

L'ENTOMOPHTHORALE *NEOZYGITES FUMOSA*
 PATHOGÈNE DE LA COCHENILLE DU MANIOC,
PHENACOCOCCUS MANIHOTI [HOM. : PSEUDOCOCCIDAE],
 EN RÉPUBLIQUE POPULAIRE DU CONGO

B. LE RÛ⁽¹⁾, P. SILVIE⁽²⁾ & B. PAPIEROK⁽²⁾

⁽¹⁾ Laboratoire d'Entomologie agricole, Centre ORSTOM de Brazzaville, B.P. 181, Brazzaville, Congo.

⁽²⁾ Unité de Lutte biologique contre les Insectes, Institut Pasteur, 25, rue du Dr Roux, 75015 Paris, France.

Uniquement connue du sud des Etats-Unis d'Amérique, l'Entomophthorale *Neozygites fumosa* (Speare) Remaudière & Keller a été retrouvée en République populaire du Congo, où elle attaque la Cochenille du manioc, *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero [Hom. : *Coccoidea Pseudococcidae*]. De légères variations d'ordre biométrique sont mises en évidence au sein de l'espèce fongique. A ce jour, parmi les Entomophthorales mentionnées dans la littérature comme pathogènes de Cochenilles, seules deux espèces peuvent être retenues avec certitude : *Neozygites fumosa* et *Conidiobolus pseudococci* Speare (Tyrrell & MacLeod), toutes deux pathogènes de *Pseudococcidae*.

MOTS-CLEFS : Entomophthorales *Neozygites fumosa*, morphologie, pathogénie, *Phenacoccus manihoti*.

Quatre espèces de Champignons du groupe des Entomophthorales (Zygomycètes) sont mentionnées dans la littérature comme pathogènes de Cochenilles (Hom. : *Coccoidea*) : *Empusa lecanii* Zimmermann, *Conidiobolus pseudococci* (Speare) Tyrrell & MacLeod (= *Entomophthora pseudococci* Speare), *Neozygites fumosa* (Speare) Remaudière & Keller (= *Entomophthora fumosa* Speare) et *Neozygites fresenii* (Nowakowski) Remaudière & Keller (= *Empusa fresenii* Nowakowski).

Empusa lecanii a été trouvée à l'origine sur *Coccus viridis* (Green) (*Coccidae*) sur caféier à Java (Zimmermann, 1901), puis signalée sur le même hôte (ou sur *Coccus colemani* (Kannan) dans le sous-continent indien (Coleman & Kunhi Kannan, 1918 ; Anstead, 1919, 1920 ; Narasimhan, 1970). En 1912, dans son étude sur les champignons attaquant les insectes déprédateurs de la canne à sucre à Hawaï, Speare donne la description de *Conidiobolus pseudococci* trouvée sur *Pseudococcus calceolariae* (Maskell), espèce de *Pseudococcidae* dont *Pseudococcus fragilis* Brain, *Pseudococcus gahani* Green et *Pseudococcus citrophilus* Clausen sont maintenant considérés comme synonymes (Williams & De Boer, 1973). Cette Entomophthorale n'a apparemment pas été retrouvée depuis. *Neozygites fumosa* est décrite en 1922 par Speare qui la trouve sur les *Pseudococcidae* *Planococcus citri* (Risso) sur *Citrus* en Floride et sur *Ficus* en Louisiane et *Phenacoccus* sp. sur *Hibiscus* en Louisiane, son cycle est étudié en détail chez *P. citri* par Rees (1932). La 4ème espèce, *Neozygites fresenii*, est citée comme pathogène de *Pseudococcidae* : *Nipaecoccus nipae* (Maskell) et *Phenacoccus* sp. à Porto Rico (Johnston, 1915) et *citri* en Indonésie (Betrem, 1953).

