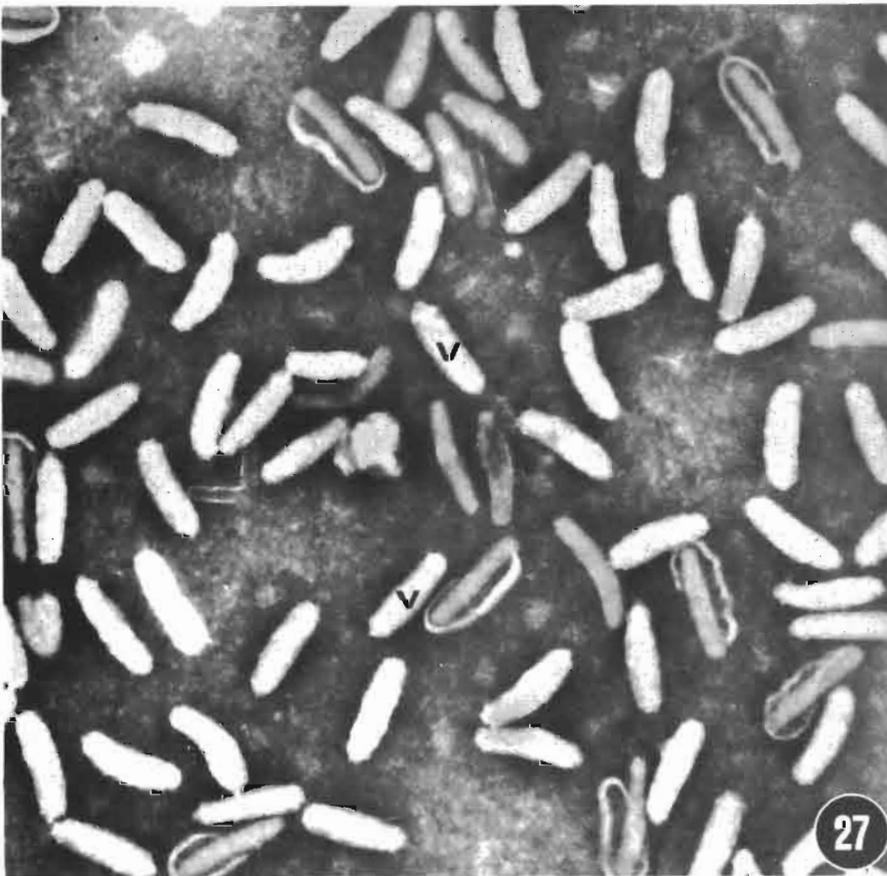


PLANCHE X

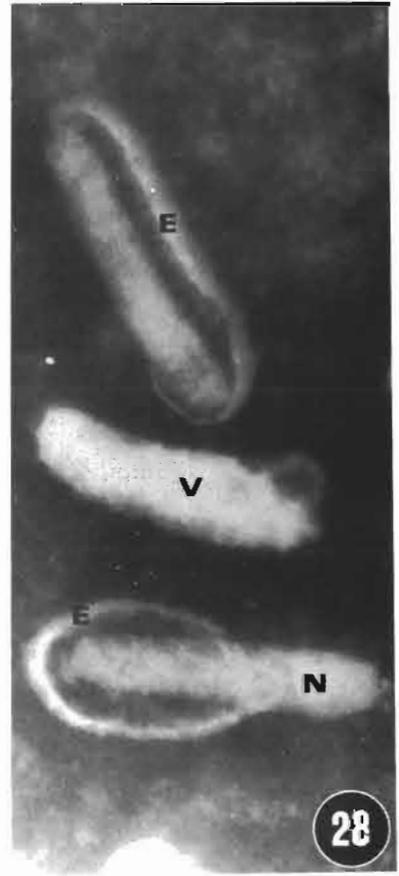
- fig. 26** - Séparation par centrifugation sur gradient continu de sucrose des virions des deux Baculovirus.
- La granulose (SfGV), présente une bande homogène, qui correspond à un type unique de virions monocapsidaires (single embedded).
- La polyédrose nucléaire présente quant à elle, une série de bandes distinctes qui correspondent à des virions possédant un nombre variable de nucléocapsides (multiple embedded).
- Fig. 27** - Observation au microscope électronique d'une suspension purifiée de virions (V) de la granulose de S. frugiperda. (x 48 000).
- Fig. 28** - Virions de la granulose de S. frugiperda. Chaque virion (V) est composé d'une enveloppe (E) et d'une nucléocapside (N). (x 126 000).



26



27



28

PLANCHE XI

Fig. 29 - Spectre d'absorption dans l'UV d'une solution d'ADN de l'isolat SfNPV Guyane.

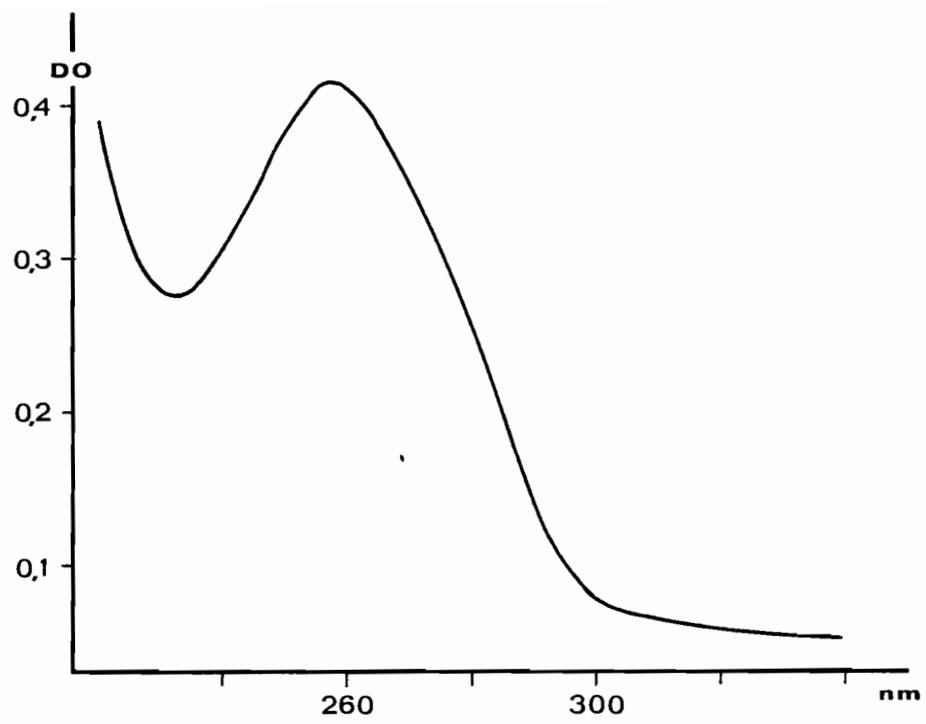


PLANCHE XII

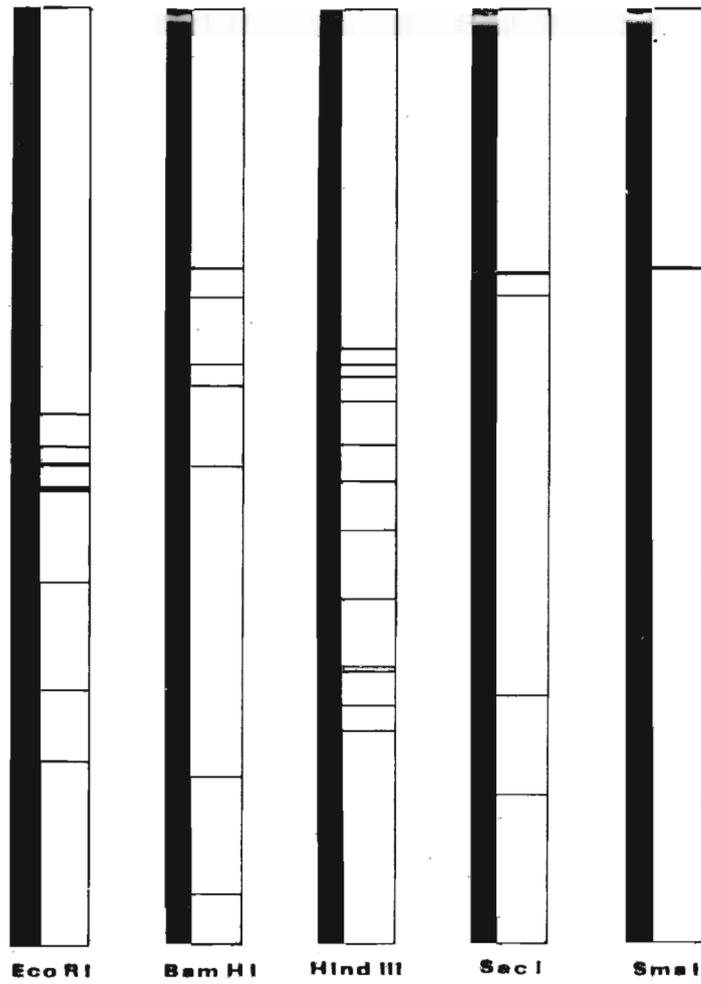
Fig. 30 - Photographie et interprétation de l'électrophorèse sur gel d'agarose (0,9%), de l'ADN de l'isolat SfNPV Guadeloupe, après digestion par les enzymes de restriction Eco RI, Bam HI, Hind III, Sac I, et Sma I.

Seuls sont représentés les fragments d'ADN ayant un poids moléculaire supérieur à $2,6 \cdot 10^6$ daltons.

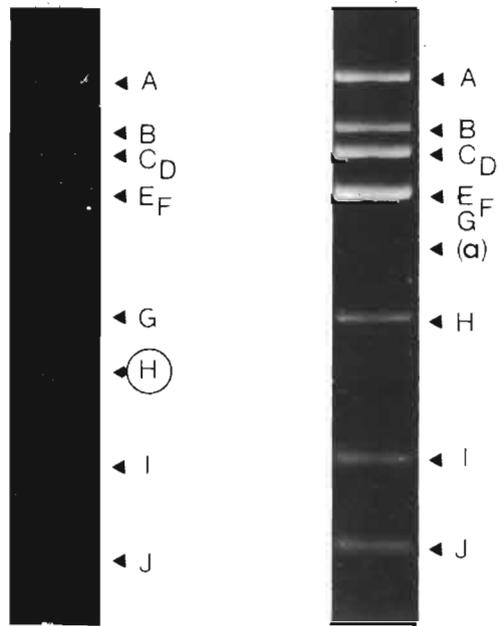
Fig. 31 - Comparaison des électrophorégrammes sur gel d'agarose (0,8%), obtenus après digestion de l'ADN des isolats SfNPV Guyane et Guadeloupe, par l'endonucléase Eco RI.

Les fragments molaires et submolaires sont représentés respectivement en lettres majuscules et minuscules.

La disparition de la triple bande au profit d'une bande double dans l'électrophorégramme du SfNPV Guyane s'accompagne de l'apparition d'une bande H supplémentaire, d'un poids moléculaire de $4,6 \cdot 10^6$ daltons.



30



Sf NPV Guyane

Sf NPV Guadeloupe

31

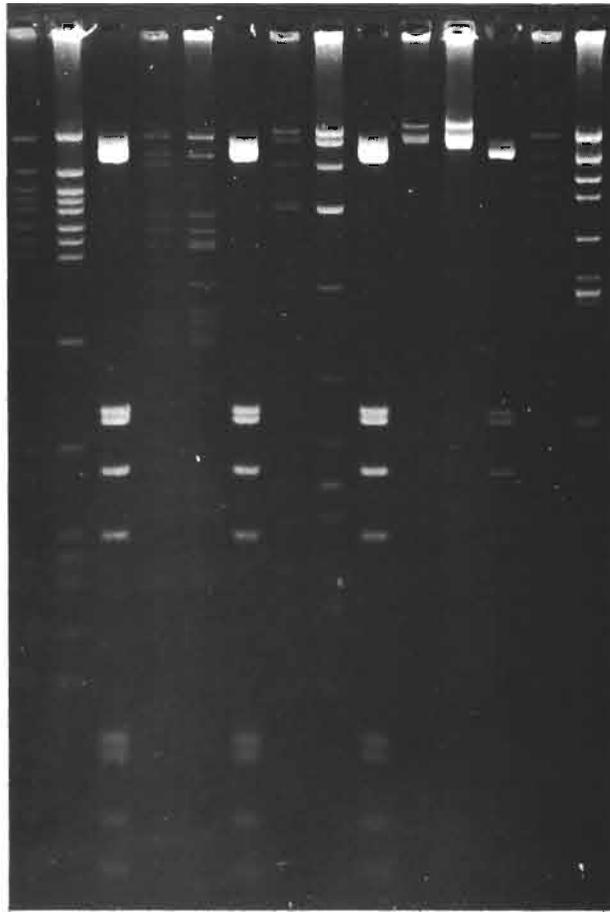
PLANCHE XIII

Fig. 32 - Photographie de l'électrophorèse sur gel d'agarose (0,8%), de l'ADN de la granulose de S. frugiperda après digestion par les enzymes de restriction Eco RI, Bam HI Hind III, Sma I, et Sac I.

La migration a été réalisée pour deux populations de la granulose, SfGV1 et SfGV2, placées pour chaque enzyme, respectivement à gauche et à droite dans l'électrophorogramme. Le marqueur utilisé (m) au cours l'électrophorèse est le phage Lambda coupé par Eco RI.

Fig. 33 - Mise en évidence des différences entre les deux populations SfGV1 et SfGV2 de la granulose de S. frugiperda.

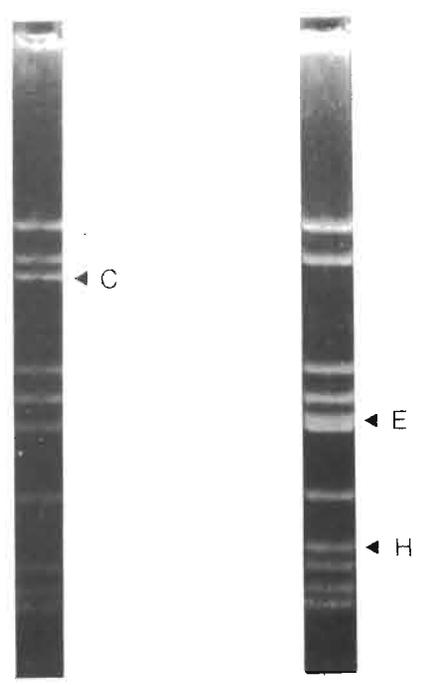
L'ADN du SfGV2 présente un site de restriction supplémentaire pour l'enzyme Bam HI. La bande C (8,8 10⁶ daltons) du SfGV1 disparaît au profit de deux bandes E et H d'un poids moléculaire complémentaire dans le SfGV2.



m
m
m
m
m

EcoRI **BamHI** **HindIII** **SmaI** **SacI**

32



SfGV1

SfGV2

33

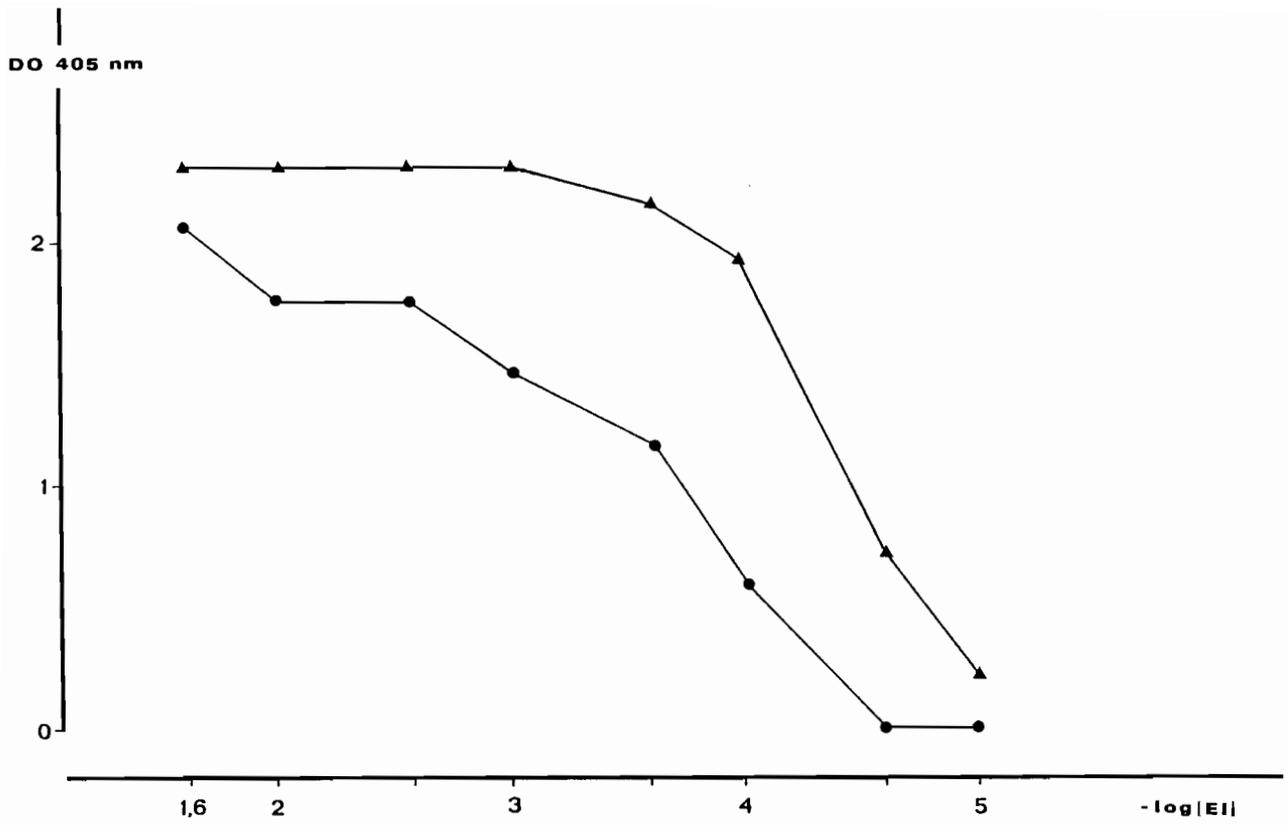
PLANCHE XIV

- Fig. 34** - Evolution de la densité optique (DO), en fonction de la concentration en antigène coaté (E1 exprimé en g de larves mortes de granulose/ml de solution tampon), pour la granulose de S. frugiperda (▲) et la polyédrose nucléaire de Galleria mellonella (●).