En 1982, dans le cadre d'une étude sur la dynamique des populations de la Cochenille du manioc, *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero (*Pseudococcidae*), en République

populaire du Congo, nous avons eu l'opportunité de trouver pour la première fois *N. fumosa* sur le continent africain. Les données sur l'écologie du champignon devant être présentées par ailleurs (Le Rü, en préparation), nous consignons dans cette note nos observations sur sa morphologie et précisons quelques aspects de la pathogénie de la mycose.

METHODES D'ETUDE

Les cadavres de cochenilles sont récoltés dans les colonies vivant à la face inférieure des feuilles, dans des cultures artisanales de manioc, *Manihot esculenta* Crantz, aux environs de Brazzaville.

Dans un 1er temps, les cadavres sont observés à la loupe binoculaire. Ceux qui portent des fructifications fongiques sont écrasés sur lame dans le Bleu-Coton-Lactophénol avant d'être étudiés au microscope photonique. Les insectes morts de mycose et ne présentant pas de signe externe de sporulation du champignon sont placés sur un morceau de cellulose humidifiée, appliqué à l'intérieur du couvercle d'une boîte de polystyrène (\varnothing : 25 mm ; h : 8 mm) au fond de laquelle a été déposée une lamelle (1 cadavre par boîte). L'ensemble est maintenu à la température ambiante. Dans ces conditions, des conidiophores se forment à la surface de l'insecte et les conidies primaires qu'ils émettent sont recueillies sur les lamelles. Nous observons le mode de germination de ces conidies après les avoir maintenues quelques heures en atmosphère saturée. Les conidies primaires et leurs structures germinatives sont observées au microscope après montage dans le Bleu-Coton-Lactophénol.

La mise en évidence des noyaux dans les cellules fongiques est rendue possible sur des coupes histologiques (6 μm d'épaisseur) de cadavres colorés à l'hématoxyline de Mayer (2 à 5 mn), puis à la phloxine (1 mn) après fixation dans le mélange de Carnoy, puis inclusion dans le « Paraplast » (Sherwood Medical Industries).

L'isolement du Champignon a été tenté selon le procédé décrit par Remaudière *et al.* (1976).