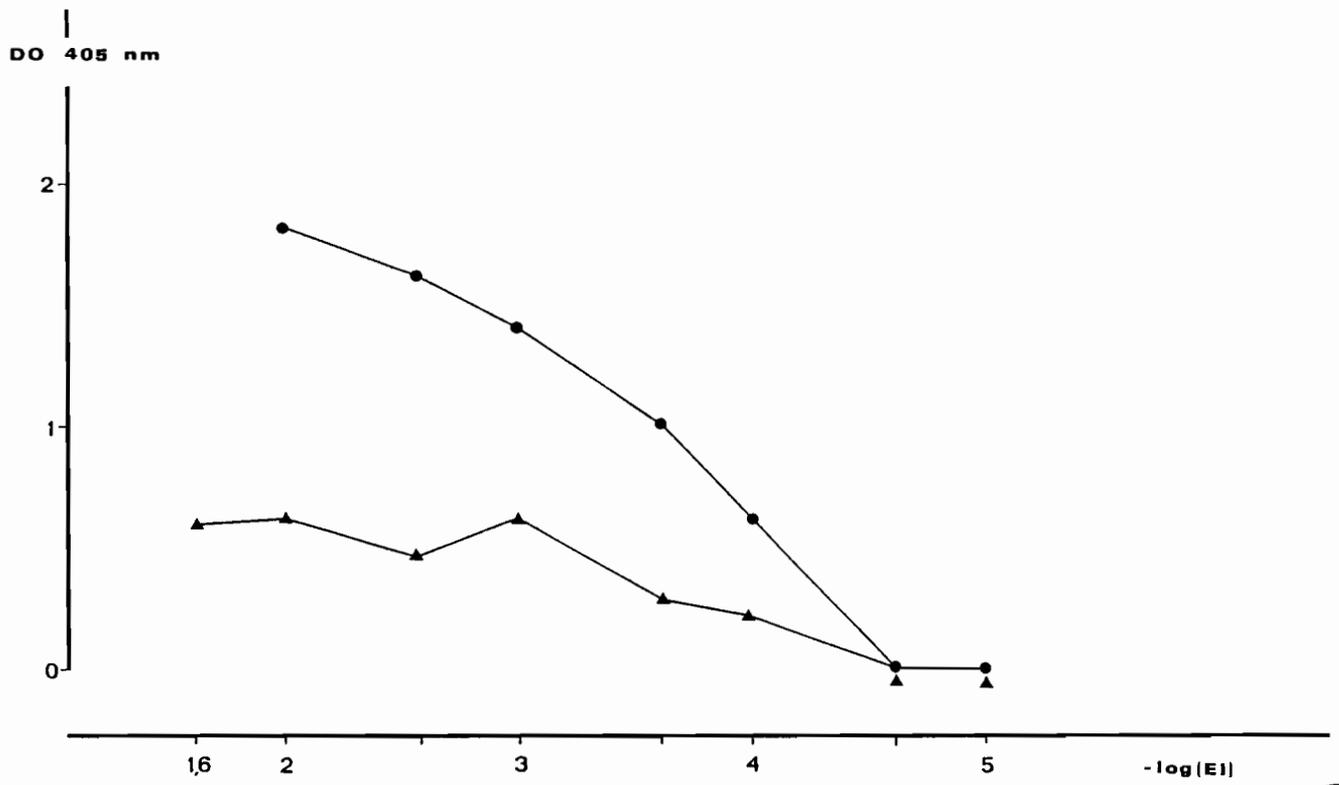
Les anticorps employés dans ce test E.L.I.S.A. contre la granulose et la polyédrose sont respectivement un sérum anti-granules de S. frugiperda, et un sérum anti-polyèdres de G. mellonella.

- Fig. 35** - Evolution de la densité optique (DO), en fonction de la concentration en antigène coaté (E1 exprimé en g de larves mortes de granulose/ml de solution tampon), pour la granulose de S. frugiperda (▲) et la polyédrose nucléaire de Galleria mellonella (●).

L'anticorps employé dans ce test contre la granulose de S. frugiperda est cette fois un sérum anti-virions de cette maladie.



34



35

PLANCHE XV

Fig. 36 - Réactivité de 5 sérums utilisés en test E.L.I.S.A. contre des suspensions antigéniques de polyédrose nucléaire et granuleuse de S. frugiperda (10^{-6} g/ml de larves mortes), et contre une suspension de témoin (10^{-2} g/ml de larves saines).

78: sérum anti-PN de Galleria mellonella

109: sérum anti-virion du NPV d'Agrotis segetum

124: sérum anti-PN de Lymantria dispar

135: sérum anti-PN de Spodoptera littoralis

137: sérum anti-PN de Bombyx mori

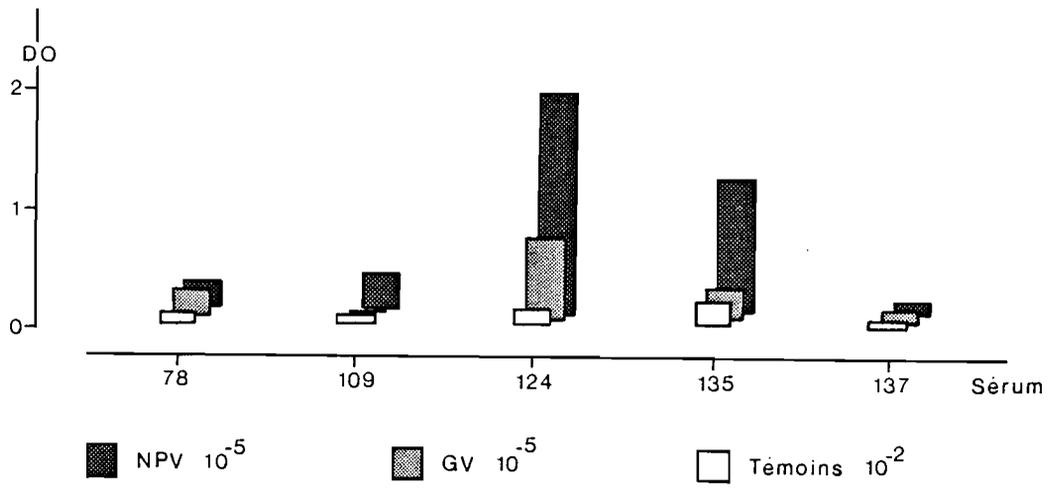
Fig. 37 - Evolution de la densité optique (DO), en fonction de la concentration en antigène coaté (El exprimé en g de larves mortes de granuleuse/ml de solution tampon), pour diverses concentrations en anticorps.

★ : dilution au $100^{\text{ème}}$

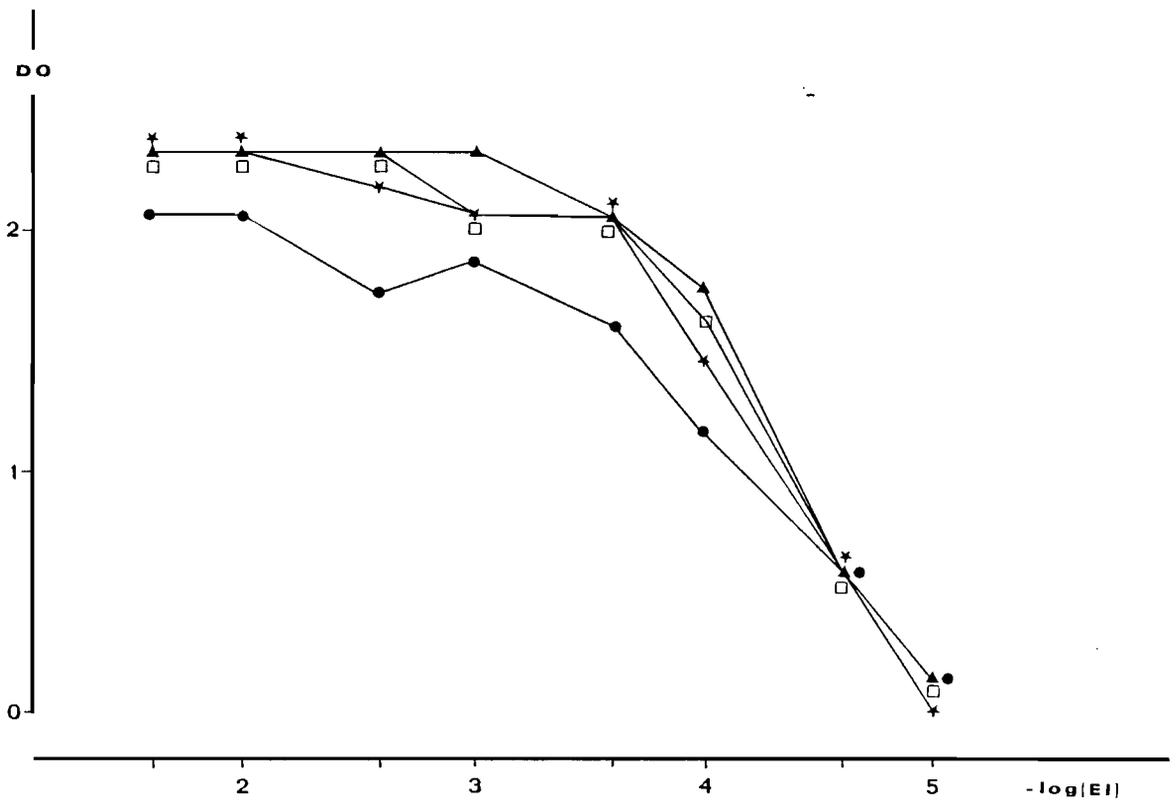
▲ : dilution au $200^{\text{ème}}$

□ : dilution au $400^{\text{ème}}$

● : dilution au $800^{\text{ème}}$



36



37

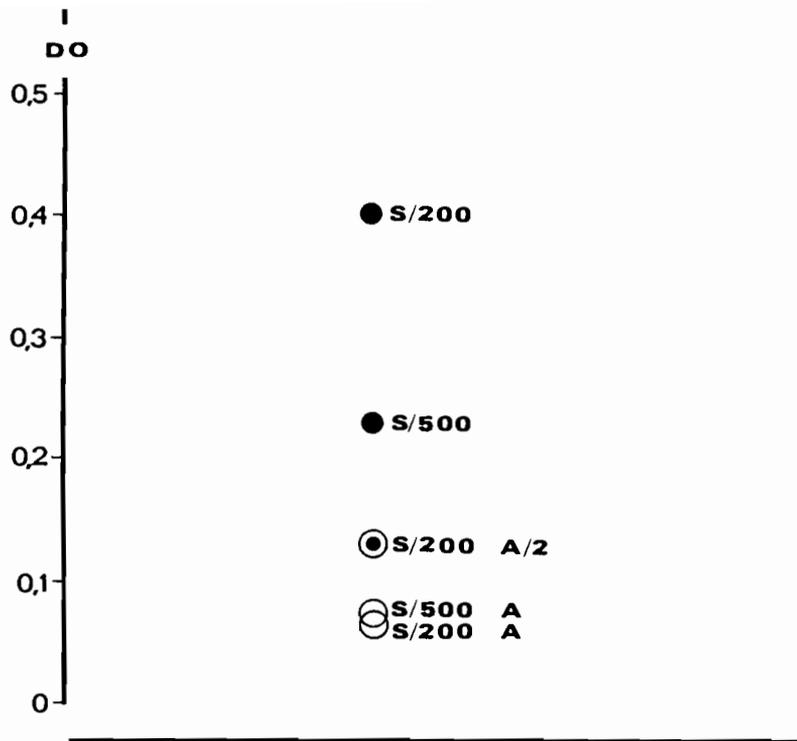
PLANCHE XVI

Fig. 38 - Effet de l'absorption des sérums, par des suspensions de larves saines de dilutions différentes, sur la réaction obtenue avec des larves indemnes de viroses. Les sérums ont été utilisés en dilution finale au 200^{ème} (S/200) et au 500^{ème} (S/500).

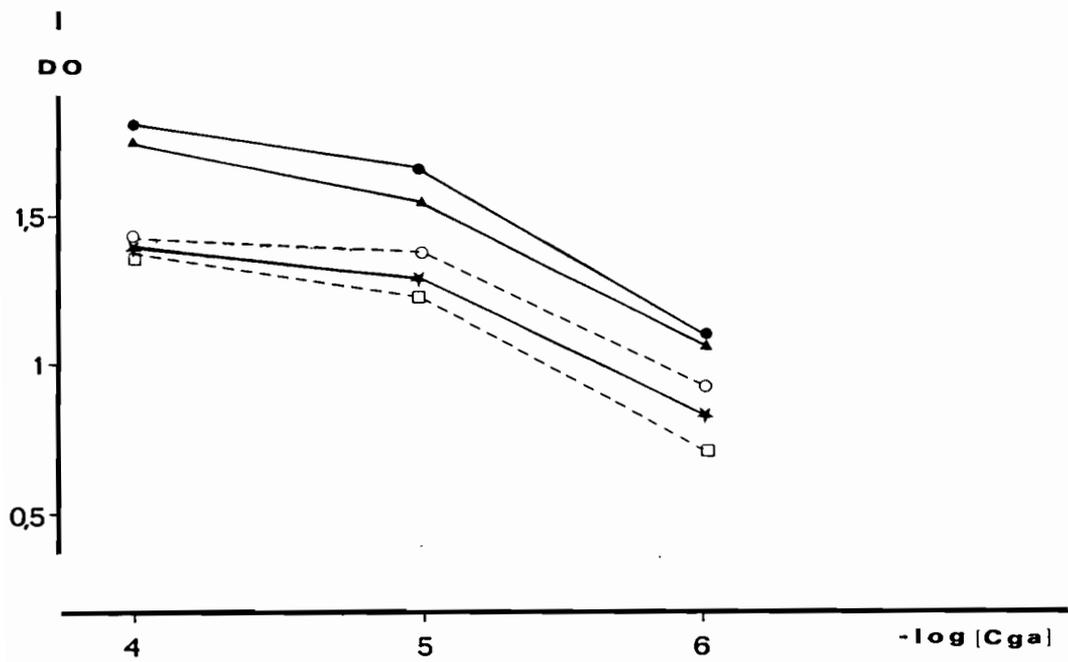
- : sérum non absorbé
- : sérum absorbé une nuit (dilution au 20^{ème} : A)
- ◎ : sérum absorbé une nuit (dilution au 40^{ème} : A/2)

Fig. 39 - Effet de l'absorption des sérums sur les réactions avec les antigènes contre lesquels ils ont été produits.

- : sérum absorbé une nuit (dilution au 20^{ème}), et utilisé en dilution finale au 200^{ème}
- ▲ : sérum absorbé une nuit (dilution au 40^{ème}), et utilisé en dilution finale au 200^{ème}
- : sérum non absorbé, et utilisé en dilution finale au 200^{ème}
- ✱ : sérum absorbé une nuit (dilution au 20^{ème}), et utilisé en dilution finale au 500^{ème}
- : sérum non absorbé, et utilisé en dilution finale au 500^{ème}



38



39

PLANCHE XVII

Fig. 40 - Evolution de la densité optique (DO), en fonction de la concentration en antigène coaté, pour deux types de suspensions antigéniques.

▲: granules purifiés

●: granules purifiés et dissous au Na_2CO_3

La concentration (E1) est exprimée en g de granules par ml de solution tampon.