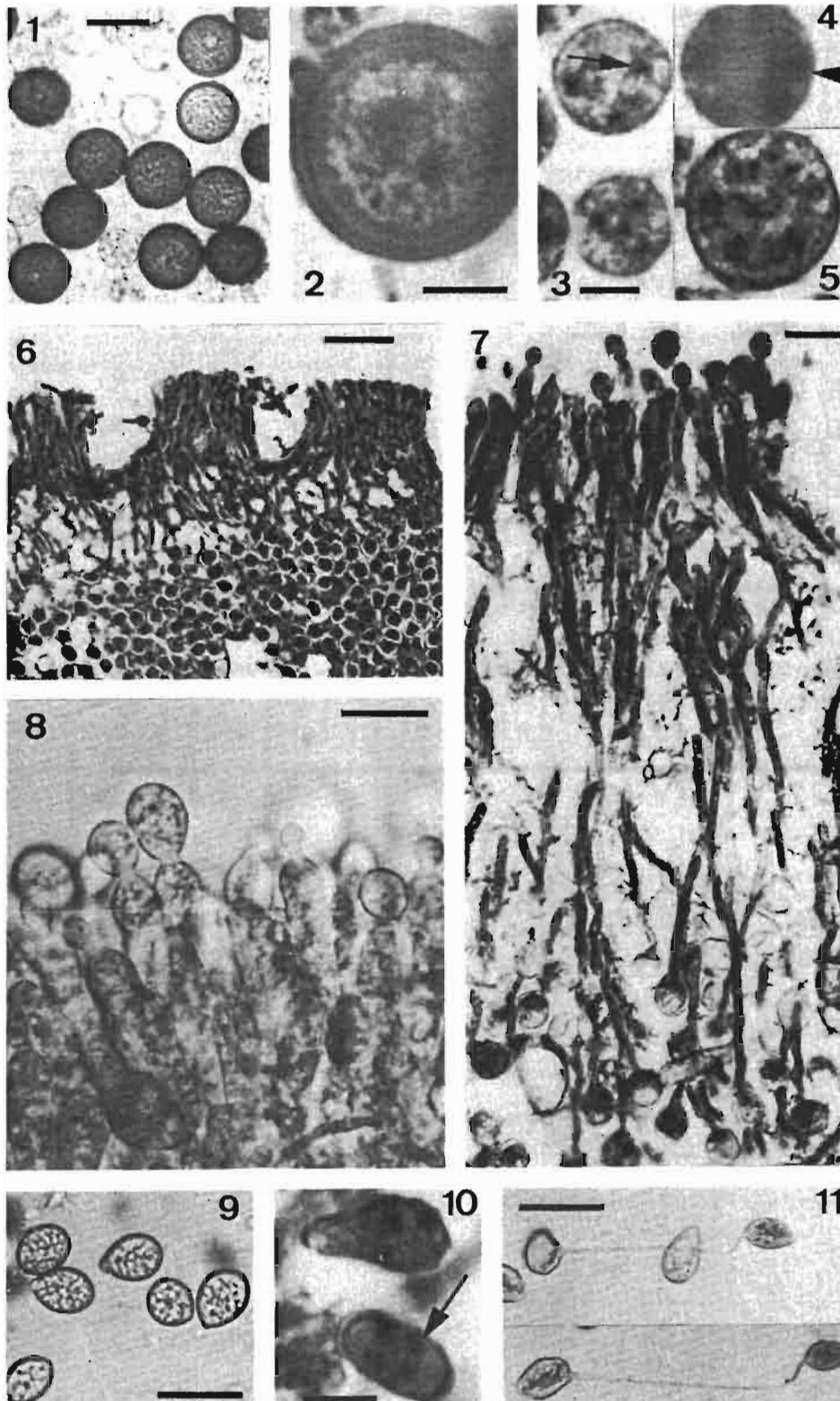
RESULTATS

Dans les colonies de *P. manihoti*, des larves et des adultes (femelles parthénogénétiques ovipares) tués par le Champignon ont été trouvés fixés au végétal par le proboscis. Présente toute l'année, la maladie est apparue particulièrement fréquente en début de saison des pluies (octobre-novembre). A l'inverse, aucun cas de mycose n'a été décelé chez la cochenille *Ferri-sia virgata* (Cockerell) (*Pseudococcidae*), que l'on observe sur le manioc en même temps que *P. manihoti*.

Deux types de cadavres sont mis en évidence : les cadavres du type 1 sont de couleur noire, le corps est gonflé et mou ; ceux du type 2 sont de couleur grise et d'aspect ratatiné et leur tégument est très souvent recouvert de champignons saprophytes appartenant aux genres *Penicillium* et *Cladosporium* (Deutéromycètes).

L'observation microscopique, après écrasement des cadavres du type 1, révèle que ceux-ci sont remplis de 2 catégories de cellules :

- des organes sphériques binucléés, de diamètre égal à $15,0 \pm 0,9 \mu\text{m}$ (extrêmes 12,5 et 17,5 μm , sur 68 mesures), à paroi épaisse (2 μm) et entourée d'une épispore ridée qui devient brune à maturité avec généralement une protubérance plus claire (figs 1 et 2). Ces organes sont des spores de résistance ;
- des organes sphériques à paroi mince (corps hyphaux). Ces cellules sont séparables en 2 groupes de diamètre significativement différent : un 1er groupe de corps hyphaux tétranucléés de diamètre égal à $7,2 \pm 0,8 \mu$ (extrêmes : 6,2 et 8,7 μm , sur 41 mesures), apparemment les plus fréquents (fig. 3), un second groupe de corps hyphaux de diamètre égal à $11,2 \pm 1,3 \mu\text{m}$ (extrêmes : 10,0 et 13,7 μm , sur 45 mesures), ayant 4 ou 8 noyaux maximum (fig. 4).



Figs 1-11. *Neozygites fumosa* sur *Phenacoccus manihoti*. 1, spores de résistance ; 2, spore de résistance avec deux noyaux visibles ; 3, corps hyphaux avec quatre noyaux visibles ; 4, corps hyphal avec six noyaux ; 5, corps hyphal avec huit noyaux ; 6 et 7, conidiophores groupés émergeant en bouquets à la surface de l'insecte ; 8, conidiophores émettant des conidies ; 9, conidies primaires ; 10, conidies primaires avec quatre noyaux visibles ; 11, capilloconidies issues de conidies primaires (le trait dans les figures 2 et 3-4-5 correspond à 5 μ m, celui de la figure 10 à 10 μ m ; celui des figures 1, 8 et 9 à 15 μ m, celui des figures 7 et 11 à 20 μ m et celui de la figure 6 à 40 μ m).

L'intérieur des cadavres de type 2 ne présente que des corps hyphaux sphériques de diamètre égal à $11,5 \pm 4,6 \mu\text{m}$ (extrêmes : 8,7 et $12,5 \mu\text{m}$, sur 50 mesures) et possédant 4 noyaux. Exceptionnellement, dans 1 de ces cadavres, nous avons observé un corps hyphal de grande taille ($13,7 \mu\text{m}$ de diamètre) à 8 noyaux (fig. 5).

Sur les cadavres de type 2 placés sur cellulose humide émergent de toutes les parties du corps de l'insecte, le plus souvent regroupés en bouquets, des conidiophores simples, d'environ $2,5 \mu\text{m}$ de diamètre, issus des corps hyphaux (figs 6, 7 et 8). Dans les mêmes conditions, les cadavres du 1er type ne produisent qu'un faible nombre de conidiophores.

Les conidiophores projettent à faible distance des conidies primaires, pyriformes, à symétrie axiale avec un apex arrondi. Elles présentent une papille basale cylindrique et tronquée, sans épaulement et une paroi unituniquée lisse (fig. 9). Leur longueur est de $14,0 \pm 1,2 \mu\text{m}$ (extrêmes : 11,2 et $16,2 \mu\text{m}$, sur 50 mesures), leur largeur de $9,7 \pm 0,9 \mu\text{m}$ (extrêmes : 8,7 et $12,7 \mu\text{m}$). Elles sont de couleur grise et possèdent 4 noyaux (fig. 10).

En conditions très humides, les conidies primaires donnent naissance à des capilloconidies amygdaliformes, à symétrie bilatérale, avec une partie apicale subconique surmontée d'une sphérule adhésive (fig. 11). Leurs dimensions sont les suivantes (mesure sur 30 conidies) : longueur : $12,3 \pm 1,3 \mu\text{m}$ (extrêmes : 10,0 et $15,0 \mu\text{m}$) ; largeur : $7,4 \pm 0,6 \mu\text{m}$ (extrêmes : 6,2 et $8,7 \mu\text{m}$). Une conidie primaire peut germer en donnant jusqu'à 3 tubes capillaires, de longueur variable (37 à $70 \mu\text{m}$).

A l'intérieur de certaines cochenilles vivantes ou mortes de mycose, nous avons observé un ou deux amas noirs, de forme ovoïde et de taille variable (longueur maximale : $60 \mu\text{m}$) situés à la périphérie du corps, en contact ou non avec le tégument et semblant englober des cellules fongiques. La signification de ces amas est inconnue.

Les tentatives d'isolement du Champignon n'ont pas permis de mettre en culture l'agent responsable de la mycose.

DISCUSSION ET CONCLUSION

L'ESPÈCE *N. FUMOSA*

Le champignon décrit par **Speare**, retrouvé par **Rees** et par nous-mêmes appartient au genre *Neozygites* dont les caractères ont été rappelés par **Remaudière & Keller** (1980) : conidies sphériques à pyriformes à 4 noyaux, capilloconidies amygdaliformes surmontées d'une gouttelette adhésive, spores de résistance à épispore pigmentée (brune ou noire) contenant 2 noyaux.