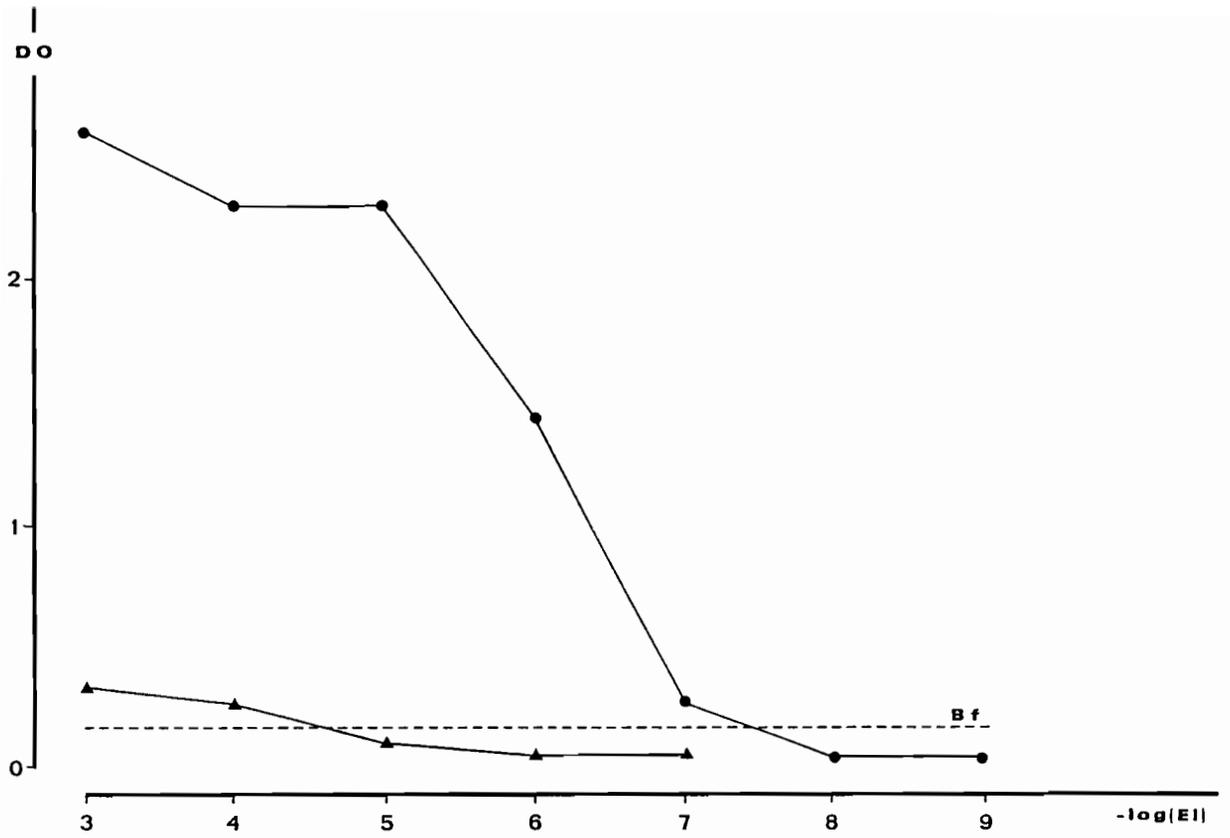
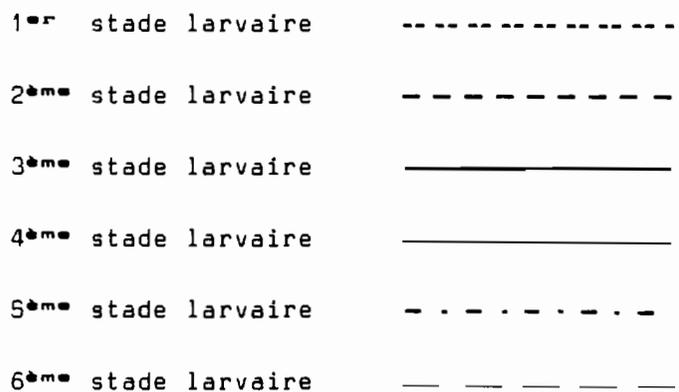


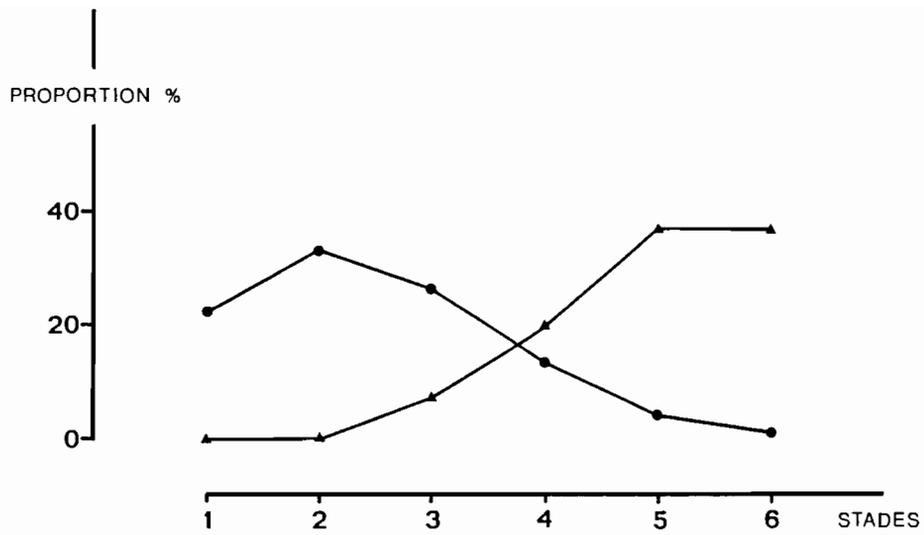
PLANCHE XVIII

Fig. 41 - Comparaison des différents stades larvaires échantillonnés, à l'aide de deux techniques, filet fauchoir (●), et lancer de cercle (▲).

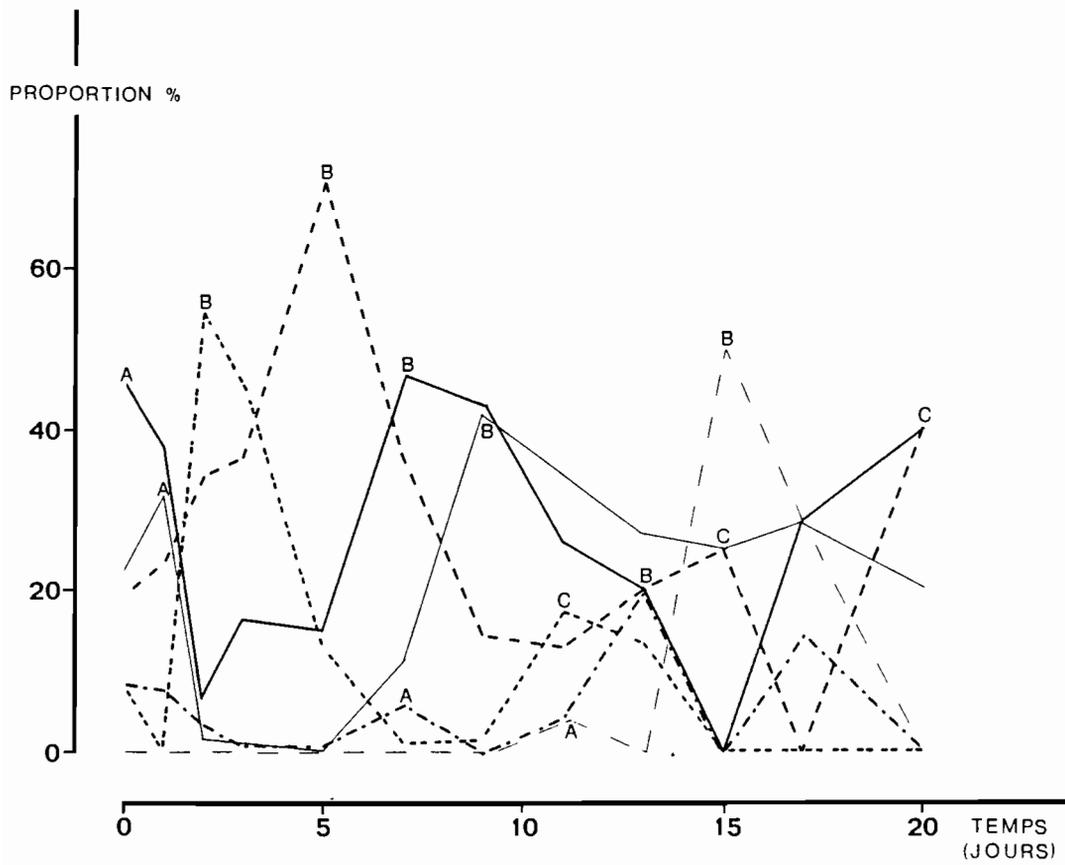
Fig. 42 - Evolution des proportions des différents stades larvaires capturés au filet fauchoir au cours du temps.



Les 3 cycles de ponte, qui se sont succédés au cours de cet échantillonnage, sont symbolisés par les lettres A, B, et C.



41



42

PLANCHE XIX

Fig. 43 - Plan de l'exploitation de Matoury où ont été réalisés les suivis écopathologiques.

La répartition de la présence des cas de mortalité par granulose, enregistrés de Juillet 82 à Février 83, est figurée par des étoiles (☆). Les parcelles où la présence de cette infection virale était importante sont repérées par le signe suivant: (★).



zones boisées



zones marécageuses

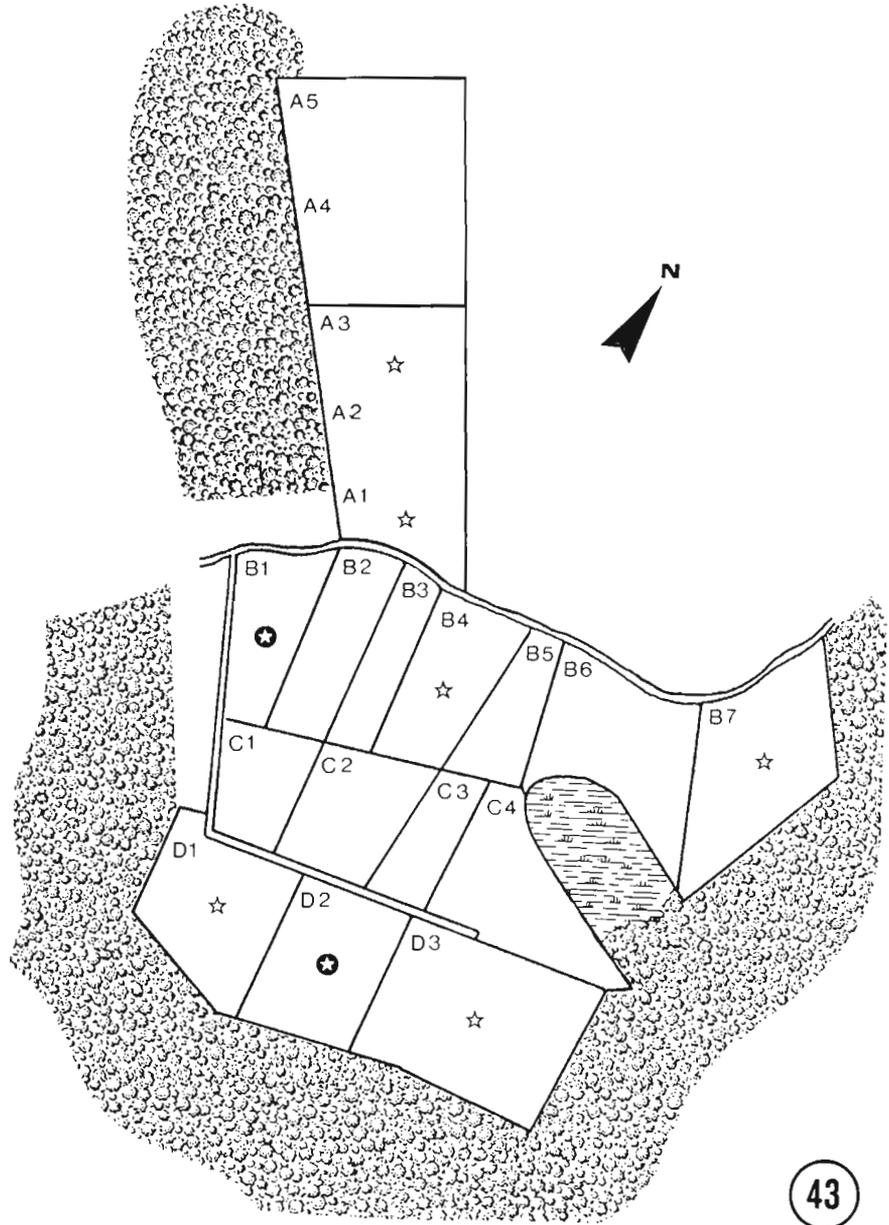


PLANCHE XX

Fig. 44 - Evolution comparée des densités de population larvaire de S. frugiperda et de la mortalité par granulose sur l'ensemble de l'exploitation de Matoury.

Les relevés effectués de Juillet 1982 à Fevrier 1983, ont été regroupés par décades.

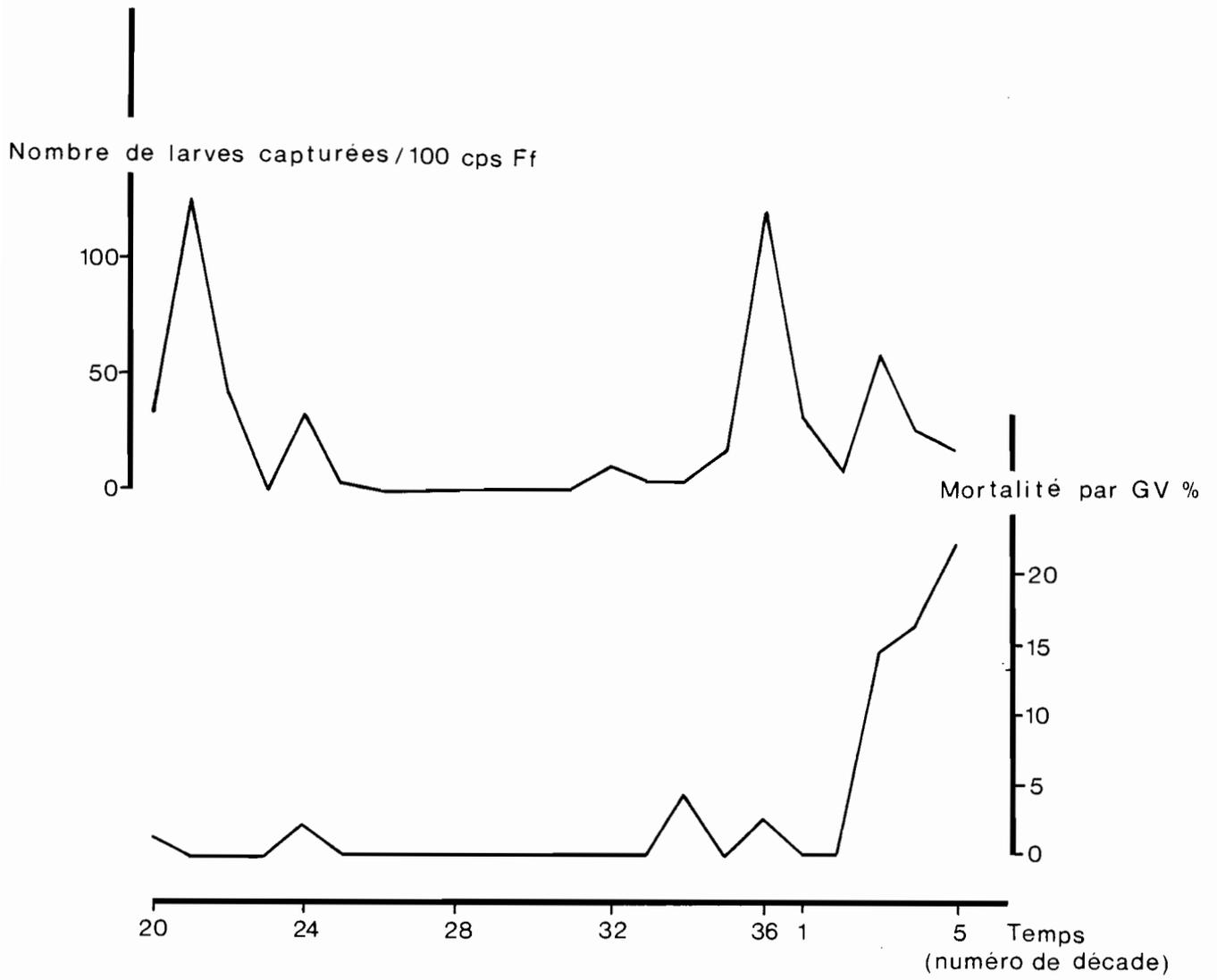


PLANCHE XXI

- Fig. 45** - Evolution comparée, en parcelle B1, des densités de populations larvaires de S. frugiperda et de la mortalité par baculovirose: polyédrose nucléaire (NPV), granuloze (GV), et infections mixtes (NPV-GV) (Relevés réalisés du 11/10/83 au 10/02/84).

Parcelle B1

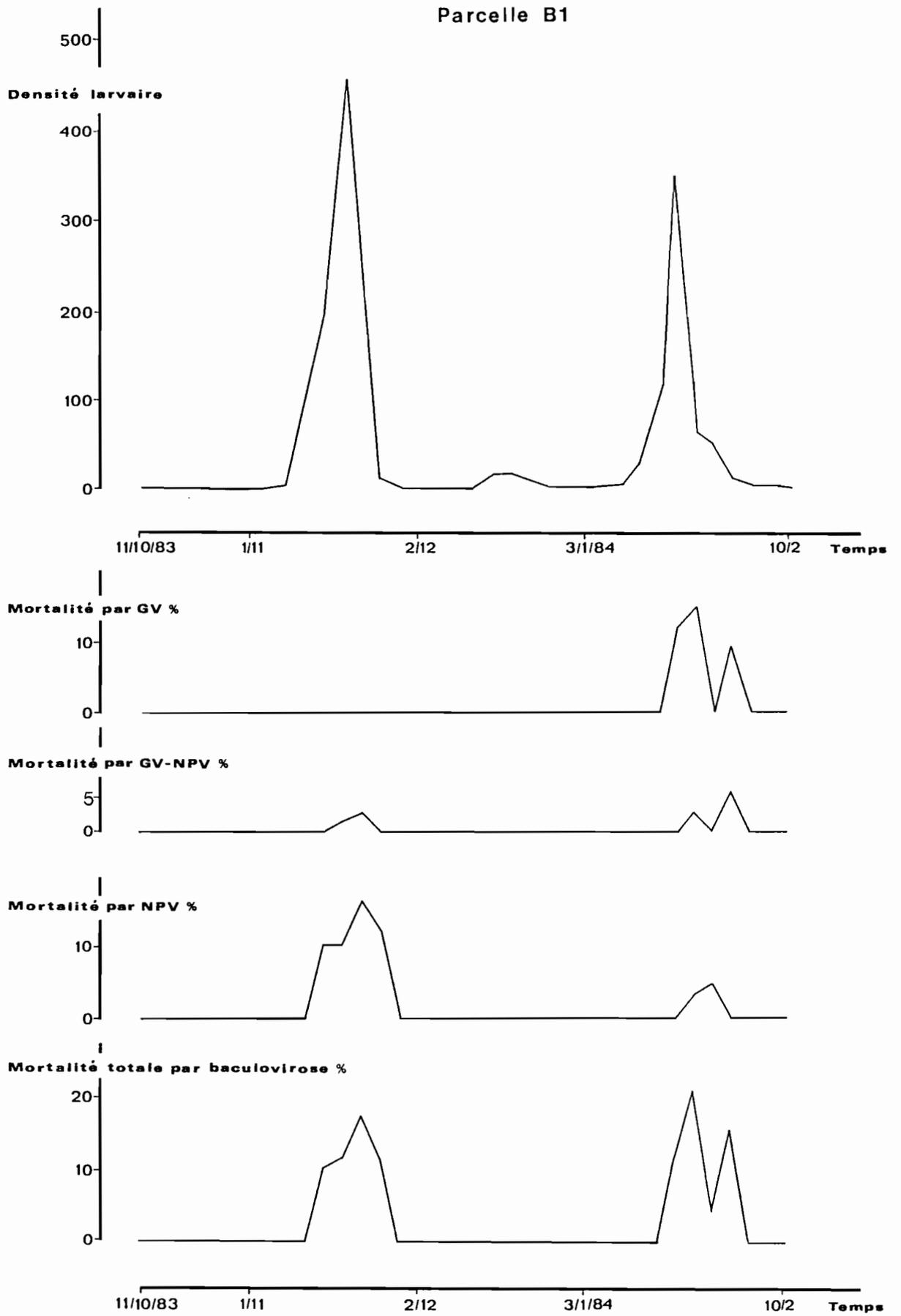


PLANCHE XXII

- Fig. 46** - Evolution comparée, en parcelle D1, des densités de populations larvaires de S. frugiperda et de la mortalité par baculovirose: granulose (GV), et infections mixtes (NPV-GV) (Relevés réalisés du 6/12/83 au 6/04/84).