La comparaison des observations effectuées en République populaire du Congo avec celles de **Speare** (1922) en Floride et en Louisiane et celles de **Rees** (1932) (sur *P. citri*) en Floride, révèle de légères variations d'ordre biométrique au sein de l'espèce *N. fumosa*. Les conidies primaires issues de *P. manihoti* en Afrique sont un peu plus petites ($14,0 \times 9,7 \mu\text{m}$) que celles ($16-20 \times 8-10 \mu\text{m}$) observées par **Speare** sur *Phenacoccus* sp. et *P. citri* en Louisiane ; en revanche, les capilloconidies sont plus grandes ($12,3 \mu\text{m}$ contre $8 \mu\text{m}$ de longueur). Les dimensions des spores de résistance sont identiques. Les dimensions données par **Rees** sont, pour tous les organes fongiques, légèrement inférieures à celles présentées ici. *N. fumosa* apparaît donc caractérisée par des corps hyphaux de diamètre variant de 6,2 à $13,7 \mu\text{m}$, des conidies primaires dont les dimensions sont $11,2-20 \times 6,7-12,7 \mu\text{m}$, des capilloconidies de dimensions $8-15 \times 4-8,7 \mu\text{m}$ et des spores de résistance de 10 à $17,5 \mu\text{m}$ de diamètre. L'espèce n'est connue que comme pathogène d'Homoptères *Pseudococcidae* en Amérique du Nord et en Afrique. Comme toutes les espèces du genre *Neozygites*, *N. fumosa* n'est pas cultivable sur les milieux artificiels actuellement utilisés (**Remaudière & Keller**, 1980).

Rees (1932), qui a étudié la morphologie des différentes phases de développement de *N. fumosa*, a particulièrement suivi l'évolution du nombre des noyaux au cours de la multiplication des corps hyphaux et de la formation des conidiophores, des conidies et des spores de

résistance. Ces dernières sont des zygospores résultant de la fusion de 2 corps hyphaux et leur mode de formation est semblable à celui mis en évidence chez *N. fresenii* (Witlaczil, 1885) et remarquablement illustré par cet auteur, puis par Thaxter (1888). Bien que dans les cadavres de *P. manihoti* envahis par *N. fumosa* en Afrique, la conjugaison des corps hyphaux n'ait pas été observée, la qualité de zygospore des spores de résistance n'est pas douteuse. Comme Rees (1932), nous observons que le nombre de noyaux des corps hyphaux est de 4, celui des spores de résistance de 2. On peut supposer d'autre part, à la suite de Speare (1922), que la protubérance à la surface de l'épispore de la spore de résistance représente les reliques des parois des 2 corps hyphaux parentaux.

Les facteurs respectifs conditionnant les 2 types de sporulation de *N. fumosa* sont très mal connus. Il est admis classiquement que, chez les Entomophthorales, l'évolution des corps hyphaux en conidies, qui sont les organes infectants du champignon, est favorisée par des conditions propices à la propagation de la maladie (températures moyennes, humidités élevées). En revanche, la formation des spores de résistance, qui sont des organes de conservation, est induite sous l'effet de facteurs adverses (Hall & Papierok, 1982). Nos observations sur l'écologie de *P. manihoti* en République populaire du Congo nous conduisent à souligner le rôle probable des pluies dans l'extension de la maladie due à *N. fumosa* (Le Rü, en préparation) ; en revanche elles n'ont pas permis de mettre en évidence le ou les facteurs induisant la formation des spores de résistance. Comme Speare (1922), Rees (1932) déclare avoir trouvé ces dernières dans des cochenilles de taille plus petite que celle des individus sur lesquels sont produites les conidies. Ceci n'a pas été retrouvé en Afrique. En outre, contrairement à ce que nous avons noté, ces 2 auteurs n'ont pas observé les 2 types de sporulation sur un même spécimen.

LES ENTOMOPHTHORALES PATHOGÈNES DE COCHENILLES

Des 4 espèces d'Entomophthorales citées dans la littérature comme pathogènes de Cochenilles, seules *N. fumosa* et *C. pseudococci* peuvent être retenues avec certitude. Les mentions des 2 autres espèces, *E. lecanii* et *N. fresenii* sont en effet sujettes à caution. *N. fresenii* est aujourd'hui reconnue comme strictement inféodée aux Homoptères *Aphididae* (Remaudière & Keller, 1980 ; Remaudière *et al.*, 1981). De toute manière, Johnston (1915) signale que, compte-tenu du manque de matériel, son identification de *N. fresenii* sur Cochenilles à Porto Rico n'est pas totalement satisfaisante. De son côté, Betrem (1953) donne simplement le nom de *N. fresenii* au Champignon actif sur cochenilles en Indonésie, sans apporter la moindre précision d'ordre morphologique ou biométrique.

Quant à *E. lecanii*, le caractère incomplet de sa description et l'absence de matériel-type ne permettent pas de juger de la validité de l'espèce. Le champignon cité par Coleman & Kunhi Kannan (1918) comme *E. lecanii* est bien une Entomophthorale, mais les dimensions des organes fongiques ne sont pas précisées. De son côté, Anstead (1919, 1920) ne donne aucune information d'ordre morphométrique sur le Champignon qu'il rapporte à l'espèce *E. lecanii*. Petch (1926), qui a étudié des spécimens de *C. viridis* atteints de mycose et récoltés en Inde (certains lui ont été adressés par Coleman) et à Ceylan, ne trouve pas trace de *Empusa* mais met en évidence des *Cladosporium* (Deutéromycètes) et une espèce de *Pythium* ou de *Phytophthora* (Oomycètes) qui pourrait selon lui être identique à l'espèce décrite par Zimmermann sous le nom de *E. lecanii*. La description du champignon étudié par Narasimhan (1970) correspond pour partie à une Entomophthorale (probablement du genre *Neozygites*) et pour partie à un autre champignon.

En définitive, à l'heure actuelle, sur un total de plus de 100 espèces d'Entomophthorales pathogènes d'Insectes et d'Acariens (Waterhouse & Brady, 1982), on ne connaît avec précision et certitude que deux espèces inféodées aux Cochenilles, *C. pseudococci* et *N. fumosa*, toutes deux connues uniquement sur *Pseudococcidae*.

REMERCIEMENTS

Les auteurs expriment leur gratitude à Madame **Danièle Matile-Ferrero** qui les a fait bénéficier de ses compétences en matière de systématique des Cochenilles. Ils remercient Messieurs **B. Boher** pour ses conseils et son aide technique, **G. Remaudière** pour sa critique du manuscrit et **N. Wilding** pour son apport dans la constitution de la bibliographie.

SUMMARY

The entomophthoraceous fungus, *Neozygites fumosa* parasitizing the Cassava mealybug, *Phenacoccus manihoti* [Hom. : Pseudococcidae], in the People's Republic of the Congo

The entomophthoraceous fungus, *Neozygites fumosa* (Speare) Remaudière and Keller, which was only known from the south of the U.S.A., was found in the People's Republic of the Congo, on the Cassava mealybug, *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero [Homoptera : Coccoidea, Pseudococcidae]. Slight biometrical variations appear within the fungal species. At the present time, among the Entomophthorales cited in the literature as parasitizing Coccoidea, two species only can be retained with certainty : *Neozygites fumosa* and *Conidiobolus pseudococci* Speare (Tyrrell and MacLeod), both attacking *Pseudococcidae*.

Reçu le : 12 juillet 1984 ; Accepté le : 20 août 1984.