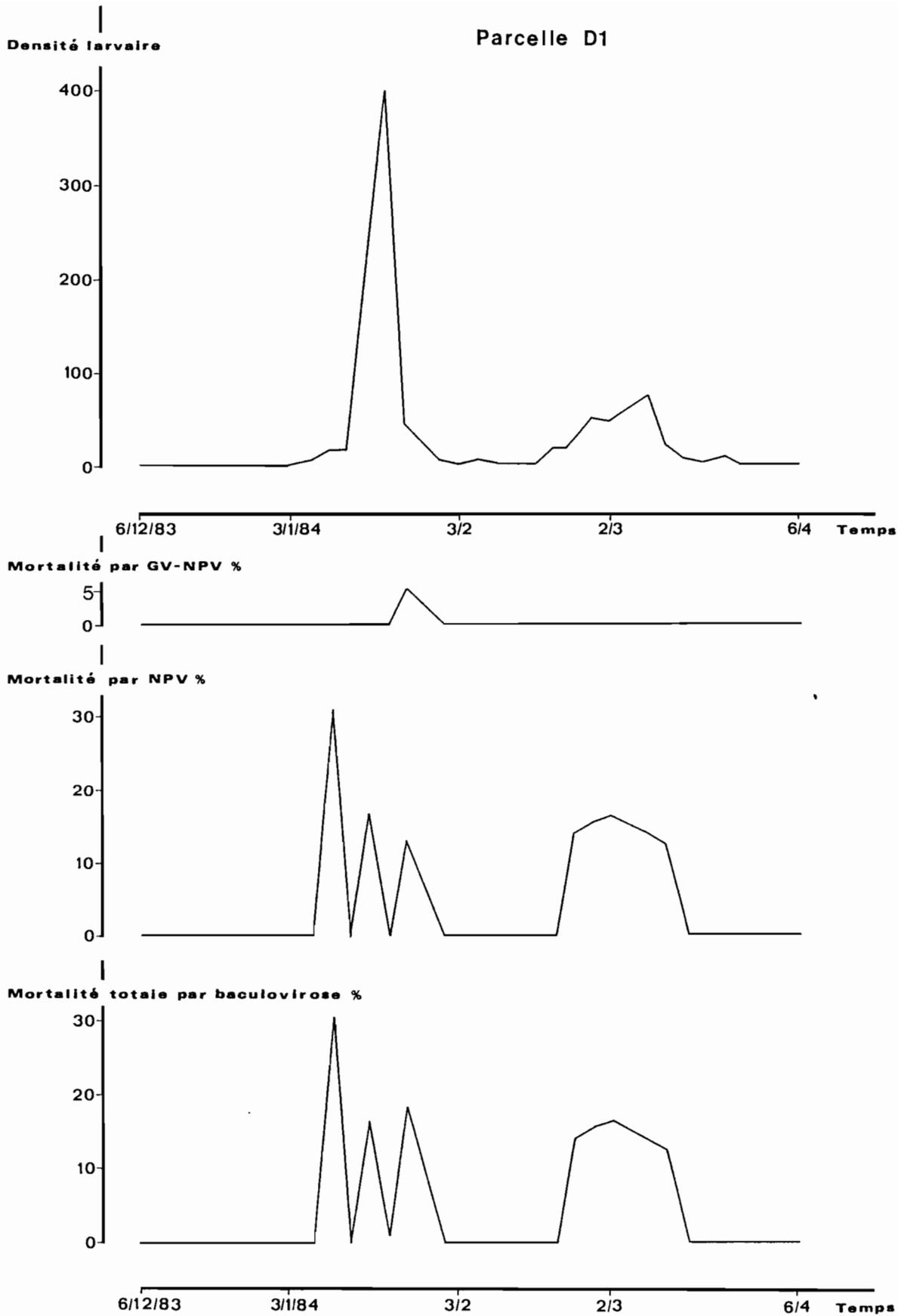


PLANCHE XXIII

- Fig. 47 - Evolution comparée des densités de population larvaire, des mortalités par baculovirose, et des passages de bovins dans les parcelles B1 et D1 (relevés réalisés du 5/02/85 au 25/10/85).

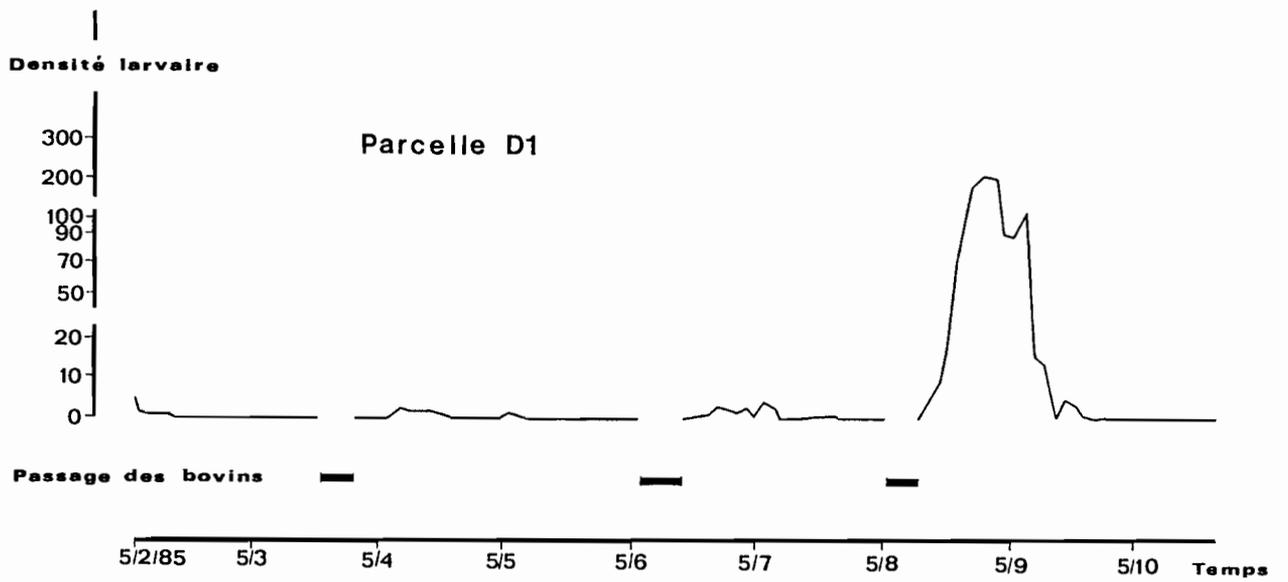
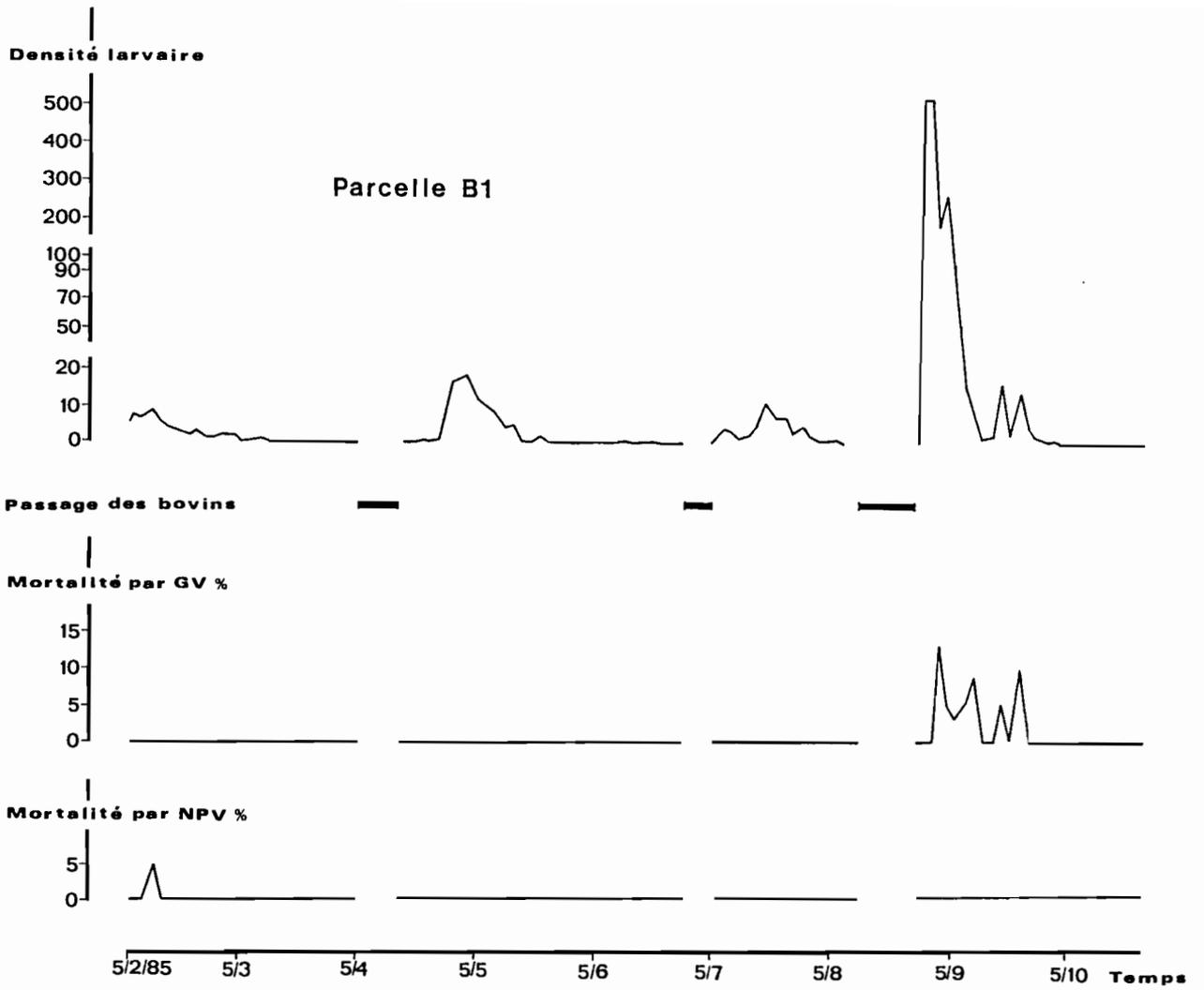


PLANCHE XXIV

Fig. 48 - Evolution des captures d'adultes mâles de S. frugiperda dans les deux pièges sexuels, placés dans les parcelles B1 et D1.

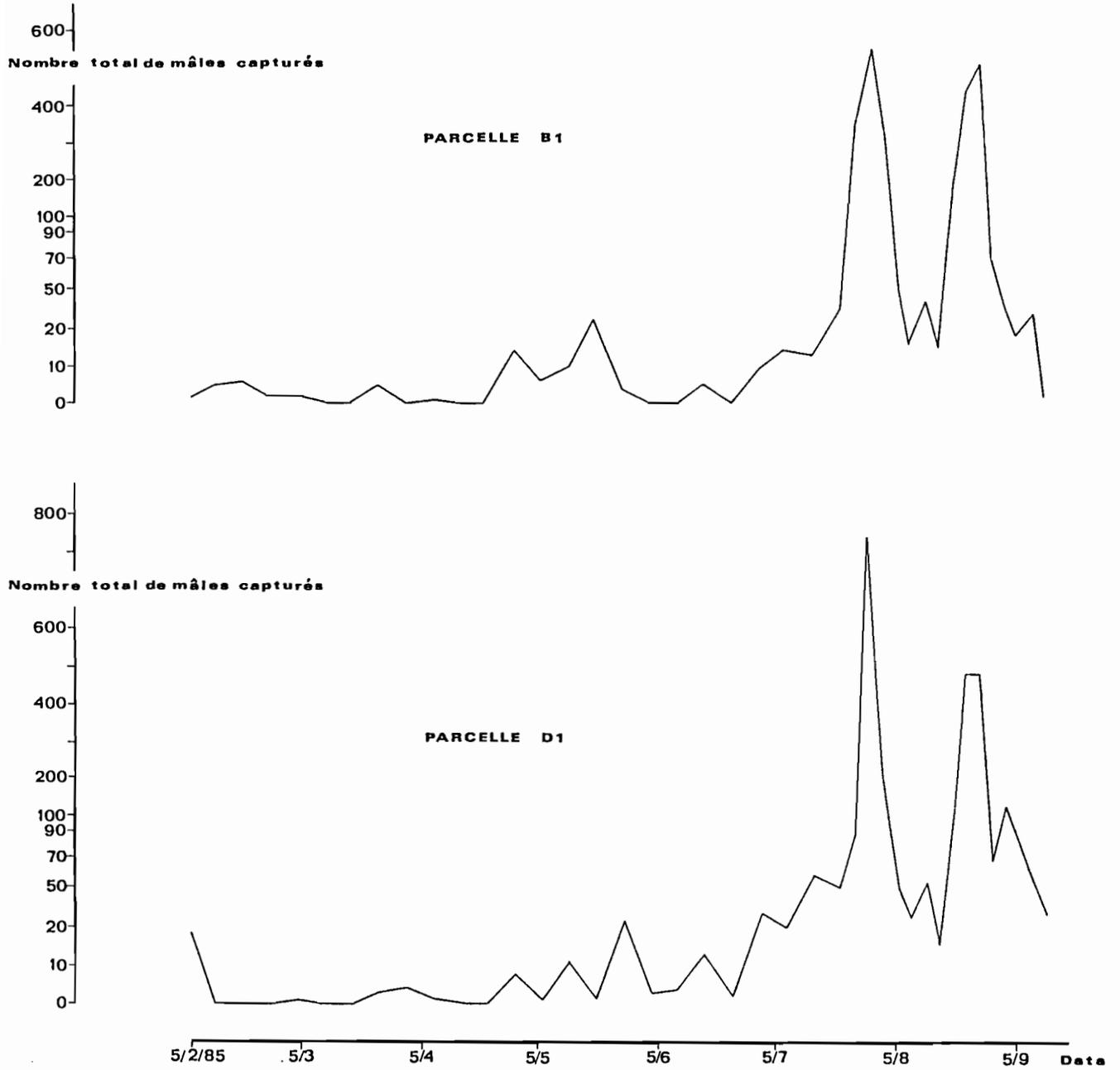
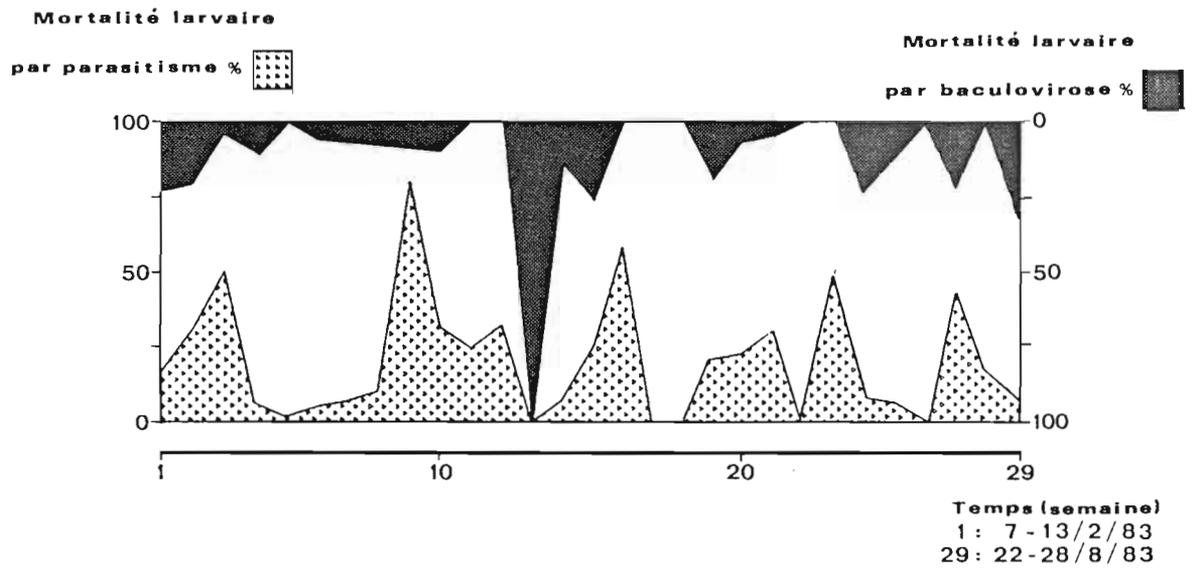


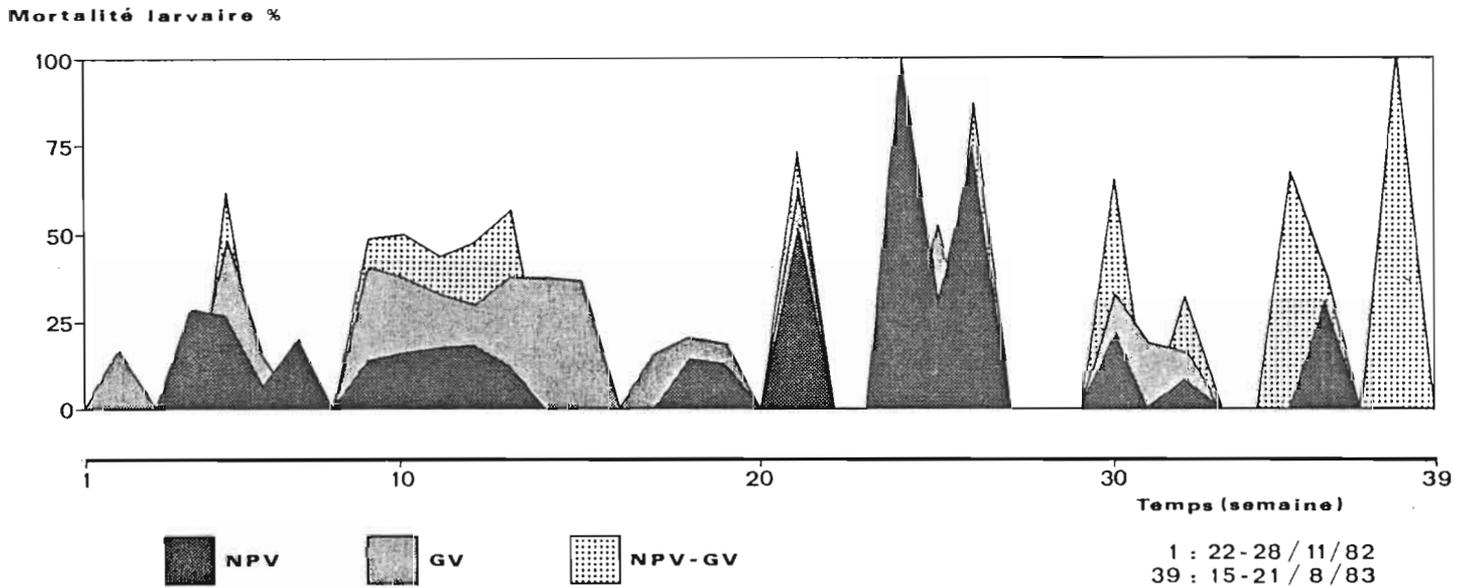
PLANCHE XXV

Fig. 49 - Evolution comparée des mortalités larvaires par parasitisme et par baculovirose: résultats hebdomadaires de relevés effectués sur l'ensemble de l'exploitation de Matoury, du 7/02/83 au 28/8/83.

Fig. 50 - Evolution de la part prise par chacune des maladies virales: granulose (GV), polyédrose nucléaire (NPV), et infection mixte (NPV-GV), dans la mortalité larvaire, parasitisme exclu: résultats hebdomadaires de relevés effectués sur l'ensemble de l'exploitation de Matoury du 22/11/82 au 21/8/83.



49



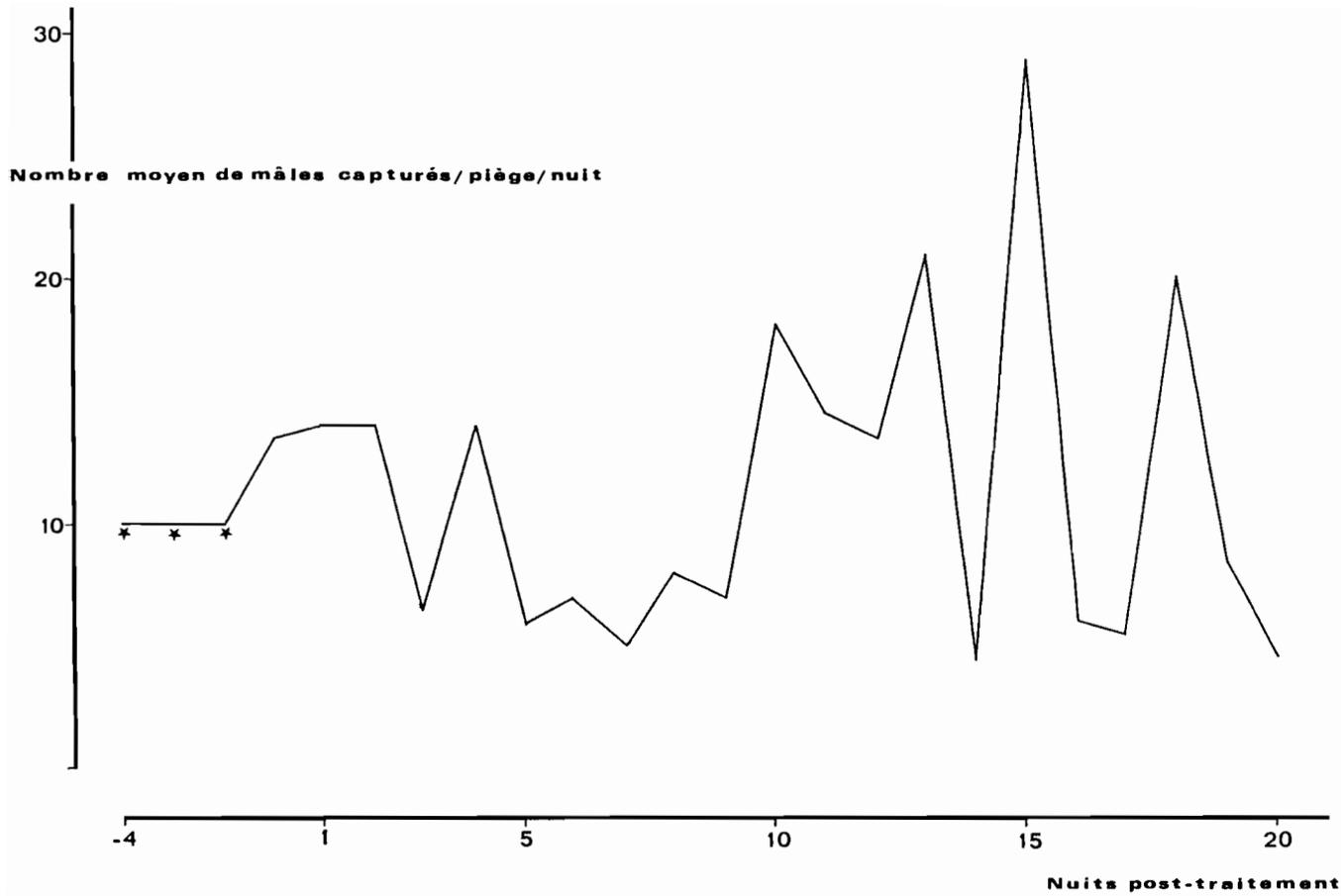
50

PLANCHE XXVI

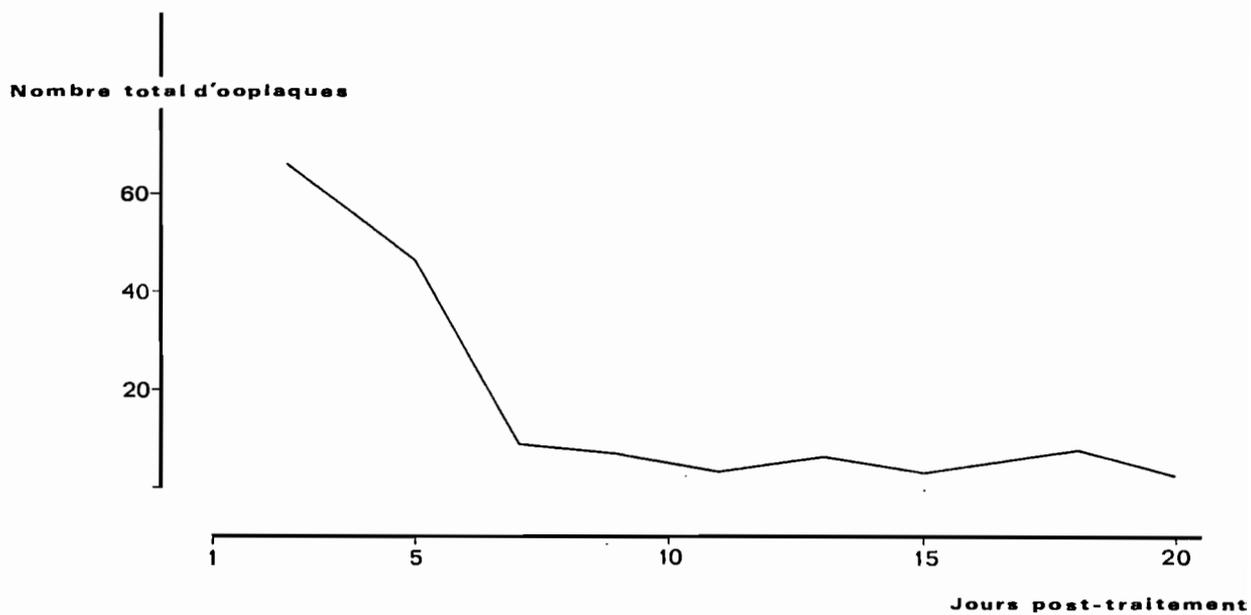
Fig. 51 - Evolution journalière moyenne des captures de mâles réalisées à l'aide de deux pièges sexuels à glu.

★ Moyenne journalière établie sur trois jours de relevés consécutifs.

Fig. 52 - Evolution au cours du temps, du nombre total d'ooplaques relevé sur l'ensemble des piquets délimitant les parcelles expérimentales.



51

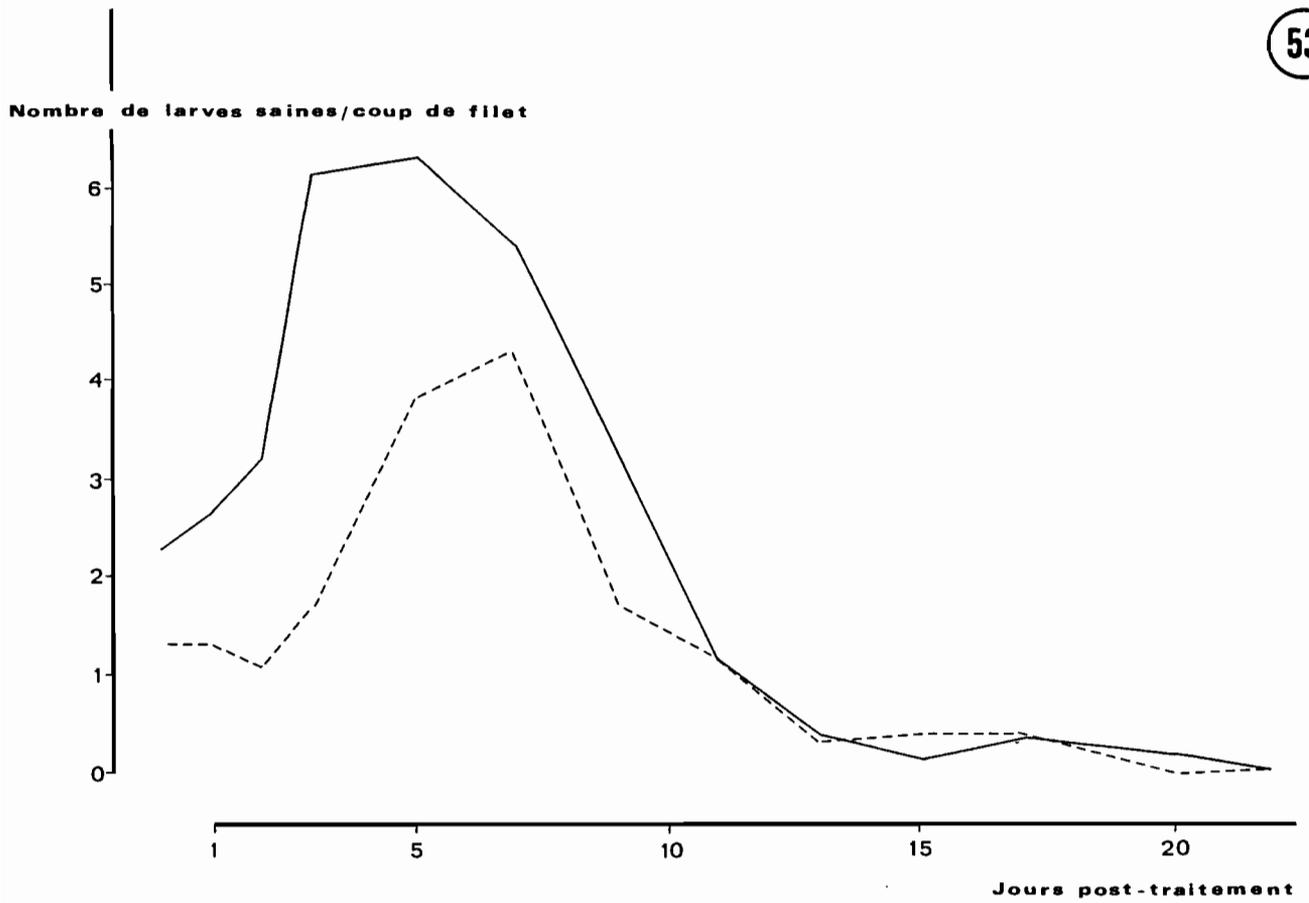
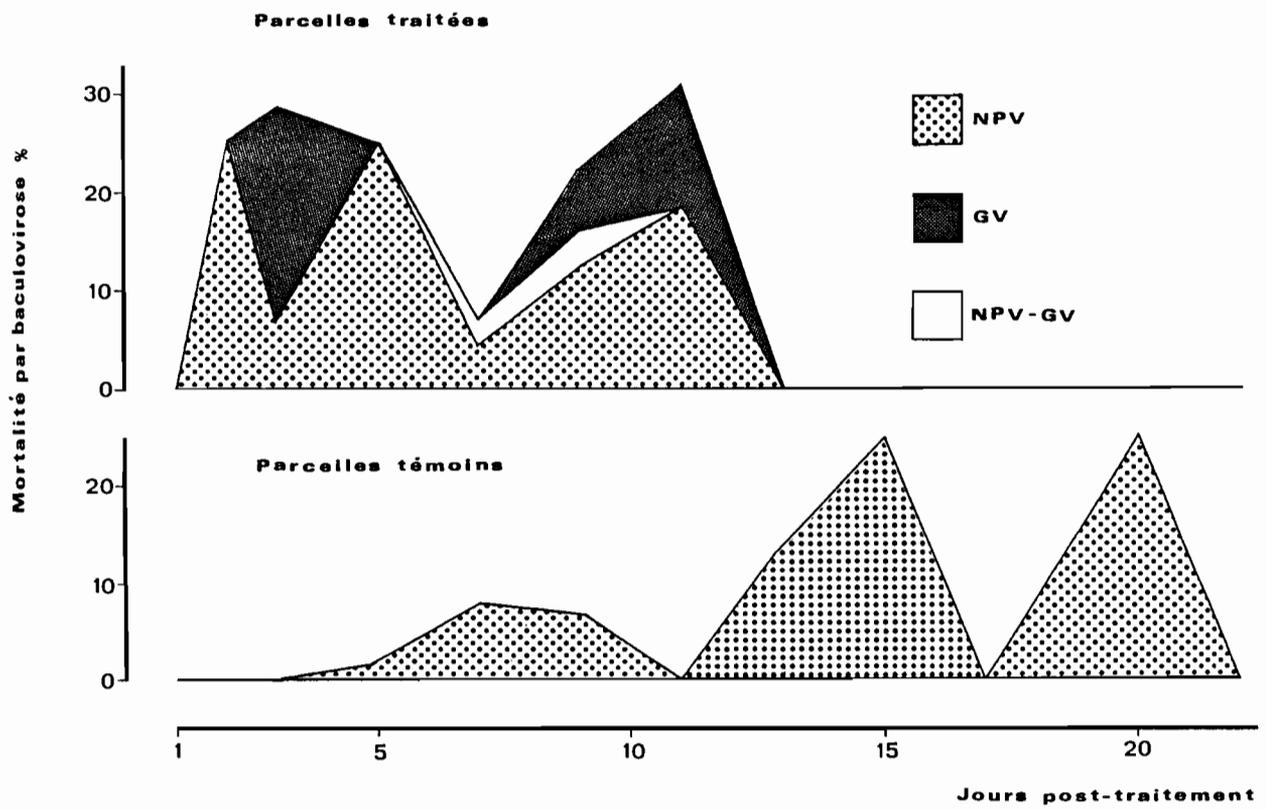


52

PLANCHE XXVII

Fig. 53 - Evolution au cours du temps de la mortalité par baculoviroses (NPV, GV, et infections mixtes NPV-GV) dans les parcelles traitées (haut) et témoins (bas).

Fig. 54 - Evolution au cours du temps, des effectifs larvaires "sains" (Nombre moyen de larves capturées par coup de filet fauchoir corrigé de la mortalité enregistrée au laboratoire par baculovirose) capturés au filet fauchoir dans les parcelles traitées (-----), et témoins (———).



53

54

PLANCHE XXVIII

Fig. 55 - Répartition par classe d'âge (stades larvaires 1,2 et 3 et stades larvaires 4,5 et 6) des populations larvaires récoltées au cours des divers échantillonnages réalisés au sol et au filet fauchoir dans les parcelles traitées et témoins.

Fig. 56 - Evolution au cours du temps des effectifs larvaires et adultes, de l'hétéroptère prédateur Nabis capsiformis, échantillonnés dans l'ensemble des parcelles témoins et traitées.