REFERENCES

- Anstead, R.D.** – 1919. The coffee planting industry in southern India. – *Agric. J. India*, 14, 578-585.
- Anstead, R.D.** – 1920. Note on the more important insect pests of planting districts of South India and the methods of control used, 1917-18. – *Rep. Proc. 3rd Entomol. Meeting, Pusa, Feb. 1919*, Calcutta, 328-332.
- Betrem, J.G.** – 1953. Interrelation and interaction of biotic and abiotic factors in some tropical insects. – *9th Int. Congr. Entomol.*, Amsterdam, 278-281.
- Coleman, L.C. & Kunhi Kannan, K.** – 1918. Some scale insect pests of coffee in South India. – *Mysore State Dept. Agr., Entomol. Ser., Bull.*, 4.
- Hall, R.A. & Papierok, B.** – 1982. Fungi as biological control agents of arthropods of agricultural and medical importance. – *Parasitology*, 8, 205-240.
- Johnston, J.R.** – 1915. The entomogenous fungi of Porto Rico. – *Board Comm. Agr., Rio Pedras, Porto Rico, Bull.*, 10.
- Narasimhan, M.J.** – 1970. Entomogenous fungi and possibility of their use for biological control of insect pests in India. – *India Phytopathol.*, 32, 16-26.
- Petch, T.** – 1926. Studies in entomogenous fungi XI. *Empusa lecanii* Zimm. – *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 11, 254-258.
- Rees, O.L.** – 1932. The morphology and development of *Entomophthora fumosa*. – *Am. J. Bot.*, 19, 205-217.
- Remaudière, G. & Keller, S.** – 1980. Révision systématique des genres d'Entomophthoraceae à potentialité entomopathogène. – *Mycotaxon*, 11, 323-338.
- Remaudière, G., Keller, S., Papierok, B. & Latgé, J.P.** – 1976. Considérations systématiques et biologiques sur quelques espèces d'*Entomophthora* du groupe *sphaerosperma* pathogènes d'insectes [Phycomycètes : Entomophthoraceae]. – *Entomophaga*, 21, 163-177.
- Remaudière, G., Latgé, J.P. & Michel, Marie-France.** – 1981. Ecologie comparée des Entomophthoracées pathogènes de pucerons en France littorale et continentale. – *Entomophaga*, 26, 157-178.

- Speare, A.T.** – 1912. Fungi parasitic upon insects injurious to Sugar cane. – *Rep. Exp. Sta. Hawaiian Sugar Planter's Ass., Pathol. Physiol. Ser. Bull.*, 12.
- Speare, A.T.** – 1922. Natural control of the citrus mealybug in Florida. – *U.S. Dept. Agr. Bull.*, 1117, 1-19.
- Thaxter, R.** – 1888. The Entomophthoreae of the United States. – *Mem. Boston Soc. Nat. Hist.*, 4, 133-201
- Waterhouse, G.M. & Brady, B.L.** – 1982. Key to the species of *Entomophthora* sensu lato – *Bull. Br. Mycol. Soc.*, 16, 113-143.
- Williams, D.J. & De Boer, J.A.** – 1973. The taxonomy of some New Zealand *Pseudococcidae* [Hom. : *Coccoidea*]. – *Trans. R. Entomol. Soc. London*, 125, 227-252.
- Witlaczil, E.** – 1885. *Neozygites aphidis*, eine neue Gregarinide. – *Arch. f. mikr. Anat.*, 24, 599-603.
- Zimmermann, A.** – 1901. De dierlijke vijanden der Koffiecultuur of Java, Deel II. – *Meded. uit's Lands Plantentuin*, 44, 25-27.

Le Rü Bruno, Silvie Pierre, Papierok B. (1985).

L'entomophthorale *Neozygites fumosa* pathogène de la cochenille du manioc, *Phenacoccus manihoti* (hom. : Pseudococcidae), en République populaire du Congo.

Entomophaga , 30 (1), 23-29. ISSN 0013-8959