Stades larvaires 1,2 et 3
 Stades larvaires 4,5 et 6

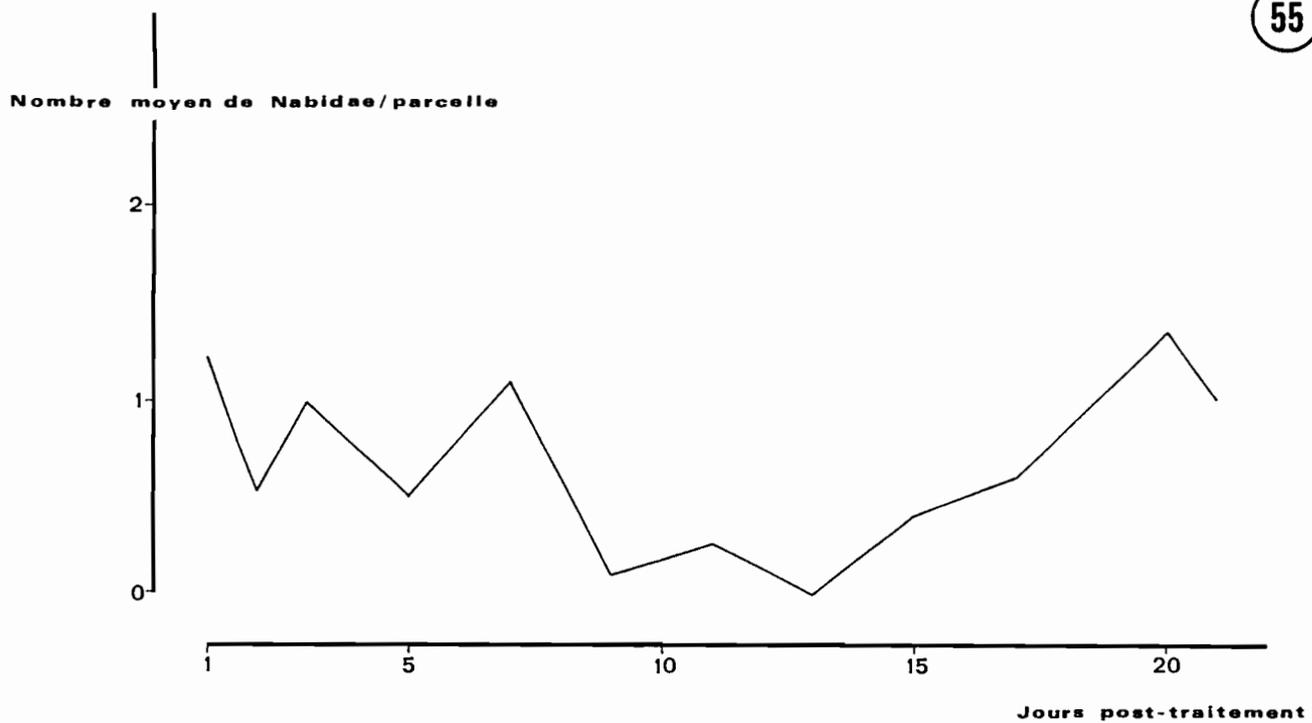
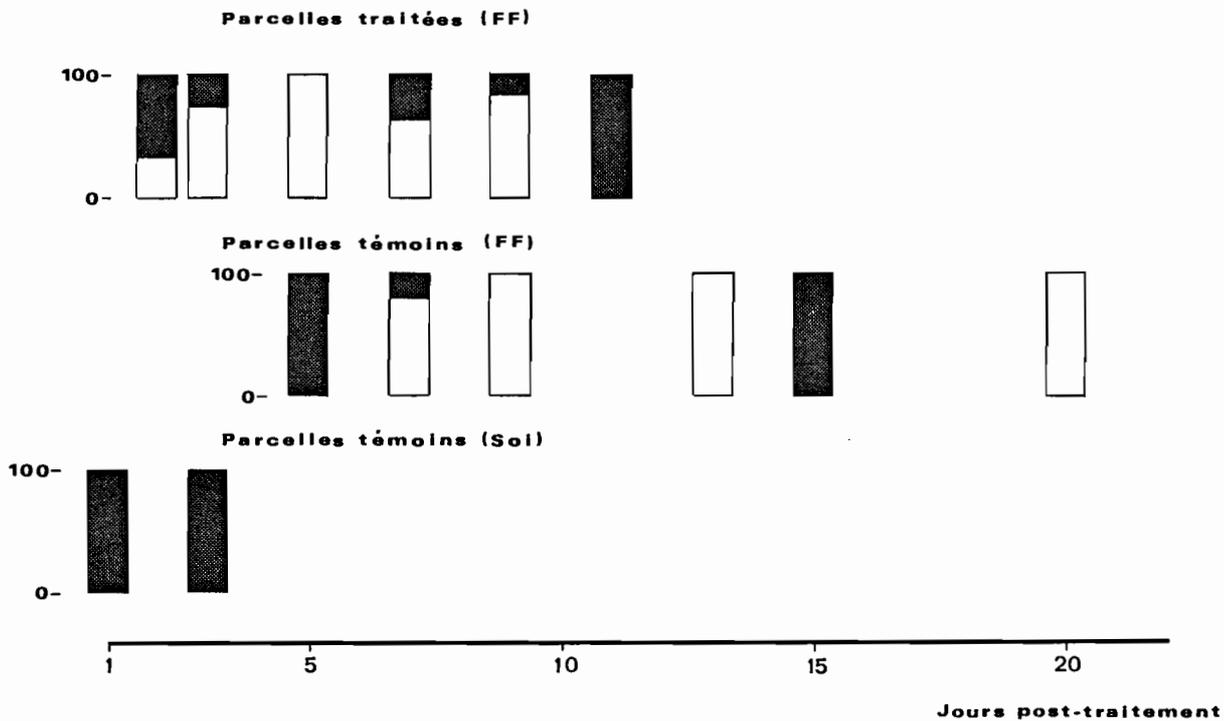
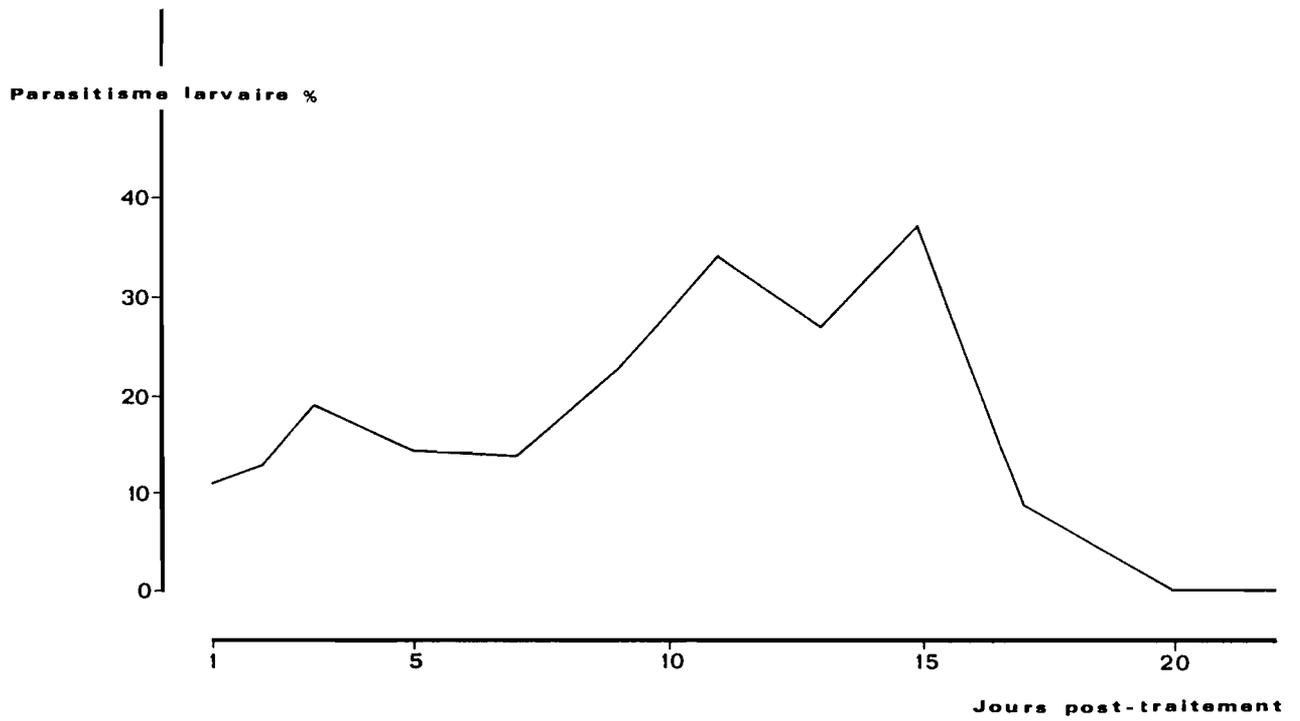


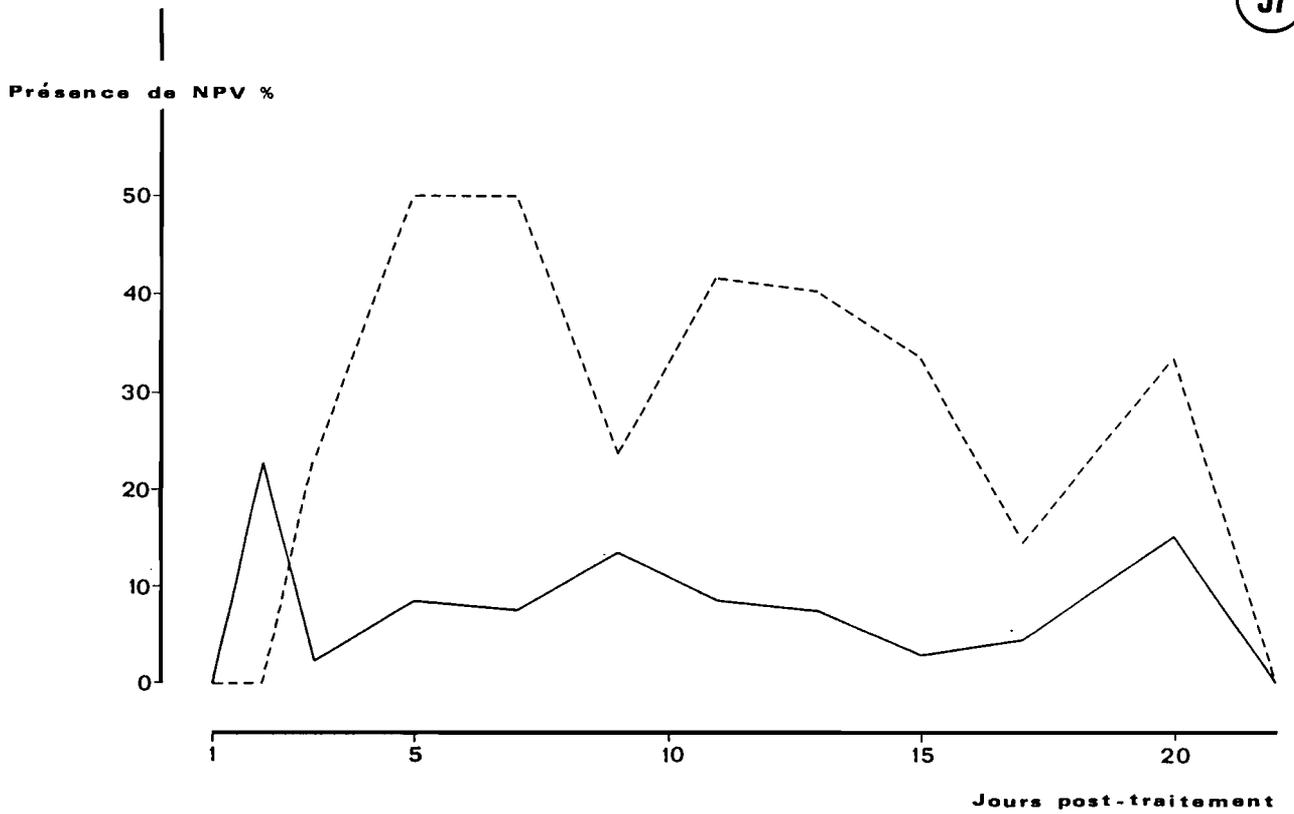
PLANCHE XXIX

Fig. 57 - Evolution du taux de parasitisme larvaire dans l'ensemble des parcelles témoins et traitées.

Fig. 58 - Comparaison de l'évolution au cours du temps des taux de présence de la polyédrose nucléaire dans les larves mortes de parasitisme (-----) ou mortes non parasitées (———).



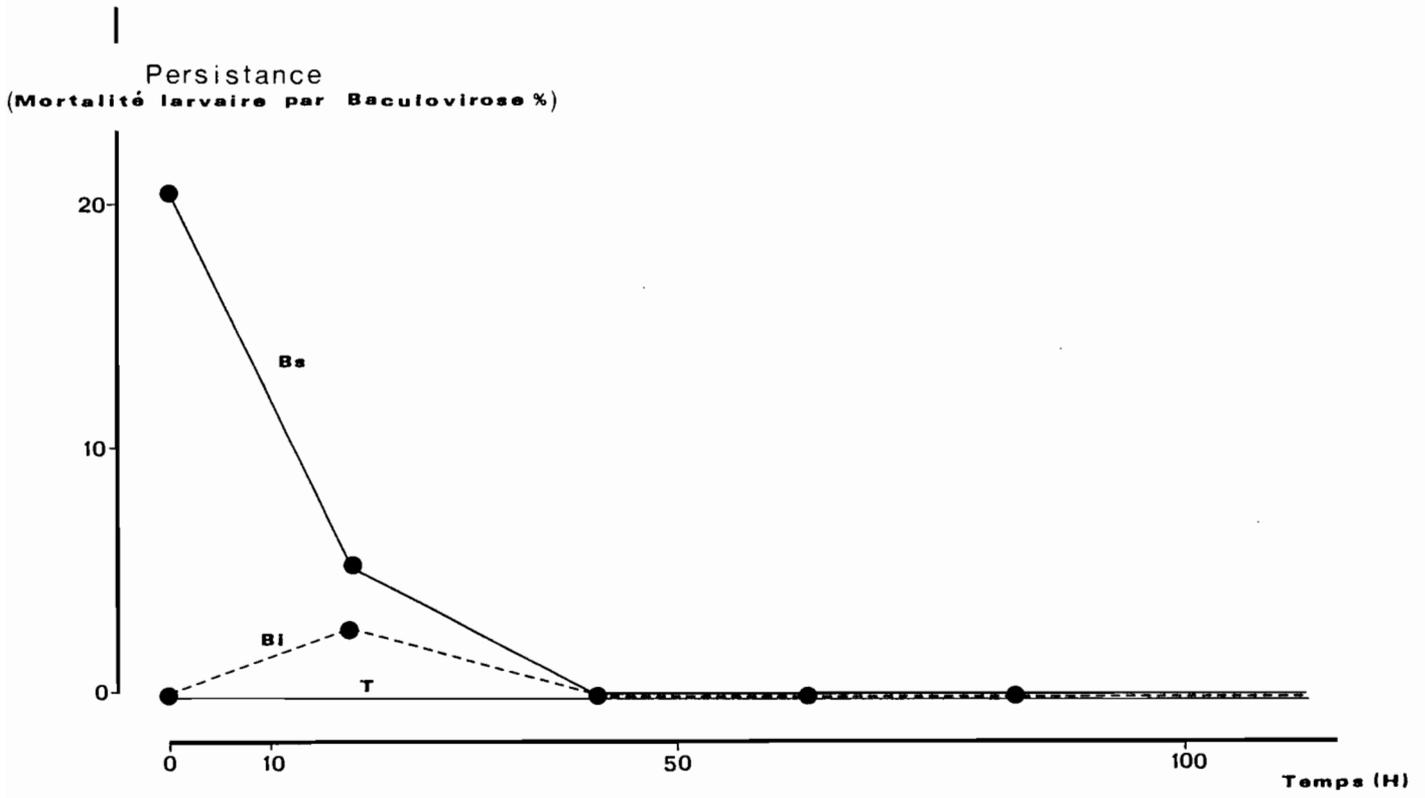
57



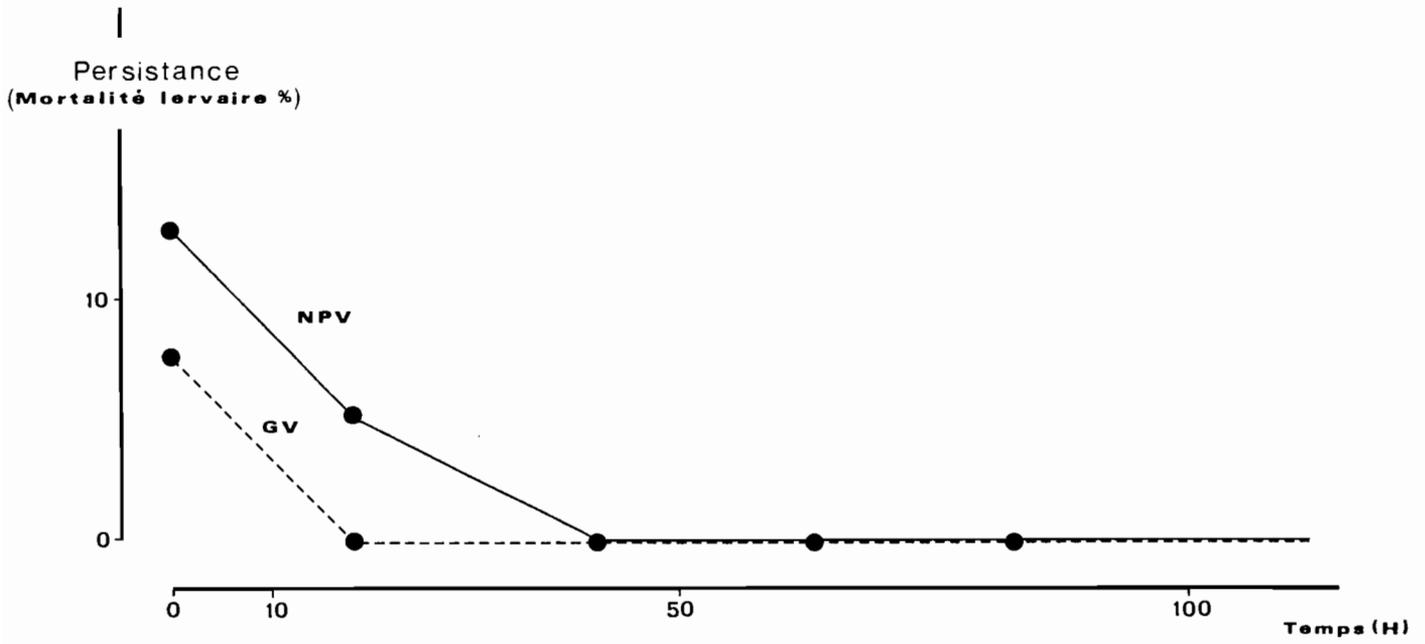
58

PLANCHE XXX

- Fig. 59** - Evolution au cours du temps de la mortalité totale par baculovirose, enregistrée au laboratoire sur des lots de larves alimentées avec un feuillage récolté sur une parcelle traitée à l'aide d'une suspension de SfGV et SfNPV (feuillage de surface Bs ou situé à l'intérieur de la végétation Bi), et avec un feuillage récolté sur une parcelle témoin (T).
- Fig. 60** - Evolution comparée de la mortalité par NPV et GV provoquée après ingestion, par des larves de 2^{ème} stade, de feuillage récolté en surface dans une parcelle traitée.



59



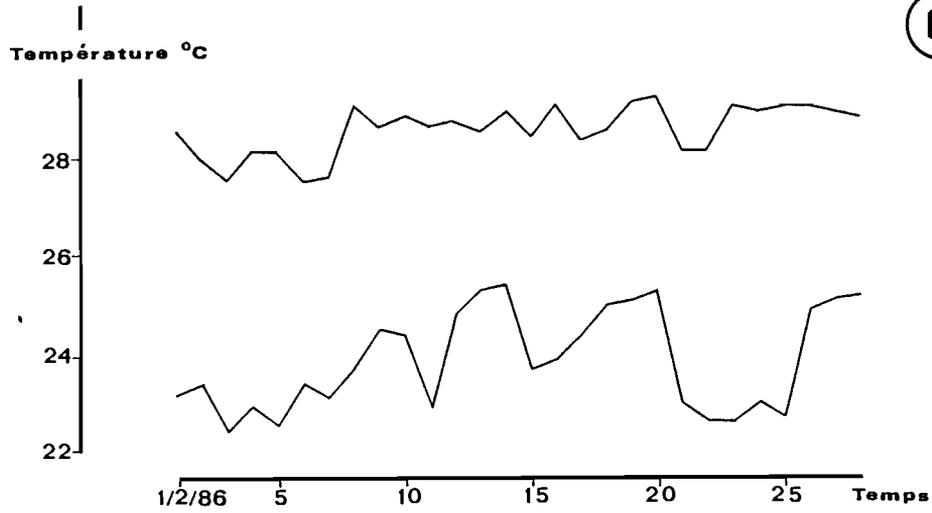
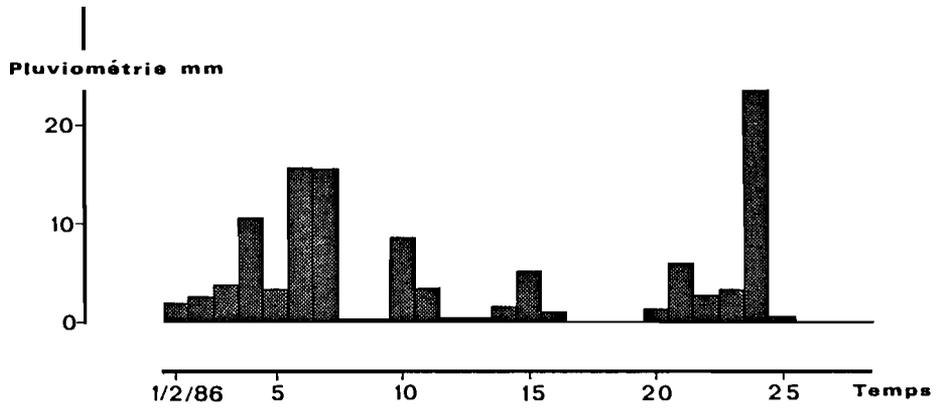
60

PLANCHE XXXI

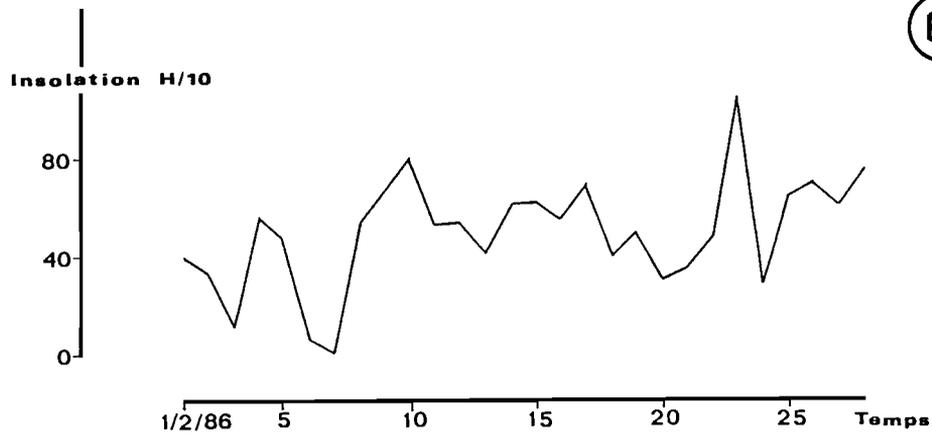
Fig. 61 - Evolution journalière de la pluviométrie sur le site expérimental de Suzini du 1/02/86 au 28/02/86.

Fig. 62 - Evolution journalière des températures maximales et minimales enregistrées sur le site expérimental.

Fig. 63 - Evolution journalière de l'insolation mesurée à l'héliographe Campbell.



61



62

63

PLANCHE XXXII

- Fig. 64** - Comparaison de l'évolution des taux de prévalence (taux de mortalité + taux de présence des virus dans les nymphes déterminée selon la technique E.L.I.S.A.) et de mortalité par baculovirose, chez des larves de 2^{ème} stade larvaire, alimentées durant 24H avec un feuillage récolté en surface sur une parcelle traitée à l'aide d'une suspension de SfNPV et SfGV.

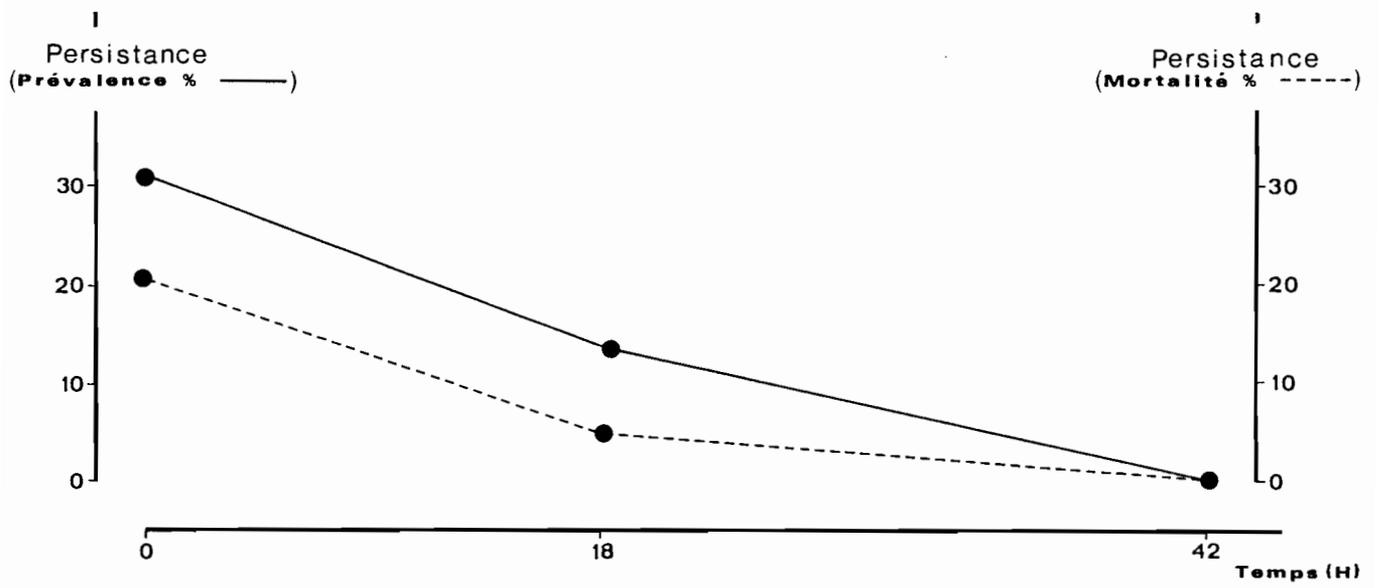


PLANCHE XXXIII

PREDATION DE S. FRUGIPERDA PAR L'HETEROPTERE NABIS CAPSIFORMIS

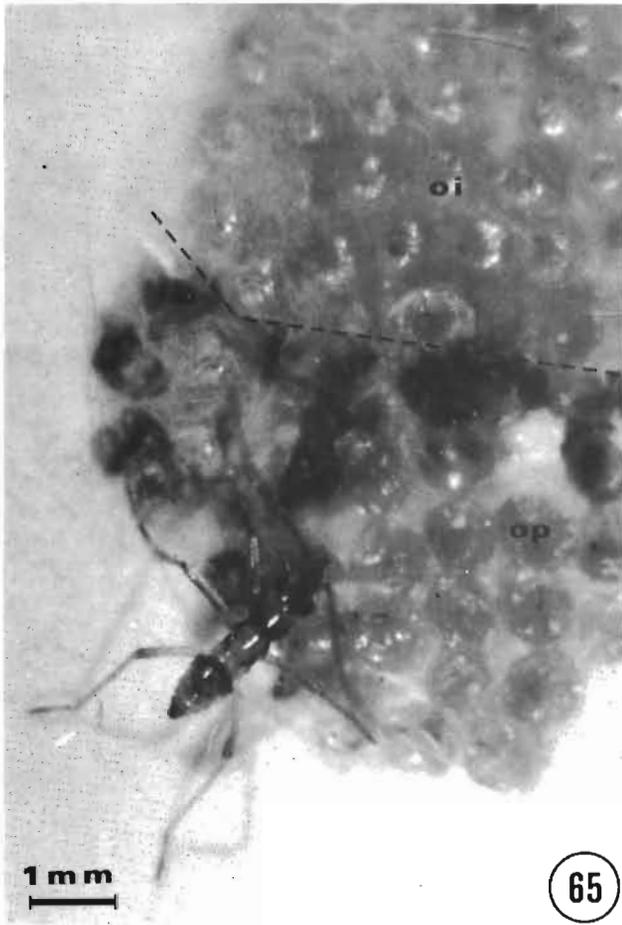
Fig. 65 - Prédation des oeufs par une larve du premier stade

oi : oeufs intacts

op : oeufs ponctionnés par le prédateur

Fig. 66 - Prédation d'une larve de premier stade de S. frugiperda
par une larve de N. capsiformis du même stade.

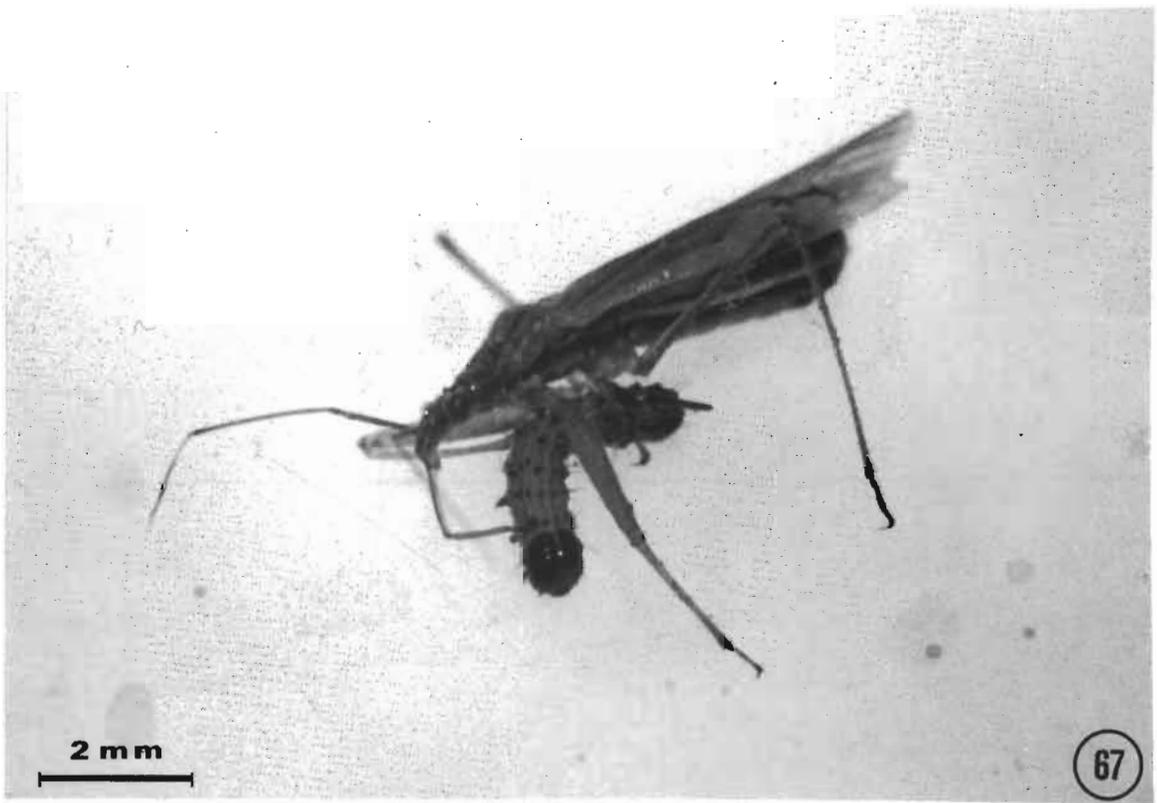
Fig. 67 - Prédation d'une larve de troisième stade de
S. frugiperda par un adulte de N. capsiformis.



65



66



67

PLANCHE XXXIV

- Fig. 68 - Evolution de la mortalité cumulée chez des larves de S. frugiperda, traitées au stade oeuf, par trempage, à l'aide d'une suspension de granules issus d'excreta du prédateur N. capsiformis.

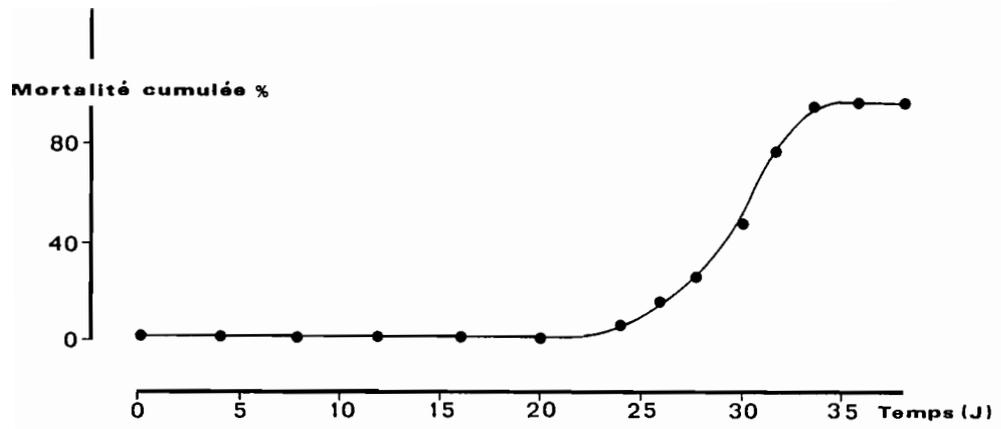
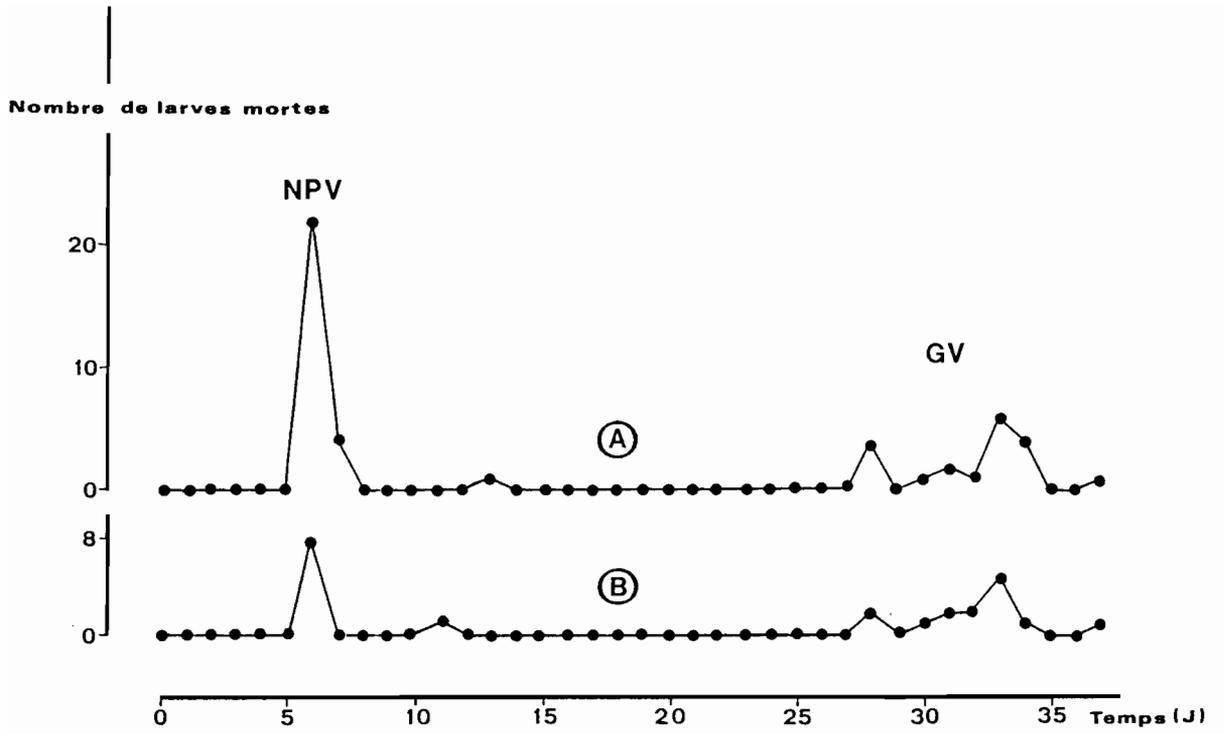


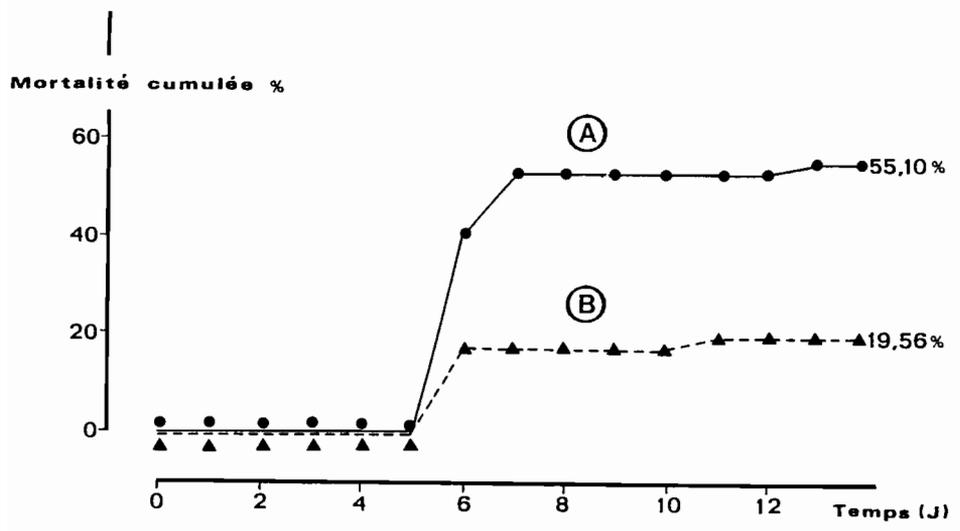
PLANCHE XXXV

Fig. 69 - Evolution de la mortalité provoquée par une suspension préparée à partir de cadavres de larves mortes de baculovirose (A), et d'une suspension ayant le même titre (en polyèdres) préparée à partir d'excréta du prédateur N. capsiformis alimenté sur larves virosées (B). Les deux pics observés correspondent respectivement aux cas de mortalité par polyédrose nucléaire (NPV) et par granulose (GV)

Fig. 70 - Evolution au cours du temps de la mortalité cumulée par polyédrose, pour les deux suspensions A et B mentionnées ci-dessus.



69



70

PLANCHE XXXVI

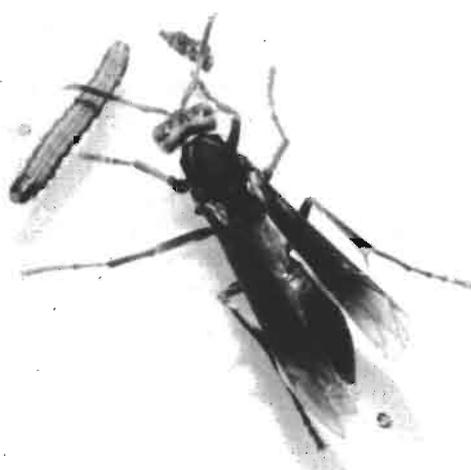
ETAPES COMORTEMENTALES DE LA PREDATION DES LARVES DE S. FRUGIPERDA
PAR LE PREDATEUR POLISTES SP.

Fig. 71 - Repérage de la larve.

Fig. 72 - Attaque de la guêpe provoquant une réaction de défense de la larve.

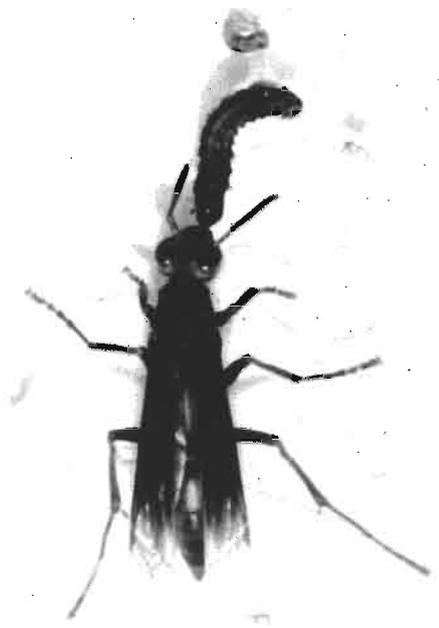
Fig. 73 - Attaque définitive du prédateur.

Fig. 74 - Phase de dépouillement de la larve. L'intestin déjà partiellement dévaginé est bien visible (i).



1cm

71



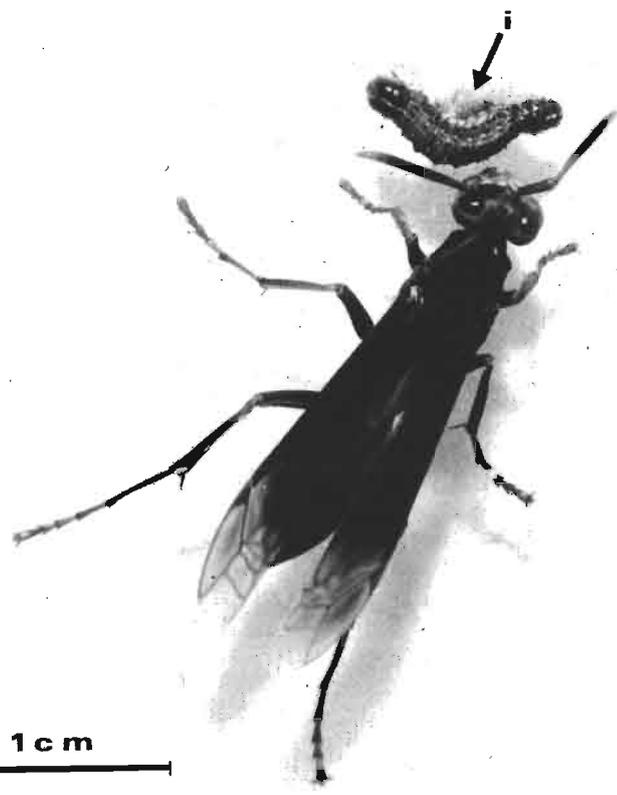
1cm

72



1cm

73



1cm

74

PLANCHE XXXVII

- Fig. 75** - Schématisation des résultats de l'expérience de marquage réalisée avec les prédateurs Vespidae. Chaque parcelle est repérée par une couleur différente. Les couleurs des guêpes recapturées sont figurées dans un rectangle au centre de chacune des six parcelles, ainsi que sous les bâtiments de la ferme.

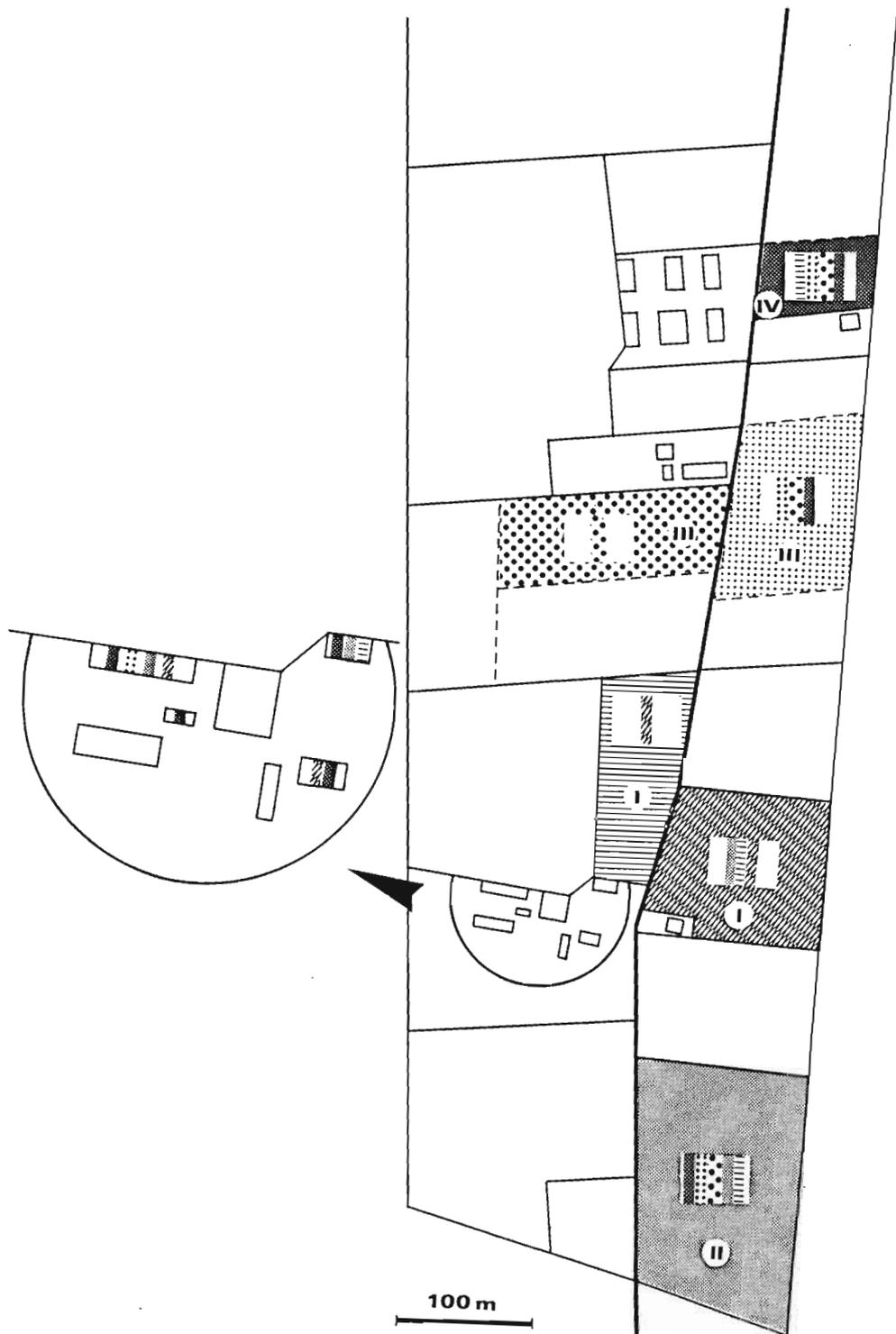
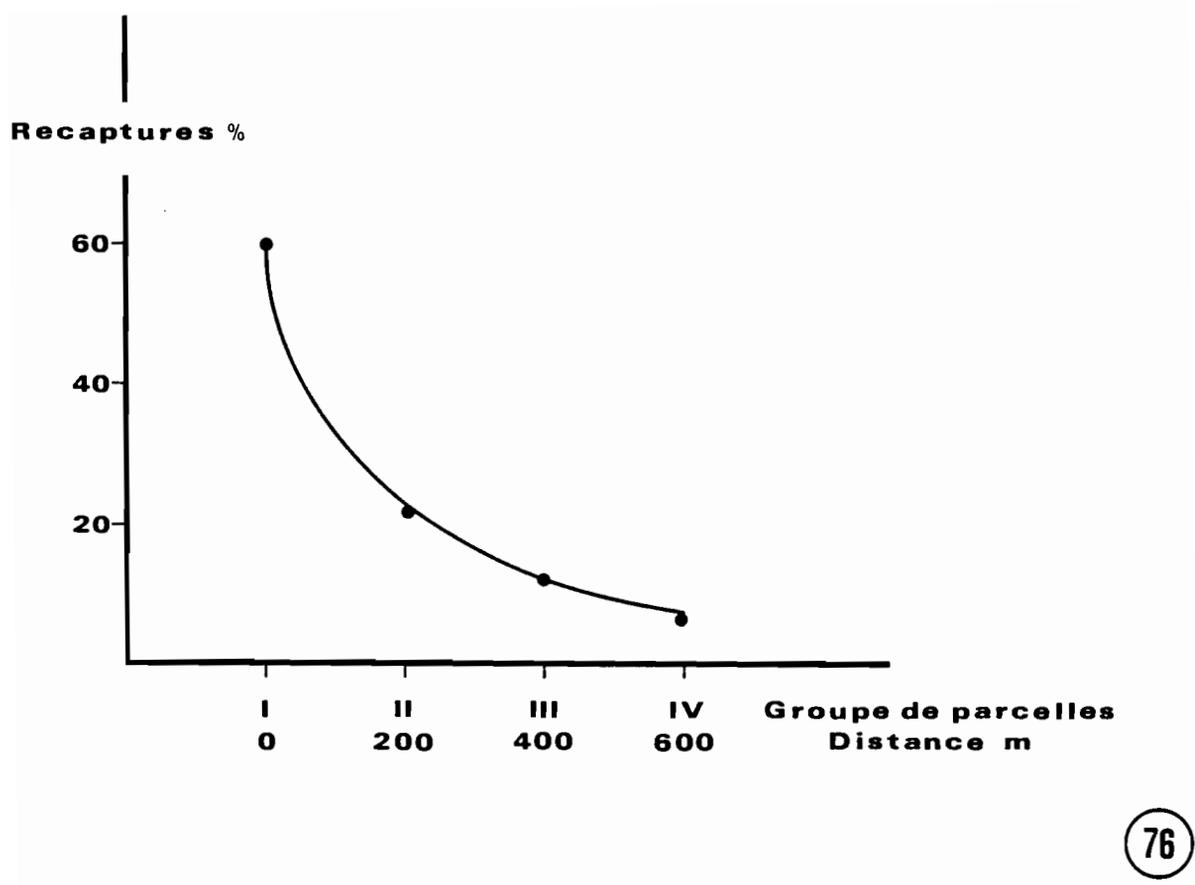


PLANCHE XXXVIII

Fig. 76 - Répartition de la recapture des guêpes, en fonction de la distance du lieu de marquage initial.



ECOPATHOLOGICAL STUDIES ON TWO BACULOVIRUSES PATHOGENIC TO SPODOPTERA FRUGIPERDA (J. E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) IN A DIGITARIA SWAZILANDENSIS STENT. PASTURE

SUMMARY: A granulosis virus and a nuclear polyhedrosis virus, both isolated in French Guyana from Spodoptera frugiperda (J. E. Smith), are described. The two baculoviruses cause enzootic diseases among populations of the pest infesting pastures of Digitaria swazilandensis Stent. Field sampling and laboratory rearing show that the highest rate of natural larval mortality due to the viruses is 32%. The cyclical occurrence of the noctuid and its baculoviruses on one given plot is related to cattle rotation on the grazing plots. Larval mortality rates due to the granulosis and nuclear polyhedrosis vary from plot to plot; the two viruses maintain themselves in a dynamic equilibrium.

Introduction of a mixture of the two viruses showed that the larvae play an important role in the dissemination of the pathogens. The higher occurrence of the NPV found in parasitized compare to unparasitized larvae is discussed. Two predators, Nabis capsiformis (Heteroptera: Nabidae) and Polistes sp. (Hymenoptera: Vespidae) are able to disseminate the baculoviruses in their feces, after feeding on diseased larvae. The inclusion bodies keep their virulence following passage through the alimentary tract of the two predators. Field studies showed that the predatory wasp is able to cover distances of over 600 m while searching for its preys. This flight behavior combined with the feeding habits of the predator make Polistes sp. an important potential propagator of the baculoviruses.

A low volume surface application of a viral suspension did not give results expected from the known larval behavior; failure to control the pest in the treated plot was due to continuous reinfestation following treatment and to very rapid inactivation of the virus. Laboratory bioassays with a viral suspension applied to foliage showed a 75% decrease in the activity of the virus within 18 hours.

This study emphasizes the need for ecopathological monitoring of the virus-host-environment complex relationships prior to any use of the virus in microbiol control. New diagnostic technics, which do not require quarantine, such as E.L.I.S.A., can be used for this purpose.

KEY-WORDS: Spodoptera frugiperda, baculoviruses, nuclear polyhedrosis, granulosis, ecopathology, microbiol control, French Guyana, grasslands, Digitaria swazilandensis, mortality rate, prevalence, persistence, localisation, dissemination, behavior, parasites, predators, sampling, E.L.I.S.A.

1986

DAUTHUILLE DOMINIQUE

UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE PARIS 6

ETUDE ECOPATHOLOGIQUE DE DEUX BACULOVIRUS PATHOGENES DE SPODOPTERA FRUGIPERDA (J. E. SMITH) (LEPIDOPTERE: NOCTUIDAE) EN PRAIRIE GUYANAISE A DIGITARIA SWAZILANDENSIS STENT.

RESUME: Deux Baculovirus, une granuloze et une polyédrose nucléaire, isolés de Spodoptera frugiperda (J. E. Smith) en Guyane française sont décrits. Les deux maladies sont responsables d'enzooties dans les populations du ravageur en prairie à Digitaria swazilandensis Stent. La valeur maximale de la mortalité larvaire naturelle engendrée par les deux virus, déterminée après échantillonnage et élevage au laboratoire, est de 32%. La cyclicité de la présence sur une même parcelle de la noctuelle et de ses Baculovirus est due au mode de conduite des exploitations agricoles. Les taux de mortalité larvaire par granuloze et par polyédrose nucléaire sont variables d'une parcelle à une autre, et un équilibre dynamique se maintient entre les deux viroses.

L'introduction d'un mélange des deux virus a permis de montrer que les larves jouent un rôle important dans la dissémination des pathogènes dans la prairie. La présence plus importante de la polyédrose nucléaire dans les larves parasitées par rapport aux larves non parasitées a été enregistrée et est discutée. Deux prédateurs Nabis capsiformis (Hétéroptère: Nabidae) et Polistes sp. (Hyménoptère: Vespidae) sont capables, après ingestion de larves virosées, de disséminer les deux Baculovirus par leur fèces. Le transit intestinal est sans action sur les corps d'inclusions qui conservent leur virulence. Le suivi des déplacements du prédateur Polistes sp. montrent que cet insecte est susceptible au cours de sa quête de parcourir des distances supérieures à 600 m. Ce résultat, allié à son comportement alimentaire, fait de ce prédateur un disséminateur potentiel important des deux Baculovirus.

L'application en surface et à faible volume d'une suspension virale, apparemment souhaitable eu égard au comportement des larves du ravageur, ne fournit pas les résultats escomptés à cause de l'attaque continue de la parcelle après traitement et de l'inactivation très rapide des virus. L'activité d'une suspension virale, estimée par essais biologiques conduits au laboratoire avec le feuillage traité, a chuté de 75% en 18 heures.

L'étude entreprise souligne, compte tenu de la complexité des relations existant entre les virus leur hôte et l'environnement, la nécessité de mettre en place un suivi écopathologique, avant toute application raisonnée des virus en lutte microbiologique. De nouvelles techniques de diagnostic ne faisant pas intervenir de quarantaine (E.L.I.S.A), peuvent être utilisées dans ce but.

MOTS-CLES: Spodoptera frugiperda, Baculovirus, polyédrose nucléaire, granuloze, écopathologie, traitement microbiologique, Guyane française, prairie, Digitaria swazilandensis, taux de mortalité, prévalence, persistance, répartition, dissémination, comportement, parasites, prédateurs, échantillonnage, E.L.I.S.A.